



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH PEMBERIAN SUSU BUBUK KEDELAI  
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA  
PEREMPUAN PERIMENOPAUSE DENGAN  
HIPERKOLESTEROLEMIA**

**TESIS**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master

**Christina Olly Lada  
606000301**


**PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
KEKHUSUSAN ILMU GIZI KLINIK  
PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS INDONESIA  
JAKARTA, NOVEMBER 2008**

## LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Christina Olly Lada  
NPM : 606000301  
Program Studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik  
Judul Tesis : Pengaruh Pemberian Susu Bubuk Kedelai Terhadap Kadar Malondialdehida Perempuan Perimenopause dengan Hiperkolesterolemia

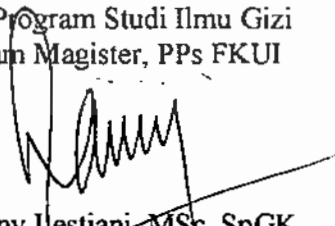
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Inge Permadhi, MS, SpGK (  )  
Pembimbing II : Dr. Ani Retno Prijanti, MS (  )  
Penguji : Dr. Sri Widia A. Jusman, MS (  )  
Penguji : Dr. Herqutanto, MPH, MARS (  )  
Penguji : Dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK (  )  
Penguji : Prof. DR. Dr. Ichramsyah A. Rachman, SpOG(K) (  )

Jakarta, 24 November 2008

Ketua Program Studi Ilmu Gizi  
Program Magister, PPs FKUI

  
Dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK  
NIP. 140 053 471

## KATA PENGANTAR

Dengan tangan yang menengadahkan dan hati yang tiada hentinya bersyukur atas kasih karunia Tuhan Yang Maha Esa, yang dengan segala kebesarannya, keMaha-KuasaanNya, hikmatNya yang telah dikaruniakan kepadaku hingga penulisan tesis ini selesai, jika bukan karena kasih karuniaNya semua ini takkan ada hingga saat ini.....

Terima kasih Tuhan.....suka dan duka, air mata dan tawa; semuanya Engkau ijinkan kualami untuk membentukku menjadi manusia pembelajar dan dapat memaknai hidup dengan lebih bijaksana.....

Terima kasih kepada suami tercinta Enrico Imanuel Polla, SE yang telah dengan sabar memberi dukungan, perhatian dan pengertian sehingga semuanya dapat terwujud.....untuk Marvel Abysha dan Magna Gabriel yang telah menjadi penyemangat, membuat suasana ceria dan berdoa dengan ketulusan seorang anak.

Terima kasih kepada Papa dan Mama serta Mama Henny yang selalu mendukung secara moril dan materil, mendoakan, memberikan dorongan, motivasi dan nasehat, juga kepada Papa Ani Yudi dan Mama Ani Vinda yang selalu bersedia menjadi orang tua asuh bagi para “jagoan cilik,” untuk Kak Elis, Joan dan Robert, Sari yang selalu tepat hadir setiap bulan, Wani, yang ikut serta membantu seleksi calon subyek penelitian, Rini dan Reno, Ria, Bang Boni dan Mba Ken, Bang Erwin dan Mba Shinta serta seluruh keluarga besar yang selalu mendukung, melengkapi segala pekerjaan untuk mengatasi segala keterbatasanku

Terima kasih kepada Rektor Universitas Nusa Cendana, Prof. Ir. Frans Umbu Datta, M.App.Sc,Ph.D yang telah memberikan izin tugas belajar dan kesempatan untuk menimba ilmu dan kepada Pemerintah serta segenap masyarakat Nusa Tenggara Timur yang diwakili oleh Kepala Dinas Kesehatan Propinsi NTT, Dr. Stefanus Bria Seran, MPH yang memberi inisiasi dan motivasi untuk mengikuti program pendidikan serta memberi dukungan beasiswa

Terima kasih kepada para dosen atas motivasi, bimbingan, masukan, kritik dan saran demi kemajuan serta proses pembentukan menjadi manusia pembelajar.....

Dr. Inge Permadhi, MS, SpGK atas kesabaran yang sungguh teruji dalam menghadapi mahasiswa bimbingan, selalu menyediakan waktu sekalipun ditengah padatnya jadwal kegiatan, memberi banyak masukan untuk penulisan tesis dan kemajuan pendidikan.

Dr. Ani Retno Prijanti, MS atas waktu yang telah diluangkan ditengah jadwal yang padat, masukan untuk penyempurnaan tesis, diskusi dan saran yang membangun.

DR. Dr. Saptawati Bardosono, MSc yang telah membuka jalan hingga penelitian ini terlaksana, diskusi dan masukan untuk analisis data serta kepercayaan dan dukungan yang luarbiasa dalam proses menjadi manusia pembelajar.

Dr. Sri Sukmaniah, MSc, SpGK selaku Kepala Departemen Ilmu Gizi; Dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK selaku Ketua Program Studi Ilmu yang telah memberi kesempatan untuk menimba ilmu dan Dr. Erwin Christianto, M.Gizi, SpGK yang selalu memberikan motivasi, penguatan, saran, kritik dan sentuhan untuk penyempurnaan tesis ini, juga kepada Dr. Diyah Eka Andayani M Gizi, SpGK yang telah memperlancar proses seleksi subyek.

Dr. Hj. Savitri Sayogo, SpGK atas literatur dan masukannya; Dr. Victor Tambunan, MS, SpGK atas saran dan kritiknya; Dr. Luciana B Sutanto, MS, SpGK atas diskusi dan masukannya.

Para dosen penguji, Dr. Sri Widia A. Jusman, MS; Dr. Herqutanto, MPH, MARS; Dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK dan Prof. DR. Dr. Ichramsyah A. Rachman, SpOG(K) yang telah memberikan sentuhan terakhir untuk penyempurnaan tesis ini.

Terima kasih kepada teman satu tim penelitian Dr. Retno Kuntarti yang telah menjadi teman seperjuangan di kala matahari bersinar terik ataupun saat hujan deras mengguyur dan kala suka-duka; kepada teman-teman seangkatan yang telah banyak memberikan dukungan, masukan, semangat serta keceriaan: Dr. Diana Sunardi, Dr. Daunwati, Dr. Martine Bororing, Dr. Henny Kurniati dan Dr. Nurly Hestika; juga kepada Mba Mia Puspita Ratih, SE.

Terima kasih kepada ibu-ibu peserta penelitian yang telah bersedia bekerjasama dan membaktikan diri untuk pengembangan ilmu gizi, juga kepada PD. Mandala dan Dr. Purwati Sudyasmani atas kerjasama dan dukungannya sehingga penelitian ini dapat berjalan, juga kepada ibu Bil, pengurus PKK Jati Bening yang tanpa pamrih telah membantu peneliti mengumpulkan subyek.

Terima kasih kepada seluruh staf dan karyawan Departemen Ilmu Gizi atas bantuan yang tak ternilai harganya, juga kepada Firda Fauzia, SKM dan Suprpto, Amd yang telah membantu kelancaran penelitian, serta Yuni, Taufan dan Santi.

Tesis ini merupakan bagian kecil dari pembelajaran dan pemaknaan hidup bahwa ilmu pengetahuan sumbernya adalah dari Yang Maha Kuasa yang memberikan ridho pada manusia pembelajar untuk menggali dan menemukan keajaiban ilmu; di lain sisi: pembelajaran adalah seumur hidup. Semoga tesis ini dapat memberi manfaat bagi sisi kehidupan manusia dan perkembangan ilmu pengetahuan

Jakarta, November 2008

Penulis

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS  
(Hasil Karya Perorangan)**

---

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Christina Olly Lada  
NPM : 606000301  
Program Studi : Ilmu Gizi Kekhususan Ilmu Gizi Klinik  
Fakultas : Kedokteran  
Jenis Karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif** (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN SUSU BUBUK KEDELAI TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PEREMPUAN PERIMENOPAUSE DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA**

beserta perangkat yang ada (bila diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta  
Pada tanggal : 24 November 2008  
Yang menyatakan



( Christina Olly Lada )

## ABSTRAK

Nama : Christina Olly Lada  
Program Studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik  
Judul : Pengaruh Pemberian Susu Bubuk Kedelai Terhadap Kadar Malondialdehida Perempuan Perimenopause Dengan Hiperkolesterolemia

Penelitian uji klinik dengan *one-group pre-post test design* ini, bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian susu bubuk kedelai terhadap peroksidasi lipid dengan mengukur kadar MDA.

Terdapat 21 subyek perempuan perimenopause dengan hiperkolesterolemia yang memenuhi kriteria penelitian, mengkonsumsi susu bubuk kedelai setiap hari sebanyak 2x30g selama delapan minggu. Data yang diambil adalah: data demografi, IMT, asupan zat gizi, isoflavon dan antioksidan. Data laboratorium meliputi kadar kolesterol LDL dan MDA serum sebelum dan sesudah empat, delapan minggu perlakuan. Uji statistik yang digunakan adalah uji t-berpasangan bila distribusi normal dan uji *Wilcoxon* bila distribusi tidak normal dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$ . Penelitian ini telah mendapat ijin dari Komite Etik FKUI.

Dua subyek *drop out*, 19 subyek menyelesaikan penelitian; umumnya berlatar belakang pendidikan rendah, rerata usia 49,15 tahun dan IMT tergolong berisiko. Asupan kalori subyek penelitian sebelum perlakuan tergolong kurang, tetapi kemudian tergolong cukup setelah perlakuan. Pola dan asupan harian isoflavon subyek penelitian sebelum perlakuan tergolong cukup, meningkat setelah perlakuan. Pola dan asupan harian antioksidan subyek sebelum dan selama masa perlakuan tergolong kurang. Rerata kadar kolesterol LDL subyek penelitian sebelum masa perlakuan adalah  $134,32 \pm 23,70$  mg/dl. Setelah perlakuan menurun, tetapi masih tergolong batas tinggi. Rerata kadar MDA serum subyek penelitian sebelum masa perlakuan adalah  $0,82 \pm 0,47$  nmol/mL. Setelah empat dan delapan minggu masa perlakuan kadar MDA serum meningkat, yaitu masing-masing sebesar  $0,98 \pm 0,26$  nmol/ml ( $p = 0,16$ ) dan  $1,13 \pm 0,40$  nmol/ml ( $p = 0,023$ ). Beberapa faktor yang mungkin menjadi penyebab peningkatan tersebut adalah faktor subyek, *biomarker* MDA, bioavailabilitas dan karakteristik isoflavon serta asupan antioksidan. Bila subyek digolongkan berdasarkan status pre dan pasca menopause, maka setelah minggu IV perlakuan golongan premenopause menunjukkan penurunan kadar MDA yang lebih baik, tetapi setelah minggu VIII perlakuan subyek pasca menopause menunjukkan penurunan kadar MDA yang lebih baik, mungkin berhubungan dengan kadar estrogen dan mekanisme kerja isoflavon dalam bahan perlakuan. Kesimpulan: pemberian susu bubuk kedelai setiap hari kepada perempuan perimenopause dengan hiperkolesterolemia secara umum tidak menunjukkan adanya penurunan kadar MDA, tetapi penggolongan pre dan pasca menopause terlihat adanya penurunan kadar MDA dengan pola yang berbeda. Perlu penelitian lebih lanjut untuk membuktikannya.

Kata kunci: Hiperkolesterolemia, perempuan perimenopause, susu bubuk kedelai, malondialdehida.

## ABSTRACT

Name : Christina Olly Lada  
Program : Clinical Nutrition  
Title : The effect of soy powder-milk supplementation on malondialdehyde level of hypercholesterolemic perimenopause women.

The objective of this study is to investigate the effect of soy powder-milk supplementation on lipid peroxidation which is measured by the level of its metabolite, malondialdehyde (MDA).

Twenty one hypercholesterolemic perimenopause women who fulfilled the study criteria, started to consume 2x30g soy powder-milk everyday for eight week. Data taken were: demographic, anthropometric, nutrition intake, isoflavone, antioxidant, pattern of isoflavone and antioxidant intake. Whilst laboratory data taken were level of LDL cholesterol and MDA serum before and after four and eight week supplementation. Statistical tests used were paired t-test if normal distribution and *Wilcoxon* for unnormal distribution with significance level of 5%.

Nineteen subjects completed the study. Most subjects had a low educational background, mean age were 49.15 years old and had BMI classified as "risk." The subjects' calorie intake before supplementation was low, however after the fourth and eighth week of supplementation was regarded as sufficient. Subjects' intake pattern and daily intake of isoflavone were sufficient and increased during supplementation. Intake pattern and daily intake of antioxidant subjects before and during supplementation were low. The subjects' mean level of LDL cholesterol before supplementation was  $134,32 \pm 23,70$  mg/dl. After four and eight week supplementation it decrease considerably at  $120,79 \pm 21,30$  and  $122,68 \pm 20,95$  mg/dL, which was still categorize as "high". Subjects' mean level of MDA serum before supplementation was  $0,82 \pm 0,47$  nmol/mL. After four and eight week of supplementation level of MDA serum was increase consecutively at  $0,98 \pm 0,26$  nmol/mL ( $p = 0,16$ ) and  $1,13 \pm 0,40$  nmol/mL ( $p = 0,023$ ). Several factors that might cause the increase were subjects' age, menopausal status, and BMI, MDA biomarker, bioavailability and characteristics of isoflavone and antioxidant intake. The grouped of subjects in pre and postmenopausal status shown different pattern of MDA level which is after four weeks of supplementation the premenopausal subjects shown reduced of MDA level more than post menopausal subjects, but after eight weeks of supplementation the group of post menopausal shown more decreased of MDA level, maybe it was related to estrogen level of this group and mechanism of action of soy isoflavone in supplement.

Conclusion: supplementation of soy powder-milk every day as commonly did not decrease malondialdehyde level in perimenopausal women with hypercholesterolemia, but the interest was the grouped of subjects in pre and post menopausal status shown decreased of MDA level with different pattern. Another study need to prove this possibly.

Key words: hypercholesterolemia, perimenopause women, soy powder-milk, malondialdehyde

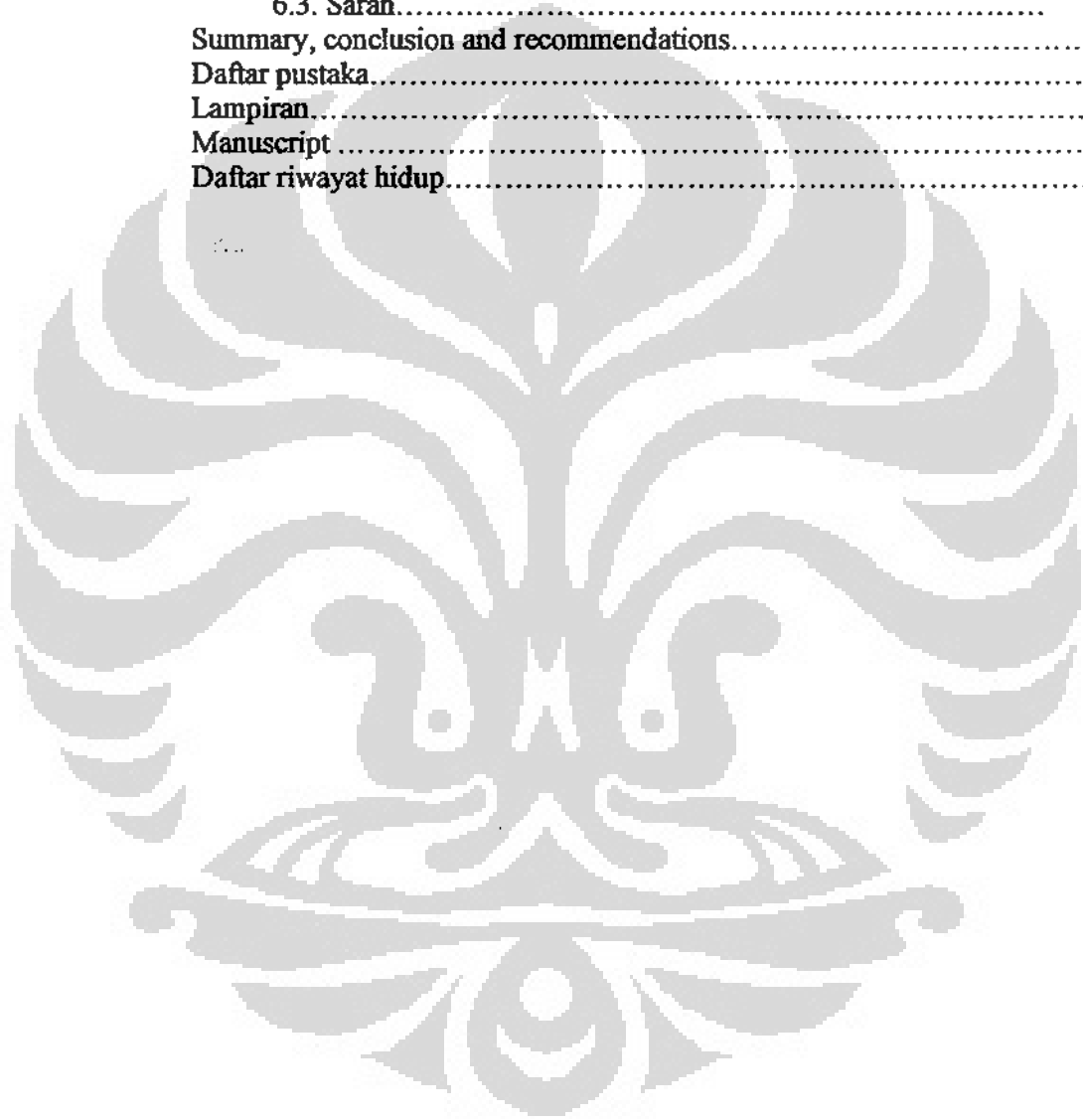


## Daftar Isi

Halaman judul.....	i
Lembar pengesahan.....	ii
Kata pengantar.....	iii
Lembar pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah.....	vi
Abstrak.....	vii
Daftar isi.....	viii
Daftar tabel.....	xi
Daftar gambar.....	xii
Daftar singkatan.....	xiii
Daftar lampiran.....	xiv
<b>1. Pendahuluan.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Perumusan masalah.....	4
1.2.1. Identifikasi masalah.....	4
1.2.2. Perumusan masalah.....	4
1.3. Hipotesis.....	4
1.4. Tujuan penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan umum.....	4
1.3.2. Tujuan khusus.....	5
1.5. Manfaat penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat bagi peneliti.....	5
1.4.2. Manfaat bagi institusi.....	5
1.4.3. Manfaat bagi subyek penelitian.....	6
<b>2. Tinjauan Pustaka.....</b>	<b>7</b>
2.1 Estrogen pada perempuan perimenopause.....	7
2.1.1. Aktivitas estrogen sebagai antioksidan.....	8
2.2 Hiperkolesterolemia.....	9
2.2.1. Definisi dan klasifikasi hiperkolesterolemia.....	9
2.2.2. Patogenesis hiperkolesterolemia.....	10
2.2.3. Hiperkolesterolemia dan aterosklerosis.....	10
2.3. Radikal bebas, antioksidan dan peroksidasi lipid.....	11
2.3.1. Radikal bebas.....	11
2.3.2. Antioksidan.....	12
2.3.3. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecukupan kadar antioksidan endogen.....	14
2.3.4. Peroksidasi lipid dan kerusakan sel.....	15
2.3.5. Malondialdehida sebagai biomarker peroksidasi lipid.....	17
2.4. Kacang kedelai.....	17
2.4.1. Kandungan zat gizi dalam kacang kedelai.....	17
2.4.2. Efek antioksidan dari tokoferol.....	18
2.4.3. Isoflavon dalam kacang kedelai.....	20
2.4.3.1. Definisi dan struktur kimia isoflavon.....	21
2.4.3.2. Absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi isoflavon.....	22
2.4.3.3. Isoflavon sebagai antioksidan.....	23
2.4.3.4. Pengaruh pengolahan terhadap kadar isoflavon.....	25

2.5. Pengaruh pemberian kedelai terhadap peroksidasi lipid	25
2.6. Kerangka teori.....	29
2.7. Kerangka konsep.....	30
<b>3. Metode Penelitian.....</b>	<b>31</b>
3.1. Rancangan penelitian.....	31
3.2. Tempat dan waktu penelitian.....	31
3.3. Populasi dan subyek penelitian.....	31
3.3.1. Populasi target.....	31
3.3.2. Subyek penelitian.....	31
3.3.3. Kriteria penelitian.....	31
3.3.4. Penentuan besar sampel penelitian.....	32
3.3.5. Cara memperoleh sampel.....	33
3.4. Bahan suplementasi .....	33
3.5. Instrumen pengumpul Data.....	34
3.5.1. Formulir.....	34
3.5.2. Peralatan dan spesimen.....	34
3.6. Pelaksanaan penelitian.....	35
3.6.1. Wawancara.....	35
3.6.2. Pengukuran antropometri.....	35
3.6.3. Prosedur pengukuran tekanan darah.....	36
3.6.4. Pemeriksaan laboratorium.....	37
3.6.5. Pemeriksaan asupan makanan.....	38
3.7. Identifikasi variabel.....	39
3.8. Pengolahan, analisis, interpretasi dan penyajian data.....	39
3.8.1. Pengolahan data.....	39
3.8.2. Analisis data.....	39
3.8.3. Penyajian data.....	39
3.9. Batasan operasional.....	39
3.10. Kerangka operasional.....	46
<b>4. Hasil Penelitian.....</b>	<b>47</b>
4.1. Karakteristik demografi subyek penelitian.....	48
4.2. Status gizi.....	48
4.3. Asupan harian kalori, lemak, kolesterol.....	49
4.4. Asupan harian dan pola asupan antioksidan.....	50
4.4.1. Pola asupan antioksidan.....	50
4.4.2. Asupan isoflavon, vitamin E, vitamin C dan beta karoten.....	51
4.5. Kadar kolesterol LDL dan malondialdehida.....	52
4.5.1. Kadar kolesterol LDL.....	52
4.5.2. Kadar dan perubahan MDA.....	53
<b>5. Pembahasan.....</b>	<b>56</b>
5.1. Keterbatasan penelitian.....	56
5.2. Katakteristik demografi subyek penelitian.....	58
5.3. Asupan harian kalori, lemak, kolesterol dan antioksidan serta pola asupan antioksidan.....	59

5.3.1. Asupan harian kalori, lemak dan kolesterol.....	59
5.3.2. Pola asupan dan asupan harian antioksidan.....	60
5.4. Kadar kolesterol LDL dan MDA serum.....	63
5.4.1. Kadar kolesterol LDL.....	63
5.4.2. Kadar MDA serum.....	64
<b>6. Ringkasan, simpulan dan saran.....</b>	<b>70</b>
6.1. Ringkasan.....	70
6.2. Simpulan.....	71
6.3. Saran.....	72
Summary, conclusion and recommendations.....	73
Daftar pustaka.....	76
Lampiran.....	85
Manuscript.....	108
Daftar riwayat hidup.....	119



## Daftar Tabel

No. Tabel	Judul tabel	hal
2.1.	Spesies radikal bebas	12
2.2.	Senyawa yang mempunyai efek antioksidan yang terdapat di dalam kacang kedelai	18
2.3.	Kandungan vitamin E dalam minyak kedelai	19
2.4.	Kandungan isoflavon dalam kacang kedelai	20
2.5.	Hasil penelitian Wiseman dkk, 2000	26
3.1.	Komposisi bahan suplementasi bubuk kedelai	34
3.2.	Matriks identifikasi variabel	38
3.3.	Klasifikasi status gizi	40
3.4.	Jenis aktivitas fisik	41
3.5.	Interpretasi asupan zat gizi	42
3.6.	Interpretasi asupan antioksidan	44
3.7.	Klasifikasi kadar kolesterol LDL	44
4.1.	Sebaran subyek penelitian berdasarkan karakteristik usia dan tingkat pendidikan	48
4.2.	Sebaran subyek berdasarkan karakteristik status gizi pada minggu ke 0,IV dan VIII	49
4.3.	Karakteristik asupan harian kalori, lemak, kolesterol pada saat sebelum dan pada masa perlakuan	49
4.4.	Pola asupan antioksidan: isoflavon, vitamin E, vitamin C dan beta karoten sebelum masa perlakuan selama tiga bulan terakhir	51
4.5.	Karakteristik asupan harian isoflavon, vitamin E, beta karoten dan vitamin C pada saat sebelum dan masa perlakuan	52
4.6.	Kadar kolesterol dan MDA serum subyek penelitian pada saat sebelum dan pada masa perlakuan	53
4.7.	Sebaran jumlah subyek penelitian berdasarkan status estrogen dan perubahan kadar MDA setelah minggu IV perlakuan	54
4.8.	Sebaran subyek, khusus pada kadar MDA yang meningkat pada minggu ke IV, berdasarkan status estrogen dan perubahan kadar MDA setelah minggu VIII	55

## Daftar Gambar

No. Gambar	Judul gambar	hal
2.1.	Struktur kimia kolesterol	9
2.2.	Proses pembentukan sel busa	11
2.3.	Stres oksidatif	13
2.4.	Faktor-faktor yang mempengaruhi kecukupan antioksidan tubuh	15
2.5.	Ikatan rangkap antara dua karbon dari ALTG	16
2.6.	Struktur kimia MDA	17
2.7.	Struktur kacang kedelai	17
2.8.	Struktur kimia vitamin E	19
2.9.	Struktur kimia isoflavon	21
2.10.	Isoflavon aglikon, glikon, prekursor dan metabolitnya	22
2.11.	Metabolisme dan bioavailabilitas isoflavon	23
2.12.	Mekanisme kerja antioksidan Genistein pada peroksidasi lipid	24
2.13.	Hasil penelitian Tikkanen dkk, 1998	26
2.14.	Hasil penelitian Jenkins dkk, 2002	27
2.15.	Hasil penelitian Patel dkk, 2001	28

## Daftar Singkatan

CETS	: <i>Communication and Educational Technology Services</i>
COX	: <i>cyclooxygenase</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
GPx	: <i>Glutathione Peroxidase</i>
GSH	: <i>reduced glutathione (glutation tereduksi)</i>
LDL	: <i>low-density lipoprotein</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MCSF	: <i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutases</i>
SRA	: <i>Scavenger Receptor-A</i>
IMT	: Indeks Massa Tubuh
DM	: diabetes melitus
FDA	: <i>Food Drug Administration</i>
NCEP-ATP	: <i>National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel</i>
PJK	: penyakit jantung koroner
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Piruvic Transaminase</i>
KKT	: Kebutuhan Kalori Total
KKB	: Kebutuhan Kalori Basal
AF	: aktivitas fisik
ALTG	: Asam Lemak Tak Jenuh Ganda

## Daftar Lampiran

Lampiran	Judul lampiran	hal
Lampiran 1.	Keterangan lolos kaji etik	85
Lampiran 2.	Formulir instrumen pengambilan data	
Formulir A1	Lembar informasi untuk subyek penelitian	86
Formulir A2	Lembar persetujuan subyek penelitian	87
Formulir A3	Formulir seleksi subyek penelitian	88
Formulir A4	Formulir data pemeriksaan fisik	89
Formulir B1	Formulir identitas subyek	90
Formulir B2	Formulir penilaian asupan makanan dengan <i>food recall</i> 1x24 jam	91
Formulir B3	Formulir penilaian asupan makanan dengan FFQ semikuantitatif	92
Formulir C	Formulir data antropometri, yaitu berat badan, tinggi badan, indeks masa tubuh	94
Formulir D	Formulir data laboratorium kolesterol LDL dan kadar MDA serum	95
Formulir E	Formulir data kepatuhan	96
Lampiran 3.	Cara penggunaan bahan suplementasi	97
Lampiran 4.	Prosedur pemeriksaan laboratorium	98
Lampiran 5.	Komposisi bahan suplementasi	103
Lampiran 6.	Kandungan siklamat dalam bahan suplementasi	104
Lampiran 7.	Proses pengolahan susu bubuk kedelai	105

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Angka harapan hidup di Indonesia yang semakin tinggi (tahun 1971: 47,7 tahun; 1980:52,2; 1990: 65,5)<sup>1</sup> menyebabkan juga peningkatan jumlah perempuan menopause maupun perimenopause. Perimenopause adalah waktu antara segera sebelum menopause (di mana terjadi perubahan gambaran endokrinologik, biologik dan klinik) dan satu tahun sesudah menopause.<sup>2</sup> Pada umumnya perimenopause terjadi pada usia 45-55 tahun<sup>3</sup> dan pada masa ini mulai muncul berbagai keluhan serta masalah kesehatan, demikian pula dengan penyakit degeneratif.

Teori penyakit degeneratif menyebutkan bahwa salah satu penyebab penyakit ini adalah stres oksidatif yang terjadi akibat ketidak seimbangan antara antioksidan dan radikal bebas. Peroksidasi lipid merupakan stres oksidatif pada lipid, baik pada lipid membran sel maupun pada kolesterol LDL.<sup>4</sup> Peroksidasi lipid membran sel menyebabkan kerusakan dinding sel dan akhirnya menyebabkan kerusakan sel. Sedangkan peroksidasi kolesterol LDL menyebabkan terjadinya aterogenesis yang merupakan cikal bakal aterosklerosis.<sup>5</sup> Peroksidasi lipid terjadi melalui empat tahap, yaitu inisiasi, pengembangan, degradasi dan penghentian.<sup>6</sup> Pada tahap degradasi akan terbentuk suatu zat yang disebut sebagai malondialdehida (MDA) yang larut dan dapat dijumpai dalam darah serta digunakan sebagai *biomarker* peroksidasi lipid.<sup>6</sup>

Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya peroksidasi lipid adalah obesitas, asupan zat gizi, usia, penyakit dan gaya hidup. Pengaruh obesitas terhadap peroksidasi kolesterol telah dibuktikan oleh Olusi (2002) yang menunjukkan ada hubungan positif dan signifikan antara IMT dan peroksidasi lipid.<sup>7</sup> Faktor asupan makanan juga mempengaruhi peroksidasi lipid, sehingga NCEP-ATP III menganjurkan agar mengatur pola makan dan mengontrol kadar kolesterol darah untuk mencegah terjadinya aterosklerosis.<sup>8</sup> Pada individu yang usianya makin meningkat kadar antioksidan endogen di dalam tubuh semakin menurun sehingga lebih rentan terhadap peroksidasi lipid, sedangkan mereka yang menderita penyakit tertentu atau mempunyai gaya hidup sebagai perokok



dan pengkonsumsi alkohol terjadi peningkatan pembentukan radikal bebas sehingga rentan terhadap peroksidasi lipid.<sup>4</sup>

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pemberian antioksidan eksogen dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid.<sup>9,10</sup> Salah satu senyawa tumbuhan yang bersifat sebagai antioksidan eksogen adalah isoflavon.<sup>11,13,14</sup> Isoflavon paling banyak terdapat di dalam kacang kedelai.<sup>16</sup> Selain itu Zhuo dkk (2006) mengemukakan bahwa kandungan isoflavon kacang kedelai olahan paling tinggi adalah di dalam bubuk kedelai.<sup>16</sup> Pemberian kacang kedelai yang mengandung isoflavon dapat mencegah terjadinya peroksidasi. Efek pemberian tersebut akan lebih efektif bila dikonsumsi dalam dosis terbagi (2-4 kali/hari) sesuai dengan rekomendasi *Food Drug Administration* (FDA).<sup>12</sup>

Akhir-akhir ini telah diproduksi berbagai produk kedelai sebagai pangan fungsional dalam bentuk susu, bubuk, protein isolat, es krim, yogurt, burger, dll. Produk ini mendapat respon positif dari masyarakat, terutama mereka yang berusia pertengahan sampai dengan lanjut usia dan mulai menderita gejala atau penyakit degeneratif karena dianggap merupakan produk alamiah yang mempunyai banyak manfaat terhadap kesehatan. Anggapan ini didukung oleh klaim dari para produsennya bahwa produknya dapat membantu menyembuhkan berbagai macam penyakit degeneratif dan mempunyai manfaat sebagai antioksidan. Fenomena ini terjadi juga di Indonesia. Bukti penelitian yang mendukung anggapan masyarakat akan berbagai manfaat kedelai, terutama manfaatnya sebagian pangan sumber antioksidan masih menjadi kontroversi.

Studi oleh Vega-Lopez dkk (2005) melibatkan subyek hiperlipidemia dengan rerata usia 63 tahun yang diberikan isoflavon kedelai 100 mg/50 gram kedelai dalam masa perlakuan selama 42 hari.<sup>18</sup> Hasil penelitian Vega-Lopez dkk (2005) menunjukkan adanya penurunan kadar *biomarker* peroksidasi lipid namun tidak bermakna. Studi yang dilakukan Steinberg dkk (2003) melibatkan perempuan postmenopause sehat dengan rerata usia 54 tahun dan memberikan isoflavon kedelai 107 mg/25 g kedelai selama enam minggu.<sup>13</sup> Steinberg dkk (2003) menyimpulkan bahwa efek antioksidan bisa didapatkan oleh perempuan postmenopause dengan mengkonsumsi isoflavon kedelai setiap hari.<sup>13</sup>

Dalam hal jangka waktu pemberian suplementasi kedelai sangat bervariasi, pada beberapa studi yang telah dilakukan jangka waktu yang digunakan berkisar tujuh hari sampai 12 bulan.<sup>17</sup> Studi Hodgson dkk (1999) mempelajari efek antioksidan isoflavon terhadap peroksidasi lipid dan memberikan suplementasi selama delapan minggu.<sup>17</sup>

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian susu bubuk kedelai terhadap kadar malondialdehida pada perempuan perimenopause usia 45-55 tahun dengan hiperkolesterolemia yang akan diberikan susu bubuk kedelai yang mengandung isoflavon  $\pm 98$  mg/60 gram bubuk kedelai/hari selama delapan minggu. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Departemen Ilmu Gizi yang berjudul "Pengaruh Pemberian Susu Kedelai Terhadap Perubahan Profil Lipid dan Kadar Malondialdehida pada Perempuan Perimenopause dengan Hiperkolesterolemia."

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada perempuan perimenopause untuk dapat mengurangi stres oksidatif dengan cara yang aman dan alamiah tanpa obat-obatan.

## **1.2. Rumusan masalah**

### **1.2.1. Identifikasi masalah**

- ♣ Usia harapan hidup meningkat, jumlah perempuan perimenopause meningkat dan penyakit degeneratif meningkat.
- ♣ Penyakit degeneratif timbul antara lain karena stres oksidatif, ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas.
- ♣ Peroksidasi lipid merupakan salah satu stres oksidatif yang dapat terjadi pada lipid membran dan kolesterol LDL.
- ♣ Peroksidasi lipid terjadi pada beberapa tahap. Pada tahap degradasi terbentuk malondialdehida yang dipakai sebagai *biomarker*.
- ♣ Antioksidan isoflavon berfungsi menghambat peroksidasi lipid
- ♣ Kandungan isoflavon paling tinggi terdapat di dalam kacang kedelai.

### **1.2.2. Rumusan masalah**

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat disimpulkan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

- ♣ Apakah kadar malondialdehida serum subyek penelitian sebelum perlakuan lebih tinggi dari kadar malondialdehida serum subyek penelitian sesudah perlakuan?
- ♣ Apakah ada perbedaan bermakna antara kadar malondialdehida subyek penelitian sebelum dan sesudah perlakuan dengan pemberian susu bubuk kedelai 2x30 g setiap hari selama delapan minggu?

## **1.3. Hipotesis**

Pemberian susu bubuk kedelai 2 X 30 g setiap hari selama delapan minggu secara bermakna menurunkan kadar malondialdehida serum subyek penelitian.

## **1.4. Tujuan penelitian**

### **1.4.1. Tujuan umum**

Mengurangi peroksidasi lipid untuk mencegah penyakit degeneratif pada perempuan perimenopause.

#### 1.4.2. Tujuan khusus

1. Diketuainya sebaran subyek penelitian berdasarkan karakteristik demografi meliputi usia, tingkat pendidikan, dan karakteristik status gizi menurut antropometrik yaitu Indeks Massa Tubuh (IMT) pada saat sebelum, minggu IV dan awal minggu ke VIII masa perlakuan.
2. Diketuainya karakteristik pola asupan isoflavon, vitamin E, C dan beta karoten sebelum masa perlakuan berdasarkan metoda *food frequency questionnaire* (FFQ) semikuantitatif serta diketuainya asupan harian kalori, lemak, kolesterol, isoflavon dan antioksidan vitamin E, C dan beta karoten subyek penelitian pada saat sebelum, setelah minggu IV dan VIII masa perlakuan berdasarkan metoda *food recall* 1 x 24 jam.
3. Diketuainya karakteristik kadar kolesterol LDL sebelum, setelah minggu IV dan VIII masa perlakuan.
4. Diketuainya kadar dan perubahan MDA serum subyek penelitian saat sebelum, setelah minggu IV dan VIII masa perlakuan.

#### 1.5. Manfaat penelitian

##### 1.5.1. Manfaat untuk peneliti

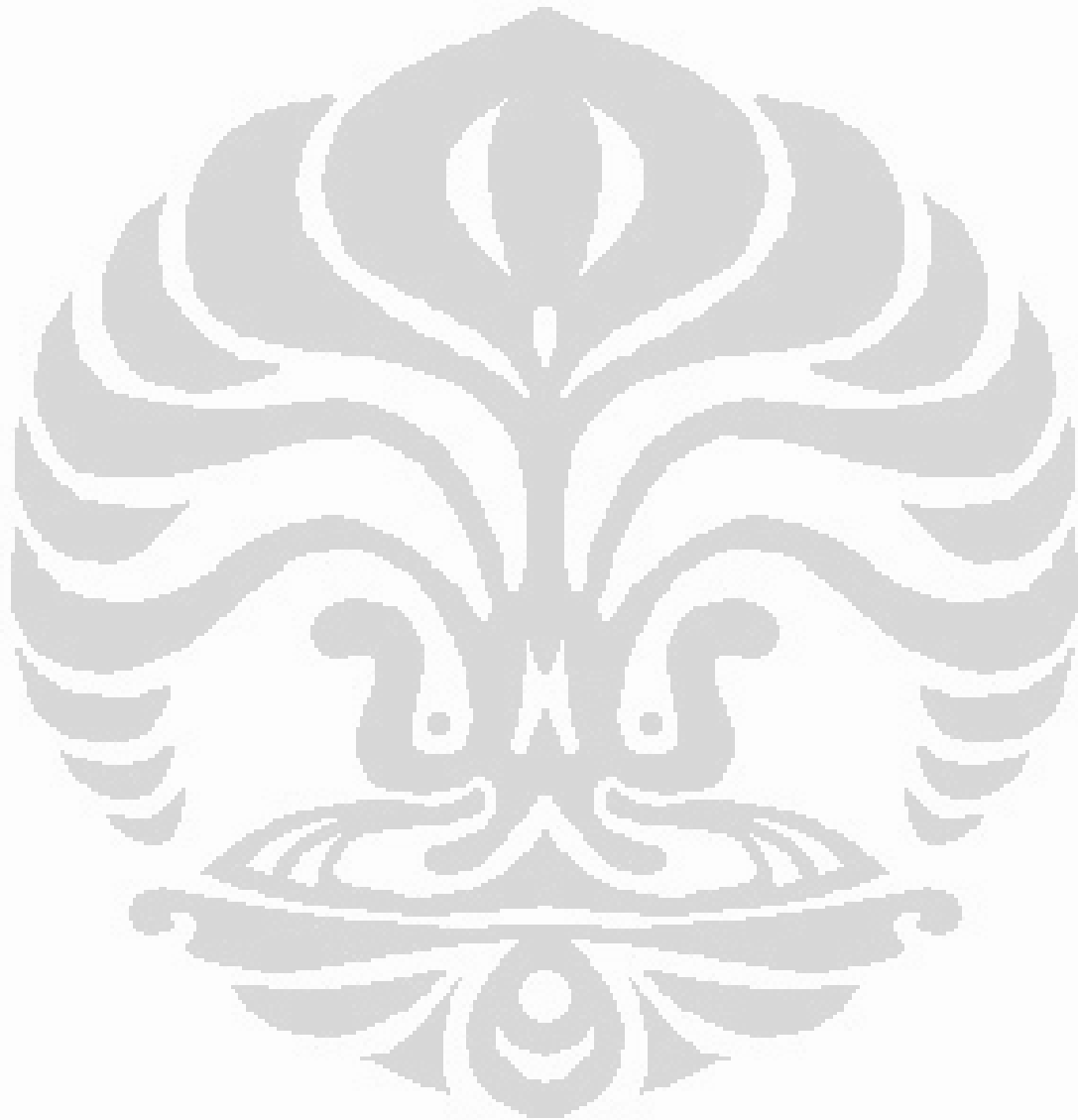
Melalui penelitian ini peneliti dapat menerapkan dan memanfaatkan ilmu yang didapat selama kuliah. Penelitian ini juga sebagai sarana untuk melatih cara berpikir dan membuat penelitian berdasarkan metodologi penelitian yang baik dan benar.

##### 1.5.2. Manfaat untuk institusi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai efek pemberian susu bubuk kedelai yang mengandung isoflavon terhadap peroksidasi lipid melalui pemeriksaan kadar malondialdehida serum pada perempuan perimenopause. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi data dasar bagi penelitian selanjutnya.

### **1.5.3. Manfaat bagi subyek penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengetahuan subyek penelitian untuk mengurangi risiko terhadap peroksidasi lipid dan kerusakan sel.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Estrogen pada perempuan perimenopause

*World Health Organization* (WHO) mendefinisikan perimenopause sebagai suatu periode sebelum terjadinya menopause dan tahun pertama setelah menopause, sedangkan menopause adalah berakhirnya masa menstruasi setelah seorang perempuan tidak mengalami menstruasi selama 12 bulan.<sup>3</sup> Pada masa perimenopause umumnya terjadi transisi dari siklus menstruasi yang teratur menjadi tidak teratur dan meningkatnya periode *amenorrhea*.<sup>3</sup> Perubahan siklus haid ini terjadi sebagai akibat dari fungsi ovarium yang mulai berkurang, sehingga kadar hormon estrogen berkurang kemudian akan menurun terus pada masa menopause.

Hormon estrogen mempunyai efek perlindungan terhadap kesehatan seorang perempuan.<sup>2</sup> Pada penelitian epidemiologi menunjukkan peningkatan prevalensi beberapa penyakit degeneratif dan kanker pada golongan perempuan yang memasuki masa perimenopause dan menopause, selain itu penelitian analitik telah berhasil menunjukkan adanya efek perlindungan dari hormon estrogen bagi kesehatan seorang perempuan.<sup>2,9</sup>

Efek perlindungan estrogen tersebut antara lain sebagai hormon reproduktif, antioksidan,<sup>20</sup> neuroprotektif,<sup>21,94</sup> kepadatan tulang<sup>2</sup> dan pelindung dinding arteri.<sup>22</sup> Efek antioksidan estrogen terhadap kesehatan dinding arteri telah terbukti, dengan cara mencegah terjadinya peroksidasi lipid, menurunkan kadar lipid darah, memperbaiki aliran darah, menurunkan fibrinogen plasma, meningkatkan metabolisme glukosa, dan meningkatkan sensitifitas insulin.<sup>22</sup>

Sejalan dengan tidak stabil dan menurunnya kadar hormon estrogen pada perempuan perimenopause, maka efek perlindungannya juga menurun,<sup>22</sup> dengan demikian perlu dipertimbangkan pemberian antioksidan eksogen untuk mengimbangi stres oksidatif pada perempuan perimenopause.<sup>4</sup> Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang berasal dari luar tubuh yang masuk bersama-sama dengan makanan yang dimakan atau dalam bentuk suplemen sebagai suatu bahan isolat.<sup>7</sup>

### 2.1.1. Aktivitas estrogen sebagai antioksidan

Aktivitas estrogen dan efek biologiknya pada berbagai jaringan dan organ tubuh berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh karena estrogen bekerja melalui reseptor, yaitu reseptor estrogen alfa (RE- $\alpha$ ) dan reseptor estrogen beta (RE- $\beta$ ). Efek biologik yang ditimbulkan juga dipengaruhi oleh afinitas estrogen dengan masing-masing reseptor dan juga jumlah reseptor pada jaringan atau organ tubuh.<sup>14,21,32</sup> Estrogen 17- $\beta$  estradiol (E<sub>2</sub>) mempunyai afinitas paling kuat dengan RE- $\alpha$  dan RE- $\beta$  dibandingkan dengan estron (E<sub>1</sub>) dan estriol (E<sub>3</sub>).<sup>14</sup>

Selain hormon estrogen, terdapat senyawa-senyawa lain yang mempunyai efek mirip dengan estrogen, salah satunya adalah senyawa tumbuhan yang disebut dengan fitoestrogen dan digolongkan sebagai *selective estrogen receptor modulators* (SERMs).<sup>14</sup> SERMs adalah senyawa non steroid yang memiliki struktur kimia mirip dengan estrogen dan dapat berikatan dengan reseptor estrogen, namun memiliki afinitas yang lebih rendah dibandingkan dengan 17- $\beta$  estradiol.<sup>14,21,32</sup>

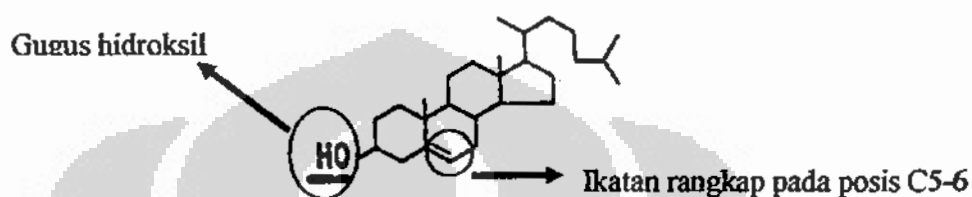
Estrogen estradiol mempunyai sifat sebagai antioksidan baik non genomik maupun genomik.<sup>14,31,32,93</sup> Efek antioksidan non genomik artinya secara langsung estrogen bertindak sebagai pendonor elektron karena mempunyai gugus hidroksil fenolik, sedangkan efek antioksidan genomik yaitu estrogen yang bekerja secara tidak langsung dengan cara meningkatkan sintesis beberapa protein penting yang terlibat dalam sistem redoks. Protein tersebut antara lain *nitric oxide synthase*, yang akan meningkatkan kadar antioksidan *nitric oxide* (NO).<sup>31</sup> Selain itu estrogen juga akan meningkatkan sintesis antioksidan enzimatik seperti katalase, *superoxide dismutase* dan *gluthation peroxidase*.<sup>86</sup>

Penurunan estrogen pada masa perimenopause akan menyebabkan penurunan efek antioksidan estrogen, sehingga pada golongan usia ini terjadi peningkatan stres oksidatif.<sup>31,32</sup> Beberapa penelitian membuktikan bahwa pemberian fitoestrogen terutama isoflavon kedelai yaitu genistein dan daidzein dapat mencegah stres oksidatif.<sup>36</sup> Mekanisme kerja antioksidan isoflavon kedelai ini hampir sama dengan estrogen, yaitu secara langsung karena mempunyai gugus hidroksil dan secara tidak langsung yaitu dengan mempengaruhi sintesis antioksidan enzimatik.<sup>36</sup>

## 2.2. Hiperkolesterolemia

### 2.2.1. Definisi dan klasifikasi hiperkolesterolemia

Kolesterol memiliki 27 atom karbon dengan inti steroidnya yang mempunyai ikatan rangkap antara karbon lima dan enam serta gugus hidroksil di posisi 3 (gambar 2.1).<sup>6</sup>



Gambar 2.1. Struktur kimia kolesterol<sup>6</sup>

Gugus hidroksil ini dapat mengalami esterifikasi ke asam lemak, hingga menghasilkan ester kolesterol. Esterifikasi ini menyebabkan molekul kolesterol menjadi lebih hidrofobik, sehingga mudah terbentuk dalam partikel lipoprotein atau dalam butir lemak dalam sitosol sel. Enzim yang melakukan esterifikasi ini adalah lesitin kolesterol asiltransferase (LCAT) dan asil kolesterol asiltransferase (ACAT)

Kolesterol di dalam tubuh seorang dewasa terdapat sebanyak 0.2% berat badan (130 gram), di antaranya sebanyak 600-1500 mg/hari berasal dari sintesis *de novo* dan kurang lebih 300-500 mg berasal dari asupan makanan.<sup>23</sup> Kolesterol yang masuk melalui makanan, mengalami esterifikasi kemudian diserap oleh usus. Setelah diserap oleh usus, akan bergabung ke dalam kilomikron. Kilomikron (KM) merupakan salah satu dari empat jenis lipoprotein. Lipoprotein merupakan gabungan dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan apoprotein. Lipoprotein lain adalah *very low density lipoprotein* (VLDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL).<sup>23</sup>

Kolesterol yang terbentuk akan dipergunakan untuk berbagai keperluan di dalam tubuh yaitu untuk membentuk garam empedu, hormon steroid, hormon seks dan vitamin D. Kolesterol juga merupakan komponen membran sel dan sitosol, pembentuk mielin sel saraf.<sup>23</sup>



Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol LDL puasa tanpa disertai peningkatan kadar trigliserida.<sup>24</sup> PERKENI menetapkan klasifikasi hiperkolesterolemia bila kadar kolesterol darah puasa  $\geq 100$  mg/dL.<sup>25</sup>

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa kolesterol di dalam darah berpotensi untuk terbentuknya lesi aterosklerotik di dinding pembuluh darah yang merupakan cikal bakal aterosklerosis.<sup>24</sup> Dalam penelitian lebih lanjut, lipoprotein LDL mempunyai peran yang sangat penting terjadinya inisiasi lesi aterosklerotik.<sup>24</sup> Patofisiologi terjadinya lesi aterosklerotik akan dibahas lebih lanjut pada subtopik berikut.

### 2.2.2. Patogenesis hiperkolesterolemia.

Hiperkolesterolemia atau peningkatan kadar kolesterol LDL dapat disebabkan karena produksinya yang berlebihan atau karena utilitasnya yang rendah, sebagai akibat dari faktor genetik atau oleh karena pengaruh lingkungan terhadap metabolismenya.

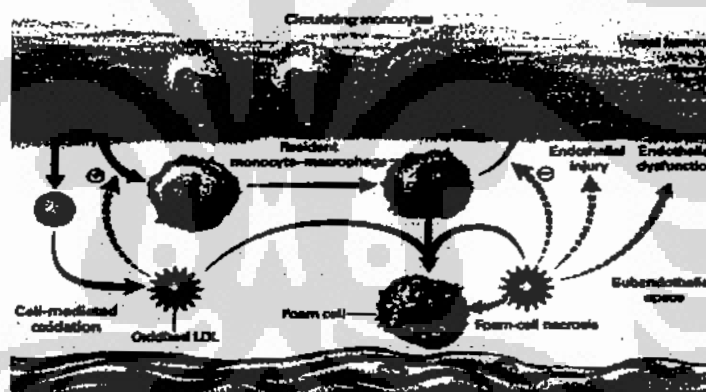
Faktor genetik terjadi akibat defek gen tunggal, sedangkan faktor lingkungan dapat berupa diet tinggi kalori, lemak dan kolesterol, penurunan kadar estrogen, beberapa penyakit seperti DM tipe 2, hipotiroid, sindroma nefrotik, gagal ginjal kronis, penyakit hati obstruktif dan sebagai akibat dari penggunaan obat-obatan tertentu.<sup>24</sup> Beberapa faktor lingkungan lainnya yang ikut berperan adalah faktor penuaan, peningkatan berat badan karena proses penuaan, dan kurangnya aktivitas fisik.<sup>26</sup>

### 2.2.3. Hiperkolesterolemia dan aterosklerosis

Kadar kolesterol LDL bebas yang tinggi di dalam sirkulasi mempermudah terjadinya invasi kolesterol LDL ke dalam dinding pembuluh darah.<sup>4</sup> Kolesterol LDL yang masuk ke dalam dinding pembuluh darah akan teroksidasi dan kemudian ditangkap oleh reseptor khusus makrofag yaitu *acetyl-LDL receptors* yang disebut sebagai *scavenger receptors*. *Scavenger receptors* yang telah teridentifikasi pada saat ini adalah *scavenger receptor A (SRA)* dan *scavenger receptor B (SRB)*.<sup>4</sup>

Pengambilan LDL teroksidasi oleh makrofag menyebabkan akumulasi ester kolesterol di sitoplasma makrofag, yang pada akhirnya akan membentuk *foam cell* (sel busa). Faktor kunci yang berperan meningkatkan atau mengubah (*promoting*) transisi monosit menjadi makrofag dan sel busa adalah *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF). MCSF akan meningkatkan ekspresi SRA dan produksi sitokin. Sel busa yang terbentuk meningkatkan ekspresi gen yang mengkode *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *matrix metalloproteinases*, beberapa sitokin dan *15-lipoxygenase*.<sup>4</sup>

Pengambilan LDL teroksidasi oleh makrofag merupakan mekanisme pertahanan untuk melindungi dinding sel, hal ini mengakibatkan terjadinya stres oksidatif di dalam makrofag. Keadaan ini akan meningkatkan kadar *reduced glutathione* (GSH) intraseluler yang bertujuan menghancurkan lipid teroksidasi, tetapi berefek toksik terhadap makrofag, sehingga makrofag mengalami nekrosis. Sel yang mengalami nekrosis akan membentuk inti nekrotik yang merupakan awal dari pembentukan lesi aterosklerotik.<sup>4</sup>



Gambar 2.2. Proses pembentukan sel busa<sup>4</sup>

## 2.3. Radikal bebas, antioksidan dan peroksidasi lipid

### 2.3.1. Radikal bebas

Yang dimaksud dengan radikal bebas adalah gugusan atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan.<sup>4,27</sup> Radikal bebas bersifat sangat reaktif, tidak stabil dan toksik bagi sel,<sup>27</sup> sehingga dapat merusak struktur molekul disekitarnya dan menyebabkan suatu reaksi berantai yang dapat merusak sel bahkan jaringan.

Radikal bebas terbentuk dari berbagai proses seperti metabolisme normal di dalam sel, proses peradangan, dan juga sebagai dampak dari lingkungan, antara lain: radiasi, polusi dan asap rokok.<sup>7</sup> Organisme aerobik akan menghasilkan sejumlah radikal bebas, secara terus menerus di dalam sel selama proses respirasi, metabolisme dan fagositosis berlangsung. Pada proses respirasi, 1-2% oksigen yang terbentuk dikonversi menjadi *superoxide radical* ( $O_2^{\cdot-}$ ) yang dapat menyebabkan suatu reaksi radikal berantai, sedangkan produk respirasi lainnya seperti  $H_2O_2$  akan dikonversi mejadi hidrosil radikal ( $\cdot OH$ ), yang dapat mengoksidasi hampir seluruh unsur biomolekuler, seperti: lipid, *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan protein.<sup>28</sup> Tabel 2.1. menunjukkan beberapa spesies radikal bebas.

Tabel 2.1. Spesies radikal bebas<sup>4</sup>

Spesies radikal bebas	Nama radikal bebas	Lambang	
<i>Reactive oxygen species</i>	<i>Superoxide</i>	$O_2^{\cdot-}$	
	<i>Hydroxyl</i>	$OH^{\cdot}$	
	<i>Hydroperinol</i>	$HO_2^{\cdot}$	
	<i>Carbonate</i>	$CO_3^{\cdot-}$	
	<i>Peroxil</i>	$RO_2^{\cdot}$	
	<i>Alkoxy</i>	$RO^{\cdot}$	
	<i>Carbon dioxide</i>	$CO_2^{\cdot-}$	
	<i>Singlet O2</i>	$O^{\cdot}$	
	<i>Reactive chlorine species</i>	<i>Atomic chlorine</i>	$Cl^{\cdot}$
	<i>Reactive bromide species</i>	<i>Atomic bromide</i>	$Br^{\cdot}$
<i>Reactive nitrogen species</i>	<i>Nitric oxide</i>	$NO^{\cdot}$	
	<i>Nitrogen dioxide</i>	$NO_2^{\cdot}$	
	<i>Nitrate</i>	$NO_3^{\cdot}$	

### 2.3.2. Antioksidan

Antioksidan merupakan substansi yang dapat memperlambat, mencegah atau memindahkan kerusakan oksidatif pada molekul target.<sup>4,27,28</sup> Radikal bebas akan terus menerus dihasilkan, tetapi tubuh memiliki mekanisme pertahanan untuk menyeimbangkan radikal bebas yang terbentuk, yaitu dengan adanya antioksidan yang akan memberi atau menerima elektron tidak berpasangan dari gugus radikal bebas.<sup>4,27</sup>

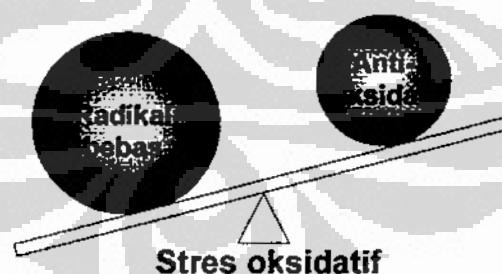
Secara alamiah antioksidan dihasilkan oleh tubuh. Antioksidan dikategorikan menjadi dua, yaitu antioksidan enzimatik contohnya: *glutathion*

*peroxidase* (GPx), superoksida dismutase (SOD), katalase dan antioksidan non enzimatis contohnya: fitokimia, vitamin E, vitamin C dan beta karoten.<sup>4</sup>

Adapula yang membagi antioksidan berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan eksogen dan antioksidan endogen. Antioksidan eksogen berasal dari luar tubuh, diperoleh melalui suplementasi dalam bentuk preparat zat aktif yang telah diisolasi atau masuk bersama makanan yang mengandung banyak antioksidan seperti kacang-kacangan, biji-bijian, buah dan sayuran.<sup>27</sup>

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dibagi atas tiga bagian yaitu (1) Antioksidan primer yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan spesies radikal bebas baru, yang termasuk dalam golongan ini adalah SOD, GPx dan *metal binding protein* (ferritin, seruloplasmin). (2) Antioksidan sekunder yang bekerja dengan cara menangkap radikal bebas agar tidak terjadi reaksi berantai, contohnya: vitamin E, vitamin C, beta-karoten dan beberapa polifenol (3) Antioksidan tertier berfungsi memperbaiki kerusakan biomolekuler akibat radikal bebas, contohnya enzim yang memperbaiki DNA.<sup>32</sup>

Dalam keadaan normal, tubuh mempunyai mekanisme pertahanan untuk menyeimbangkan radikal bebas yang terbentuk dengan menyediakan antioksidan yang cukup. Namun dalam keadaan stres oksidatif (gambar 2.3) keseimbangan ini menjadi terganggu dan dapat mengakibatkan kerusakan lipid dan protein bahkan DNA, yang pada akhirnya akan menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Sebagai akibat lanjut dari stres oksidatif adalah timbulnya penyakit-penyakit degeneratif.



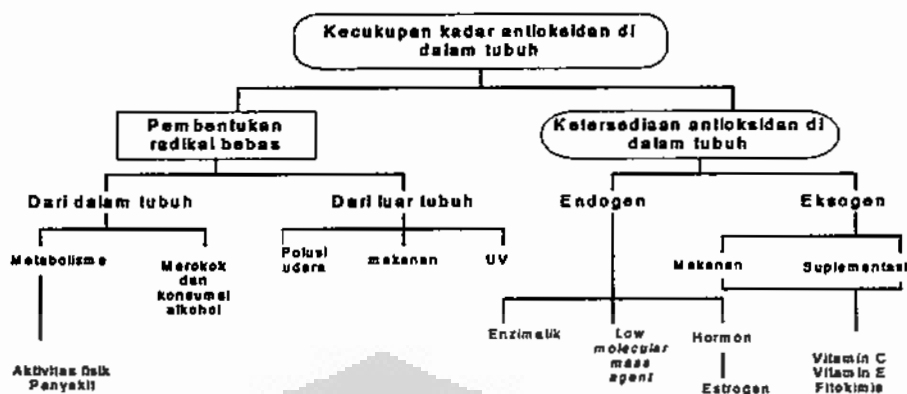
Gambar 2.3. Stres oksidatif<sup>6</sup>

Antioksidan endogen di dalam tubuh manusia berfungsi untuk mencegah terjadinya stres oksidatif yang merugikan. Antioksidan enzimatis dan

nonenzimatik bekerja secara sinergis untuk menjaga keseimbangan. Antioksidan enzimatik walaupun disintesis oleh tubuh tetapi tetap memerlukan zat gizi untuk proses sintesis dan kerjanya.<sup>29</sup> Zat gizi ini diperoleh tubuh dari bahan makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Kekurangan salah satu zat gizi tersebut akan mempengaruhi seluruh proses sintesis dan efektifitas kerja antioksidan enzimatik tersebut. Cara kerja antioksidan enzimatik adalah menghambat pembentukan radikal bebas, sebagai contoh katalase dan GPx mengubah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$ , sedangkan SOD mengkatalisa dismutasi dari anion radikal superoksida.<sup>30</sup> Selain itu vitamin E dan vitamin C digunakan tubuh sebagai antioksidan. Vitamin E berperan untuk mencegah peroksidasi lipid dengan cara mencegah reaksi berantai karena sifatnya yang larut lemak, sedangkan vitamin C berfungsi melindungi komponen cairan tubuh dari radikal bebas, menetralkan radikal bebas akibat polusi udara dan asap rokok, selain itu vitamin C mengubah vitamin E teroksidasi menjadi vitamin E bentuk aktif.<sup>4</sup>

### **2.3.3. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecukupan kadar antioksidan endogen**

Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Bila radikal bebas yang terbentuk berlebihan, maka antioksidan yang tersedia di dalam tubuh tidak mampu menetralkan seluruh radikal bebas tersebut, dalam keadaan ini disebut kekurangan antioksidan. Sebaliknya bila radikal bebas yang terbentuk tidak terlalu banyak, tetapi antioksidan yang tersedia kurang atau produksi antioksidan di dalam tubuh juga kurang, maka keadaan ini juga disebut kekurangan antioksidan. Gambar 2.4. menunjukkan faktor-faktor yang mempengaruhi kecukupan kadar antioksidan di dalam tubuh.<sup>4</sup>



Gambar 2.4. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecukupan antioksidan tubuh<sup>4</sup>

### Asupan vitamin E, vitamin C dan beta karoten sebagai antioksidan

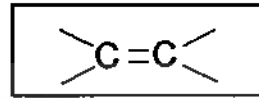
Struktur kimia vitamin E yang memiliki sifat antioksidan adalah  $\alpha$ -tokoferol, yang mempunyai peran penting dalam mencegah peroksidasi kolesterol LDL.<sup>34</sup> Alfa tokoferol akan mengikat radikal bebas dan bertindak sebagai antioksidan pemutus reaksi berantai.<sup>34</sup> Pada beberapa penelitian *in vivo* membuktikan bahwa pemberian suplementasi  $\alpha$ -tokoferol dapat memperpanjang fase *lag time* dan mengurangi laju peroksidasi kolesterol LDL.<sup>34</sup>

Beberapa penelitian juga berhasil membuktikan efek antioksidan vitamin C dan beta karoten terhadap peroksidasi lipid. Efek antioksidan vitamin C bekerja dengan cara melindungi antioksidan endogen (beta karoten,  $\alpha$ - dan  $\gamma$ -tokoferol) yang terdapat di kolesterol LDL. Pada pemberian jus yang mengandung vitamin C (145 mg) dan beta karoten (18 mg) setiap hari selama tiga minggu akan mengurangi peroksidasi kolesterol LDL,<sup>34</sup> sedangkan penelitian Mosca dkk menunjukkan, asupan beta karoten yang dapat mencegah peroksidasi LDL adalah 12-24 mg/hari.<sup>61</sup>

#### 2.3.4. Peroksidasi lipid dan kerusakan sel

Peroksidasi lipid merupakan salah satu dampak stres oksidatif yang terjadi pada lipid, khususnya adalah asam lemak tak jenuh ganda (ALTG), yang memiliki ikatan rangkap sehingga menjadi struktur yang tidak stabil (gambar 2.5). ALTG

yang bereaksi dengan radikal bebas akan menyebabkan struktur ikatan rangkapnya menjadi terurai. Salah satu target peroksidasi lipid adalah membran sel yang terdiri dari lipid (terutama fosfolipid), selain itu juga lipoprotein seperti kolesterol LDL.



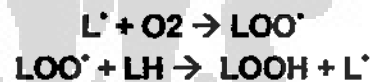
Gambar 2.5. Ikatan rangkap antara dua karbon pada ALTG<sup>4</sup>

Peroksidasi lipid terjadi melalui empat tahap, yaitu inisiasi, propagasi, degradasi dan penghentian/terminasi.<sup>6</sup> Tahap inisiasi dipicu oleh suatu senyawa radikal bebas misalnya radikal hidroksil (OH<sup>•</sup>), yang mengekstraksi sebuah hidrogen dari ALTG (LH), sehingga terbentuk suatu radikal lipid (L<sup>•</sup>).



Tahap inisiasi peroksidasi lipid<sup>6</sup>

Tahap propagasi terjadi pada reaksi berantai radikal bebas yang diperluas oleh penambahan O<sub>2</sub> yang membentuk radikal peroksi lipid (LOO<sup>•</sup>) dan peroksida lemak (LOOH).



Tahap propagasi peroksidasi lipid<sup>6</sup>

Pada tahap degradasi terjadi penyusunan ulang elektron tunggal yang menyebabkan lipid mengalami degradasi menjadi malondialdehida (MDA). Pada tahap penghentian atau terminasi terjadi reaksi antara radikal peroksi lipid dengan radikal lipid dan menghasilkan peroksida lemak.



Tahap penghentian peroksidasi lipid<sup>6</sup>

Peroksidasi lipid dapat terjadi pada membran sel tubuh, termasuk sel endotel pembuluh darah. Akibat kerusakan endotel ini maka kolesterol LDL lebih mudah berdifusi ke dalam dinding pembuluh darah. Proses selanjutnya menyebabkan timbulnya lesi aterosklerotik dan kemudian akan membentuk *plaque* di dinding

pembuluh darah. Peroksidasi lipid juga menyebabkan kerusakan sel yang selanjutnya akan menimbulkan penyakit degeneratif.<sup>4</sup>

### 2.3.5. Malondialdehida sebagai *biomarker* peroksidasi lipid

Malondialdehida adalah produk dari lipid yang teroksidasi oleh radikal bebas yang dapat ditemukan di dalam darah atau DNA yang diisolasi dari manusia sehat.<sup>31</sup> Malondialdehida terbentuk pada tahap degradasi peroksidasi lipid. Gambar 2.6. menunjukkan struktur kimia MDA.



Gambar 2.6. Struktur kimia MDA<sup>6</sup>

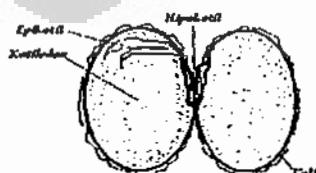
Schwenke (1998) mendapatkan bahwa ada hubungan bermakna antara konsentrasi MDA plasma dengan dinding arteri yang mengalami sklerosis.<sup>32</sup> Untuk mengukur tingkat peroksidasi lipid, maka MDA dipakai sebagai salah satu *biomarker*.<sup>4</sup>

## 2.4. Kacang kedelai

### 2.4.1. Kandungan zat gizi dalam kacang kedelai

Kacang kedelai termasuk jenis kacang-kacangan, merupakan bahan makanan sumber protein nabati yang banyak dikonsumsi oleh orang Asia termasuk masyarakat Indonesia. Kacang kedelai dikonsumsi dalam bentuk kacang utuh atau dalam bentuk olahan seperti fermentasi (*tempe*, *miso*), tahu, susu, tepung/bubuk, ekstrak minyak (*vegetable oil*) dan lain-lain.

Kacang kedelai mempunyai struktur yang terdiri dari kulit (8%), kotiledon (90%), dan hipokotil aksis (2%). Pada potongan melintang (Gambar 2.7.) terlihat struktur kacang kedelai dari luar ke dalam adalah kulit luar, hipokotil dan kotiledon.<sup>19</sup>



Gambar 2.7. Struktur kacang kedelai<sup>55</sup>



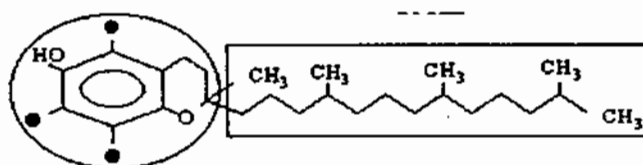
Di dalam kacang kedelai kering terkandung makronutrien yang terdapat di dalam kotiledon, dengan komposisi zat gizi sebagai berikut: protein 35%, lemak 19%, karbohidrat 28% dan mikronutrien yaitu mineral 5% dan beberapa vitamin, serta serat 17%.<sup>19</sup> Selain itu terdapat beberapa senyawa yang mempunyai efek sebagai antioksidan, termasuk di dalamnya beberapa vitamin, senyawa fenol dan senyawa lipid yang tergolong sebagai *functional food*. *Functional food* adalah senyawa yang terdapat di dalam makanan yang bukan merupakan golongan zat gizi tertentu tetapi mempunyai manfaat terhadap kesehatan. Tabel 2.2. memperlihatkan senyawa yang terdapat di dalam kacang kedelai yang mempunyai sifat sebagai antioksidan.

Tabel 2.2. Senyawa yang mempunyai efek antioksidan yang terdapat di dalam kacang kedelai<sup>15</sup>

Komponen	Fungsi
Tokoferol	Antioksidan
Isoflavon	Antioksidan

#### 2.4.2. Efek antioksidan dari tokoferol

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak. Vitamin E terbagi atas delapan vitamer yang di dalam struktur kimianya terdapat cincin kromanol dan sebuah rantai *phytyl* yang disebut dengan molekul *phytyl tail*.<sup>38</sup> Delapan struktur tersebut dibagi dalam dua kelas, yaitu tokoferol yang mempunyai rantai jenuh dengan 16 karbon dan tokotrienol/trienol yang mempunyai rantai tak jenuh dengan 16 karbon.<sup>38</sup> Tokoferol dan tokotrienol masing-masing mempunyai empat vitamer yaitu alfa, beta, gamma, delta. Di dalam tubuh manusia alfa tokoferol adalah satu-satunya vitamin E yang mempunyai aktivitas biologik.<sup>29,38</sup> Dalam bahan makanan tokoferol paling banyak terdapat dalam bentuk bebas, sedangkan tokotrienol terdapat dalam bentuk ester, yang harus dihidrolisis dulu oleh enzim esterase dari pankreas atau mukosa duodenum sebelum diabsorpsi.<sup>38</sup> Daya absorpsi berkisar antara 20%- 80% dan dipengaruhi oleh asupan lipid.<sup>38</sup> Gambar 2.8. memperlihatkan struktur kimia vitamin E



cincin kromanol

*phytyl tail*Gambar 2.8. Struktur kimia vitamin E<sup>38</sup>

Minyak yang berasal dari tumbuhan umumnya kaya akan vitamin E dan merupakan bahan makanan sumber.<sup>38</sup> Kanola, bunga matahari, biji kapas dan zaitun kaya akan alfa tokoferol, sedangkan kacang kedelai dan jagung mengandung sejumlah alfa tokoferol dan kaya akan gama tokoferol,<sup>38</sup> tabel 2.3. memperlihatkan kandungan vitamin E dalam minyak kedelai dari beberapa literatur.

Tabel 2.3. Kandungan vitamin E dalam minyak kedelai

Kandungan Vitamin E (mg/100 g)	Sumber Pustaka
18	38
16,3	39
18	40

Vitamin E dapat rusak pada tahap penyiapan, pemrosesan, atau penyimpanan. Vitamin E akan mengalami oksidasi karena terpajan cukup lama oleh udara, cahaya, pemanasan dan adanya bahan metal.<sup>38</sup> Vitamin E mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang dapat mengikat radikal bebas karena mempunyai gugus hidroksil pada cincin kromanol.<sup>39</sup>

Kerja vitamin E sebagai antioksidan yaitu dengan menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas agar tidak menghasilkan lebih banyak radikal bebas.<sup>29</sup> Dalam hal ini vitamin E melindungi membran dan komponen sel yang rentan dari kerusakan, vitamin E juga mencegah oksidasi asam lemak tak jenuh ganda termasuk vitamin A.<sup>29</sup> Banyak penelitian telah membuktikan bahwa vitamin E dapat mengurangi resiko penyakit jantung dengan cara mencegah terjadinya peroksidasi kolesterol LDL.<sup>29</sup> Asupan alfa tokoferol yang dianjurkan perhari

adalah berbeda menurut usia, untuk dewasa 15 mg, wanita menyusui 19 mg, anak usia 14-18 tahun 15 mg, 9-13 tahun 11 mg, 4-8 tahun 7 mg, 1-3 tahun 6 mg, dosis di atas 1000 mg/hari adalah *upper intake levels*.<sup>29,38</sup>

#### 2.4.3. Isoflavon dalam kacang kedelai

Isoflavon di dalam kacang kedelai terdapat di hipokotil.<sup>19</sup> Kandungannya di dalam kacang kedelai sangat bervariasi. Tabel 2.4. menunjukkan kandungan isoflavon kedelai dari beberapa pustaka.

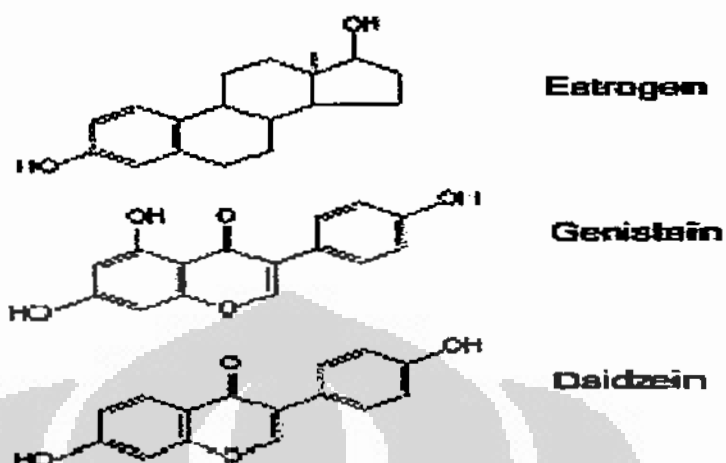
Tabel 2.4. Kandungan isoflavon dalam kacang kedelai (per 1 gram kacang kedelai)

Kadar isoflavon (mg)	Sumber Pustaka
1,2-4,2	14
1-4	19
0,6-1,28	35
1,31-1,98	43
0,2-1,5	42
0,1-3,0	41

Bila dibandingkan dengan kandungan isoflavon pada tumbuhan lain, maka total kandungan isoflavon kedelai adalah yang paling banyak. Sebagai *functional food*, isoflavon kedelai mempunyai beberapa manfaat terhadap kesehatan dan dalam makalah ini secara khusus akan dibahas peran isoflavon sebagai antioksidan pada proses peroksidasi lipid.

##### 2.4.3.1. Definisi dan struktur kimia isoflavon

Isoflavon adalah salah satu polifenolik. Polifenolik adalah senyawa bioaktif yang terdiri dari cincin aromatik dan beberapa gugus hidroksil, yang secara umum terdapat di dalam tumbuhan, memberikan warna, rasa, dan bau pada tumbuhan. Isoflavon termasuk dalam golongan fitoestrogen, karena mempunyai struktur kimia yang mirip dengan hormon estrogen (gambar 2.9) dan mempunyai efek estrogenik lemah.<sup>15,43,46</sup>

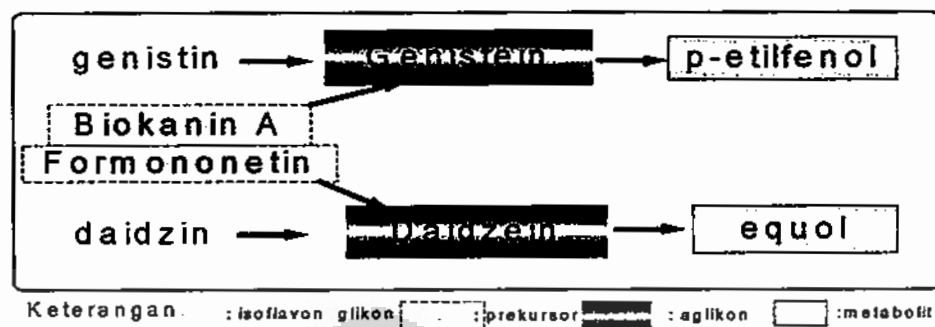


Gambar 2.9. Struktur kimia isoflavon<sup>19</sup>

Berdasarkan tipenya isoflavon dibagi atas dua, yaitu genistein dan daidzein. Berdasarkan strukturnya isoflavon terbagi dalam tiga struktur kimia yaitu: (1) aglikon (2) 6-O-asetilglukosida (3) 6-O-malonilglukosida.<sup>19</sup>

Aglikon merupakan isoflavon aktif dan terdapat dalam bentuk bebas, bersifat hidrofobik, memiliki berat molekul kecil, dan mempunyai prekursor yaitu biokanin A (prekursor genistein) dan formononetin (prekursor daidzein). Biokanin A dan formononetin masing-masing akan berubah menjadi genistein dan daidzein melalui proses metilasi. Dalam proses pencernaan sebagian kecil genistein dan daidzein diubah menjadi *p*-etilfenol dan equol.<sup>47</sup>

Isoflavon dengan struktur 6-O-asetilglukosida, terdiri dari 6-O-asetilgenistin dan 6-O-asetildaizidin; sedangkan isoflavon dengan struktur 6-O-malonilglukosida terdiri dari 6-O-malonilgenistin dan 6-O-malonildaizidin. Isoflavon dengan struktur 6-O-asetilglukosida dan 6-O-malonilglukosida disebut sebagai isoflavon konjugat atau isoflavon glikon. Isoflavon glikon dapat berikatan dengan glukosa, glukoronida atau sulfat, bentuk ini banyak terdapat pada tanaman, dan bersifat hidrofilik. Isoflavon glikon dalam suasana asam atau karena pengaruh enzim beta-glukosidase akan diubah menjadi bentuk aglikon.<sup>47,49</sup> Secara ringkas dapat dilihat beberapa jenis isoflavon pada gambar 2.10.

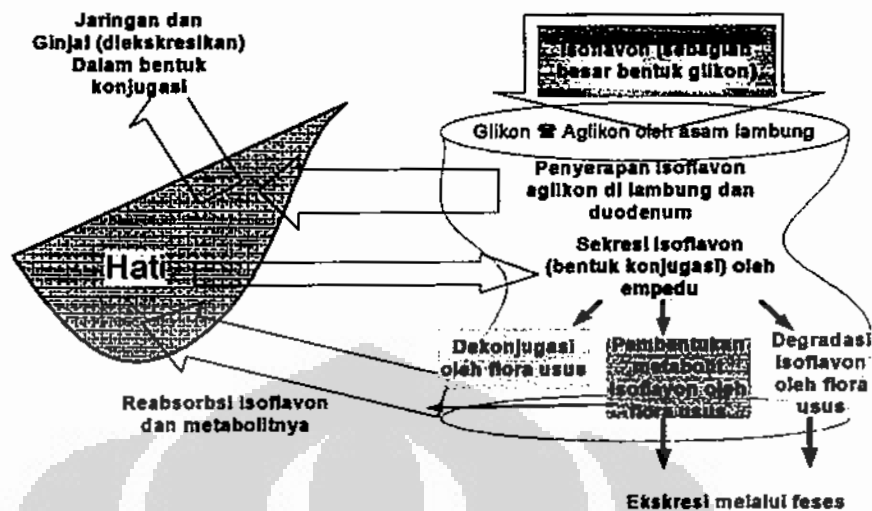


Gambar 2.10. Isoflavon aglikon, glikon, prekursor dan metabolitnya<sup>50</sup>

#### 2.4.3.2. Absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi isoflavon

Di dalam saluran cerna isoflavon bentuk glikon akan diubah oleh asam lambung dan flora normal usus menjadi bentuk aktif yaitu aglikon.<sup>14</sup> Isoflavon aglikon diabsorpsi di tiga tempat pada saluran cerna yaitu lambung-duodenum, usus halus dan usus besar. Isoflavon yang telah diabsorpsi akan dibawa ke hati dan selanjutnya diubah ke dalam bentuk konjugat untuk kemudian diedarkan ke seluruh jaringan (gambar 2.11).<sup>47,49</sup>

Sebagian isoflavon lain yang ada di dalam hati, akan masuk ke dalam sirkulasi enterohepatik dan disekresikan ke dalam usus melalui empedu dalam bentuk konjugasi glukoronida. Pada akhirnya, di dalam saluran pencernaan isoflavon akan mengalami tiga proses yaitu (1) dekonjugasi oleh flora normal usus yang kemudian direabsorpsi ke dalam hati; (2) pembentukan metabolit yaitu equol dan p-etilfenol oleh flora usus yang kemudian diabsorpsi dan ada pula yang diekskresi melalui feces; (3) degradasi isoflavon yang selanjutnya diekskresikan melalui feces. Ada pula isoflavon yang masuk ke dalam sirkulasi dan diekskresikan melalui urin dalam bentuk konjugasi glukoronida dan metabolitnya.<sup>47,49</sup> Gambar 2.11. memperlihatkan metabolisme dan bioavailabilitas isoflavon secara ringkas.



Gambar 2.11. Metabolisme dan bioavailabilitas isoflavon<sup>47</sup>

Metabolisme dan bioavailabilitas isoflavon dalam setiap tubuh manusia berbeda-beda, dipengaruhi oleh kebiasaan makan, bentuk suplementasi (isolasi zat aktif atau bahan makanan), asam lambung, flora usus, *transit time*, dan usia individu,<sup>51</sup> selain itu juga dipengaruhi oleh cara pemberian, jenis makanan dan struktur kimia isoflavon yang terkandung dalam bahan makanan.<sup>36</sup>

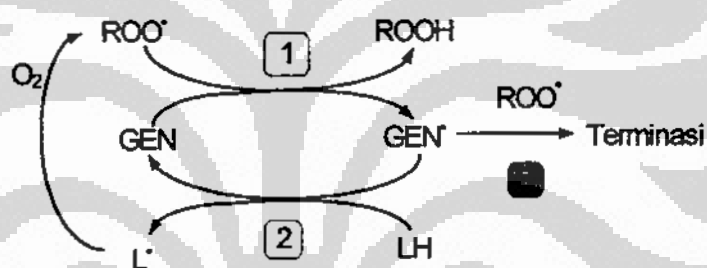
#### 2.4.3.3. Isoflavon sebagai antioksidan

Isoflavon kedelai sebagai *functional food* mempunyai sejumlah manfaat terhadap kesehatan. Salah satu manfaat isoflavon adalah sebagai antioksidan, karena dalam struktur kimianya terdapat gugus OH pada posisi C-5 yang berperan sebagai donor elektron untuk menetralkan elektron radikal bebas.<sup>36</sup> Cara kerja antioksidan isoflavon adalah dengan menghambat peroksidasi lipid yaitu sebagai *scavenger* radikal bebas, menstimulasi enzim antioksidan dan menginduksi sintesis glutation (GSH) sehingga kadar GSH seluler akan meningkat.<sup>36</sup> Genistein akan menstimulasi sintesis beberapa enzim antioksidan seperti katalase, SOD, GPx dan glutation reduktase.<sup>52</sup>

Penelitian Arora dkk (1998), Gou dkk (2002), menemukan bahwa efek antioksidan genistein lebih kuat dari pada daidzein, sedangkan prekursornya yaitu biokanin A dan formononetin mempunyai efek antioksidan sangat lemah.<sup>47</sup> Penelitian yang dilakukan berikutnya untuk mengetahui mekanisme kerja

antioksidan isoflavon lebih terarah pada mekanisme antioksidan genistein, karena sifat antioksidannya yang lebih kuat dari isoflavon lainnya.

Patel dkk (2001) menemukan bahwa genistein dapat dianggap sebagai antioksidan primer, yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas yang baru. Reaksi genistein (GEN) dengan radikal peroksil ( $\text{ROO}^\bullet$ ) menghasilkan radikal fenoksil ( $\text{GEN}^\bullet$ ) dan hidroperoksida ( $\text{ROOH}$ ) (gambar 2.12; reaksi 1). Dalam rangkaian reaksi untuk menghambat oksidasi lipid,  $\text{GEN}^\bullet$  yang dihasilkan akan bereaksi dengan ALTG (LH) membentuk kembali GEN dan menghasilkan radikal lipid ( $\text{L}^\bullet$ ). Radikal lipid yang terbentuk akan bereaksi dengan  $\text{O}_2$  dan membentuk  $\text{ROO}^\bullet$  (gambar 2.12; reaksi 2). Pada tahap terminasi terjadi reaksi antara  $\text{GEN}^\bullet$  dan  $\text{ROO}^\bullet$  membentuk genistein dan struktur lipid yang stabil (gambar 2.12; reaksi 3).<sup>53</sup>



Gambar 2.12. Mekanisme kerja antioksidan genistein pada oksidasi lipid<sup>53</sup>

Untuk mengurangi risiko penyakit kardiovaskular yang merupakan akibat lanjut dari peroksidasi lipid, *Food and Drug Administration (FDA)* Amerika Serikat, menganjurkan masyarakat mengonsumsi protein kedelai 25 gram perhari, dengan kandungan isoflavon 60 mg,<sup>49</sup> sedangkan konsensus atau penetapan oleh lembaga yang berwenang tentang anjuran asupan isoflavon yaitu berapa dosis yang tepat, berapa lama dikonsumsi, jenis yang sebaiknya dikonsumsi; apakah dalam bentuk makanan berbahan kedelai atau dalam bentuk suplementasi ekstrak isoflavon belum ada. Di Indonesia juga belum ada ketentuan atau kesepakatan bersama untuk hal tersebut di atas.

#### 2.4.3.4. Pengaruh pengolahan terhadap kadar isoflavon

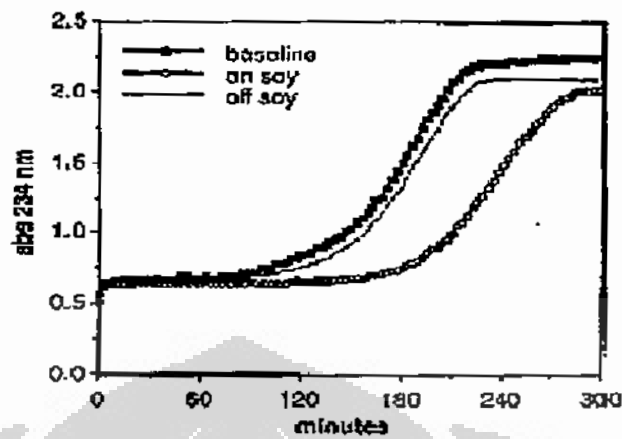
Kacang kedelai yang dikonsumsi pada umumnya telah melalui proses pengolahan. Hasil olahan kacang kedelai dapat berupa tempe, tahu, susu kedelai, bubuk kedelai dan lain-lain. Proses pengolahan baik itu direbus, dipanaskan, dipanggang, digoreng ataupun fermentasi dapat mengubah kandungan zat gizi dan senyawa yang bermanfaat yang ada di dalam kacang kedelai.

Penelitian yang dilakukan oleh Coward dkk (1998) menemukan bahwa proses menghaluskan kacang kedelai menjadi tepung kedelai tidak akan mengubah isoflavon glukosida (glikon) dan kadar totalnya juga tidak berubah, sedangkan pemanggangan akan mengurangi kadar isoflavon glukosida. Menggoreng akan mengurangi kadar isoflavon glukosida, tetapi akan meningkatkan isoflavon aglikon, sedangkan dengan dengan proses fermentasi, isoflavon bentuk glukosida akan diubah menjadi bentuk aglikon. Kadar total isoflavon selama proses pemasakan tidak banyak berubah, tetapi jika kedelai tersebut dibakar, akan mengurangi kadar isoflavon aglikon dan isoflavon total.<sup>45</sup>

#### 2.5. Pengaruh pemberian kacang kedelai terhadap peroksidasi lipid

Pada penelitian Tikkanen dkk (1998), yang melibatkan subyek penelitian yang sehat sebanyak enam orang, berusia antara 20-30 tahun, mengkonsumsi *soy bar* yang mengandung isoflavon 57 mg, setiap hari selama dua minggu. Penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Tikkanen dkk (1998) adalah dengan mengukur *lag time* kolesterol LDL terhadap peroksidasi. *Lag time* adalah waktu yang diperlukan oleh kolesterol LDL untuk menjadi kolesterol LDL teroksidasi bila diinduksi dengan suatu radikal yaitu ion tembaga ( $\text{Cu}^{2+}$ ), yang diukur dalam satuan menit. Dalam studi ini, dilakukan isolasi kolesterol LDL yang diambil pada saat sebelum dan sesudah mengkonsumsi *soy bar* selama dua minggu. Kolesterol LDL yang diisolasi kemudian dioksidasi dengan ion tembaga. Hasilnya menunjukkan bahwa setelah mendapat perlakuan, *lag time* kolesterol LDL berbeda bermakna dan memanjang 15% dibandingkan dengan sebelum perlakuan,<sup>11</sup> seperti yang terlihat pada gambar 2.13.





Gambar 2.13. Hasil penelitian Tikkanen dkk. Perbedaan *lag time* kolesterol LDL pada saat sebelum perlakuan, setelah perlakuan dan 12 hari setelah perlakuan berakhir.<sup>11</sup>

Penelitian lain dilakukan oleh Wiseman dkk (2000) yang melibatkan subyek penelitian sebanyak 24 orang, berusia 19-40 tahun, yang mengkonsumsi kedelai dengan kadar isoflavon yang berbeda, yaitu kadar isoflavon rendah (0,9 mg daidzein; 1,0 mg genistein) dan isoflavon tinggi (21,2 mg daidzein; 34,8 mg genistein) setiap hari selama 17 hari dengan *washout period* selama 25 hari.<sup>73</sup> Hasil penelitian tersebut menyimpulkan bahwa konsumsi kedelai yang mengandung isoflavon mengurangi peroksidasi lipid secara *in vivo* (tabel 2.5)

Tabel 2.5. Hasil penelitian Wiseman dkk, 2000<sup>73</sup>

Marker	LI (isoflavon rendah)	HI (isoflavon tinggi)
8-ep-PGF2 $\alpha$ (ng/L)	405 $\pm$ 5 0 [18]	326 $\pm$ 32 <sup>2</sup> [18]
MDA ( $\mu$ mol/L)	0,17 $\pm$ 0,013 [18]	0,18 $\pm$ 0,014 [18]
Genistein (nmol/L)	28 $\pm$ 4 [21]	779 $\pm$ 170 <sup>3</sup> [23]
Daidzein(nmol/L)	14 $\pm$ 2 [21]	317 $\pm$ 54 <sup>3</sup> [23]
Equol(nmol/L)	2 $\pm$ 0,4 [21]	76 $\pm$ 30 <sup>2</sup> [23]
0-desmethylangolensin (nmol/L)	1 $\pm$ 0,4 [21]	120 $\pm$ 35 <sup>3</sup> [23]

<sup>2,3</sup> berbeda bermakna dari LI (uji t berpasangan): <sup>2</sup>  $p < 0,05$ , <sup>3</sup>  $p < 0,01$ .

Penelitian berikutnya oleh Jenkins dkk (2002), melibatkan 18 subyek perempuan dan 23 laki-laki dengan rentang usia 60-64 tahun dan hiperkolesterolemia, yang diberikan dua macam *soy milk* dengan kadar isoflavon rendah (10 mg/hari) dan kadar isoflavon tinggi (73 mg/hari) dan *low-fat dairy food* sebagai kontrol.<sup>54</sup> Masing-masing suplementasi diberikan selama empat minggu. Hasil penelitian tersebut dikemukakan pada gambar 2.14.

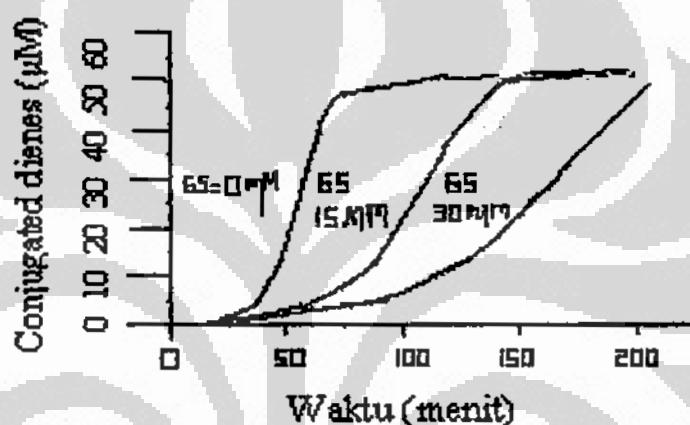


Gambar 2.14. Hasil penelitian Jenkins dkk: rerata ( $\pm$ SEM) perubahan presentase *conjugated dienes* kolesterol LDL dari 0 minggu sampai selesai perlakuan.  : grup kontrol ;  : isoflavon rendah ,  : isoflavon tinggi. \*, \*\* berbeda bermakna dari grup kontrol : \* $p < 0,05$  , \*\* $p < 0,01$ .  $n=37$ .<sup>54</sup>

Jenkins dkk (2002) memeriksa serum kolesterol LDL yang teroksidasi sebelum dan sesudah perlakuan untuk menilai efek antioksidan isoflavon terhadap peroksidasi kolesterol LDL. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari kadar serum kolesterol LDL yang teroksidasi pada saat sebelum dan sesudah perlakuan, walaupun dengan dosis isoflavon yang rendah (10 mg).<sup>54</sup>

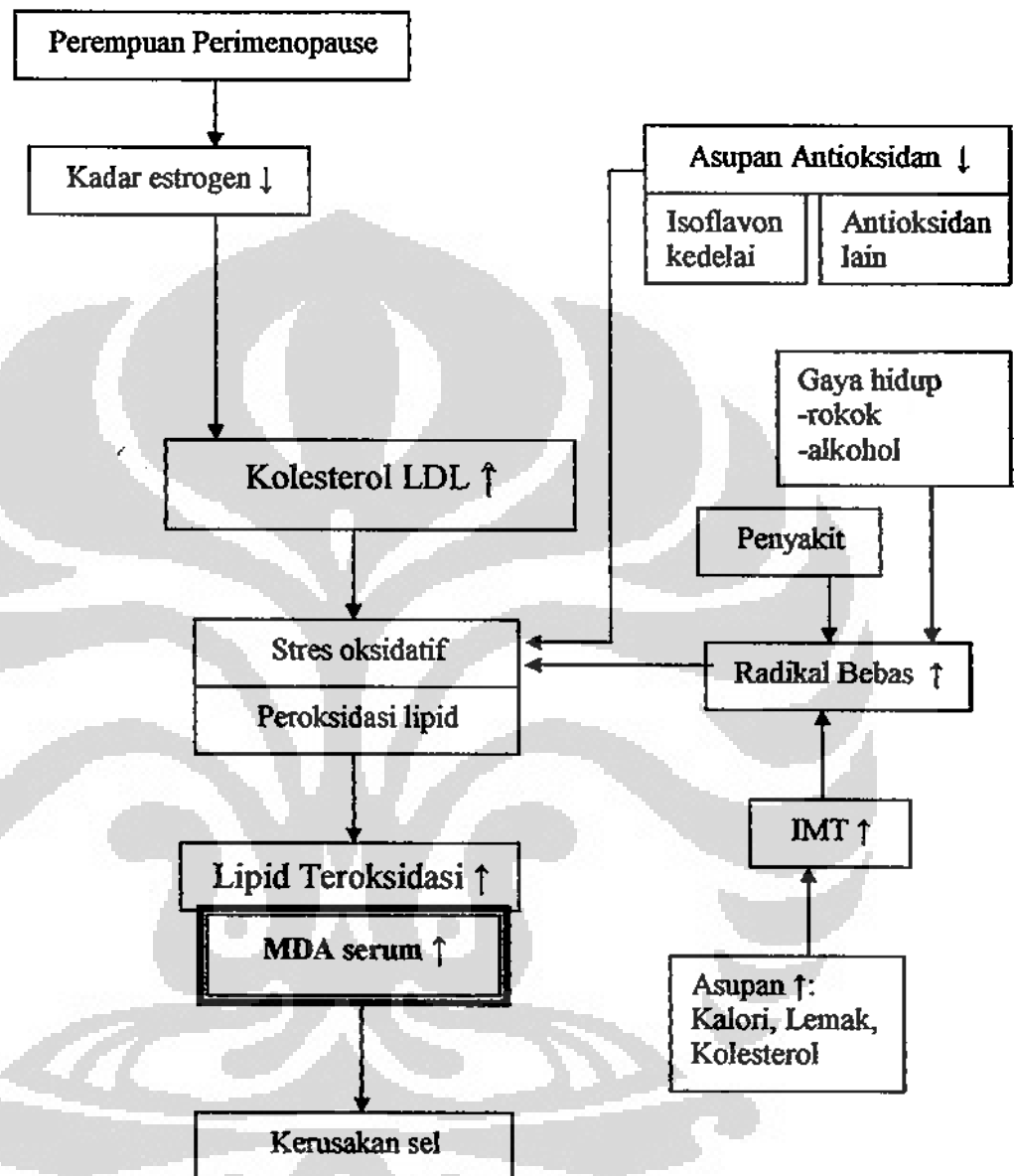
Penelitian selanjutnya oleh Patel dkk (2001) yang mengisolasi kolesterol LDL dari manusia, kemudian dipelajari resistensi kolesterol LDL tersebut tanpa genistein dan dengan genistein terhadap peroksidasi lipid. Hasil penelitian tersebut dikemukakan pada gambar 2.15. Patel dkk (2001) mempelajari mekanisme antioksidan isoflavon pada sistem lipid secara *in vitro* dengan cara mengekstraksi kolesterol LDL dari sampel darah manusia. Dalam studi ini Patel

dkk menguji kemampuan isoflavon untuk melindungi kolesterol LDL terhadap peroksidasi lipid dengan cara mengukur dan membandingkan *lag time* LDL teroksidasi pada kolesterol LDL tanpa genistein dan dengan genistein. Konsentrasi genistein yang digunakan adalah 15 dan 30  $\mu\text{M}$  (gambar 2.15). Makin tinggi kadar genistein maka makin panjang *lag time*-nya.<sup>53</sup> Hal ini menunjukkan bahwa genistein mempunyai efek melindungi kolesterol LDL dan meningkatkan resistensi kolesterol LDL terhadap peroksidasi.

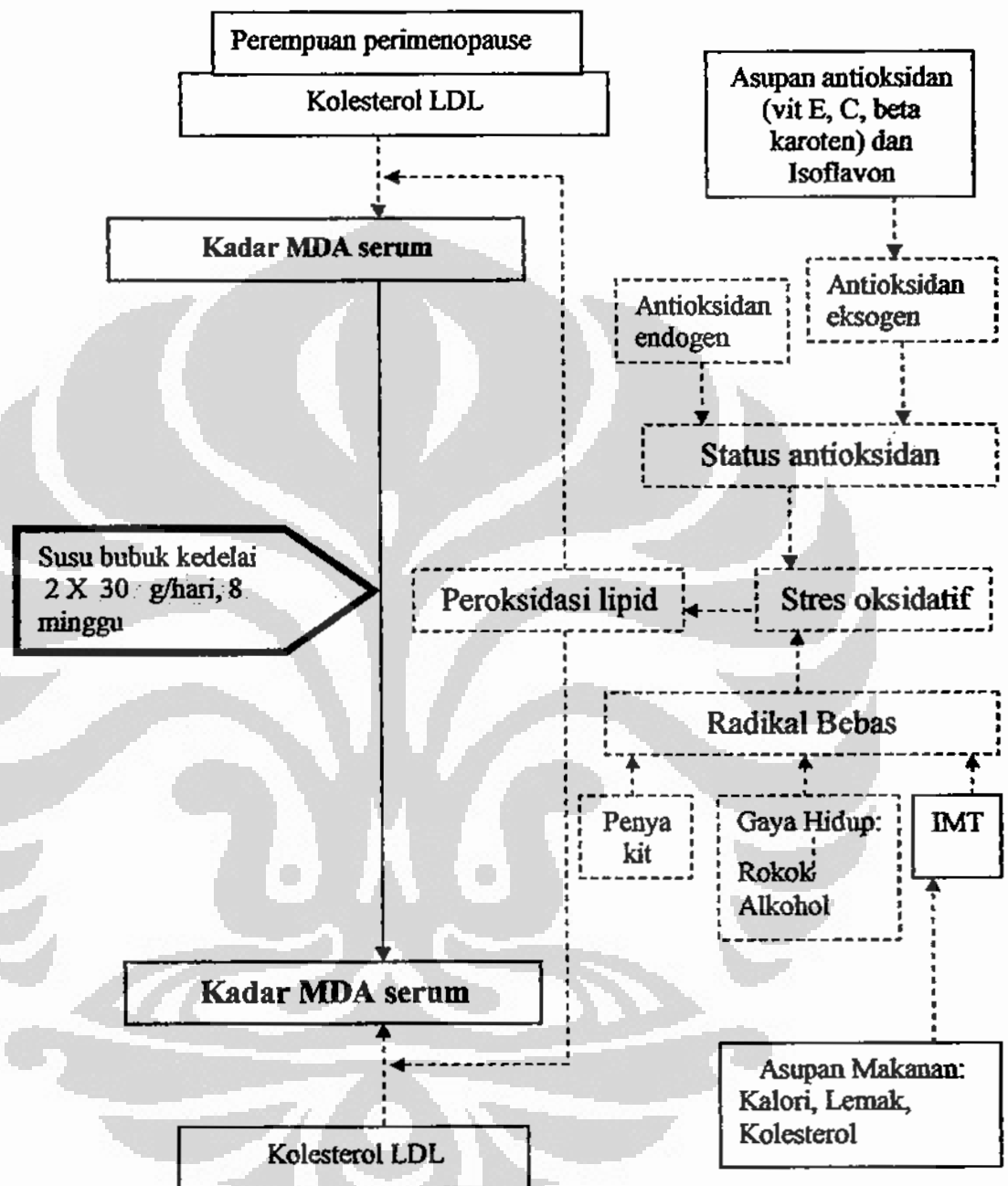


Gambar 2.15. Hasil penelitian Patel dkk. Efek genistein pada peroksidasi kolesterol LDL yang dipicu oleh ion tembaga. Perubahan LDL teroksidasi (*conjugated dienes*) pada berbagai tingkat konsentrasi genistein (GS) terlihat pada gambar di atas. Semakin tinggi konsentrasi genistein, maka semakin panjang waktu yang diperlukan untuk menjadi LDL teroksidasi.<sup>53</sup>

## 2.6. Kerangka Teori



2.7. Kerangka Konsep



Keterangan:

- : diukur
- ▤ : variabel bebas
- : dicari hubungannya
- - - - -> : tidak dicari hubungannya
- LDL : Low density lipoprotein
- IMT : Indeks Massa Tubuh
- MDA : Malondialdehida

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental dengan rancangan studi *one-group pre-post test design* untuk mengetahui pengaruh pemberian susu bubuk kedelai 2 X 30 g setiap hari selama delapan minggu terhadap kadar malondialdehida pada perempuan perimenopause usia 45-55 tahun dengan hiperkolesterolemia. Rancangan studi pada penelitian ini digunakan karena adanya keterbatasan waktu, dana dan pertimbangan faktor kepatuhan subyek

#### 3.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Klinik Gizi Seruni Departemen Ilmu Gizi FKUI. Pengumpulan data dimulai pada bulan November 2007 sampai jumlah subyek penelitian terpenuhi.

#### 3.3. Populasi dan subyek penelitian

##### 3.3.1. Populasi target

Populasi target adalah perempuan perimenopause usia 45-55 tahun dengan kadar kolesterol total 200-239 mg/dL. Populasi terjangkau adalah perempuan perimenopause berumur 45-55 tahun dengan kadar kolesterol total antara 200-239 mg/dL yang datang ke Klinik Gizi Seruni Departemen Ilmu Gizi FKUI melalui undangan mulai bulan November 2007, serta memenuhi kriteria penelitian.

##### 3.3.2. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah subyek yang memenuhi kriteria penelitian dan secara tertulis menyatakan persetujuannya untuk mengikuti penelitian ini dengan menandatangani fomulir persetujuan.

##### 3.3.3. Kriteria penelitian

Kriteria penelitian terdiri dari kriteria penerimaan, penolakan dan pengeluaran.

**Kriteria Penerimaan**

- IMT 18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>
- Tidak sedang mendapat terapi sulih hormon
- Tidak merokok
- Setuju mengikuti penelitian

**Kriteria Penolakan**

- Mengonsumsi obat yang mempengaruhi metabolisme lipid kurang dari satu tahun
- Mengonsumsi suplemen vitamin C, E, dan beta karoten
- Menderita penyakit darah tinggi yang ditentukan dengan anamnesis dan pemeriksaan tekanan darah tinggi; penyakit stroke, kanker dan osteoarthritis yang diketahui dengan anamnesis; diabetes melitus yang ditentukan berdasarkan pemeriksaan laboratorium gula darah puasa; penyakit hati yang ditentukan berdasarkan pemeriksaan laboratorium SGOT SGPT; penyakit ginjal yang ditentukan berdasarkan pemeriksaan ureum kreatinin darah; penyakit kardiovaskuler yang diketahui dengan anamnesis.

**Kriteria pengeluaran**

- Tidak mengikuti prosedur penelitian dan tidak menjalani pemeriksaan secara lengkap
- Konsumsi susu bubuk kedelai kurang 70 % dari yang diharuskan
- Selama penelitian menderita sakit berat, meninggal dunia atau menolak mengikuti penelitian

**3.3.4. Penentuan besar sampel penelitian**

$$n = \left[ \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) \times S}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)} \right]^2 \quad (\text{Sastroasmoro dan Ismael, 2006})$$

Dengan ketentuan:

- $n$  = Besar sampel minimal  
 $Z\alpha$  = Deviasi relatif yang menggambarkan derajat kepercayaan dalam pengambilan kesimpulan ( $\alpha=0,05$  maka  $Z\alpha=1,96$ )  
 $Z\beta$  = 1,282 (power = 90%)  
 $S$  = Simpang baku kadar MDA pada penderita hiperkolesterolemia  $0,27^{18}$   
 $X1-X2$  = Perbedaan klinis yang diinginkan; perubahan MDA yang diinginkan adalah sebesar 20% (0,2)

Jumlah sampel yang diperlukan 18,8 atau 19 orang dan perkiraan drop out 10% (2 orang), maka besar sampel minimal adalah: 21 orang.

### 3.3.5. Cara memperoleh sampel

Sampel penelitian didapatkan dari seleksi ibu-ibu kelompok PKK, arisan warga, pengajian dan kelompok gereja. Pengambilan subyek dilakukan setelah mendapatkan ijin penelitian dan keterangan lolos kaji etik. Seleksi terhadap populasi dengan menggunakan formulir skrining. Selanjutnya pasien yang memenuhi kriteria penelitian dan bersedia menanda-tangani formulir persetujuan diikut sertakan dalam penelitian.

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling*, yaitu populasi yang memenuhi syarat penelitian diambil menjadi subyek penelitian, sehingga tercapai jumlah sampel yang diperlukan sesuai dengan perhitungan.

### 3.4. Bahan suplementasi

Bahan suplementasi adalah susu bubuk kedelai. Yang diberikan kepada subyek penelitian sebanyak 2 X 30 g setiap hari selama delapan minggu. Susu bubuk kedelai tersebut diberikan kepada subyek dalam kemasan 200 gram, yang diambil oleh subyek sebanyak lima kemasan setiap dua minggu. Subyek penelitian juga diberikan sendok takar yang sama. Saat mengkonsumsi susu bubuk kedelai 30 g dicampur dengan air hangat 200 ml. Bahan suplementasi ini disediakan oleh produsen (lampiran 7). Cara dan proses pengolahan dari bahan mentah kacang kedelai menjadi susu bubuk kedelai dapat dilihat pada Lampiran 7. Kandungan nutrisi pada bahan suplementasi dapat dilihat pada tabel 3.1.



Tabel 3.1. Komposisi bahan suplementasi susu bubuk kedelai<sup>66</sup>

Zat Gizi	Kandungan zat gizi	Satuan
Energi	476,0	kcal
Karbohidrat	31,5	g/100 g
Protein	36,5	g/100 g
Lemak	22,7	g/100 g
Abu	3,7	g/100 g
Besi	4,8	mg/100 g
Kalsium	410,4	mg/100 g
Air	5,6	g/100 g
Siklamat	1 g/ 1 kg bubuk kedelai*	

\* Lihat Lampiran 6

### 3.5. Instrumen pengumpulan data

#### 3.5.1. Formulir

Data dikumpulkan dengan menggunakan instrumen pengumpul data, yaitu:

Formulir A1	Lembar informasi untuk subyek penelitian
Formulir A2	Lembar persetujuan subyek penelitian
Formulir A3	Formulir seleksi subyek penelitian
Formulir A4	Formulir data pemeriksaan fisik
Formulir B1	Formulir identitas subyek
Formulir B2	Formulir penilaian asupan makanan dengan <i>food recall</i> 1x24 jam
Formulir B3	Formulir penilaian asupan makanan dengan FFQ semikuantitatif
Formulir C	Formulir data antropometri, yaitu berat badan, tinggi badan, IMT
Formulir D	Formulir data laboratorium kolesterol LDL dan kadar MDA serum
Formulir E	Formulir data kepatuhan

#### 3.5.2. Peralatan dan spesimen

- Darah vena kubiti 5 ml untuk menilai kadar MDA serum sebelum, akhir minggu ke IV, dan akhir minggu ke VIII masa perlakuan serta pemeriksaan untuk skrining awal (Gula darah puasa, SGOP/SGPT, Ureum/ Kreatinin).
- Jarum suntik, tabung vacutainer dan pipet serta kapas alkohol
- *Tuorniquet*
- Kotak pendingin untuk menyimpan spesimen

- Sentrifugator
- Tabung sentrifugator
- *Reagen glucose ox<sup>IR</sup>* dari Indo Reagen untuk mengukur kadar glukosa plasma
- Pipet mikro 10  $\mu$ L
- Fotometer, merek Photometer seri 4010, dengan panjang gelombang 500-546nm
- *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*
- Alat timbangan berat badan digital *Seca alpha* dengan ketelitian 0,1 kg
- Alat ukur tinggi badan *Microtoise Stature Meter* 200 cm dengan ketelitian 0,1 cm

### **3.6. Pelaksanaan penelitian**

#### **3.6.1. Wawancara**

Wawancara dilakukan dengan menggunakan kuesioner terstruktur untuk melihat karakteristik subyek yang meliputi umur dan tingkat pendidikan, pola asupan dan asupan harian.

#### **3.6.2. Pengukuran antropometri**

Pengukuran antropometri subyek penelitian dilakukan pada sebelum dan setelah minggu ke IV serta IX masa perlakuan. Pengukuran antropometri meliputi berat badan (BB) dan tinggi badan (TB). Setiap pengukuran dilakukan sebanyak 2 kali dan diambil rerata dari hasil pengukuran tersebut. Hasil yang didapatkan digunakan untuk menentukan Indeks Massa Tubuh (IMT). Prosedur pengukuran adalah prosedur baku.<sup>56</sup>

#### **Prosedur pengukuran BB**

- Timbangan diletakkan di permukaan lantai yang rata dan keras, tanpa alas.
- Sebelum penimbangan dilakukan, skala harus dalam keadaan seimbang dan menunjukkan berat 0 kg.

- Subyek berdiri di tengah-tengah pijakan kaki pada alat timbangan dengan berdiri tegak tanpa menggunakan alas kaki atau kaus kaki dan menggunakan pakaian seminimal mungkin
- Penimbangan dilakukan dua kali lalu hasilnya dibaca dan dicatat di formulir.

#### Prosedur pengukuran TB

- Microtoise digantungkan pada dinding setinggi 2 meter dari lantai yang datar dan dinding yang tegak lurus dan rata dengan 0 cm tepat di lantai.
- Subyek yang akan diukur berdiri tegak di tengah-tengah microtoise tanpa menggunakan alas kaki atau kaus kaki dengan memakai pakaian yang minimal. Muka subyek menghadap lurus ke depan. Kepala harus rapat ke dinding. Kedua lengan bebas di samping badan.
- Bagian yang bergerak dari *microtoise* dengan hati-hati diturunkan hingga menyentuh bagian atas dari kepala dan terus diturunkan hingga rambut tertekan.
- Hasil pengukuran dibaca.
- Pengukuran tinggi badan dilakukan dua kali. Dijumlahkan dan dibagi dua.
- Rerata pengukuran tinggi badan dicatat di formulir.

Kemudian hasil pengukuran BB dan TB dimasukkan dalam rumus:

$IMT = BB \text{ (kg)} / TB^2 \text{ (m}^2\text{)}$ . Dalam penelitian ini IMT 18,5-29,9  $\text{kg/m}^2$  merupakan salah satu kriteria penerimaan.

#### 3.6.3. Prosedur pengukuran tekanan darah

Turunkan lengan dan ukur tekanan darah. Kembangkan manset, pasien diminta untuk membuat genggamannya beberapa kali dan tekanan darah diukur. Pengukuran diambil pada dua kunjungan/ lebih, dikategorikan oleh dua pengukuran atau lebih (dirata-rata) yang diambil pada dua kunjungan atau lebih.<sup>58</sup> Dalam penelitian ini tekanan darah normal yang dipakai sebagai salah satu kriteria penelitian, yaitu tekanan darah tinggi bila TD sistolik < 130 mmHg dan/atau TD diastolik  $\leq$  80 mmHg.<sup>25</sup>

#### 3.6.4. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium awal dilakukan untuk menentukan kriteria penolakan, meliputi: tes fungsi hati, normal bila SGOT < 27 U/L, SGPT < 34 U/L, fungsi ginjal, normal bila ureum 13-43 mg/dL, Kreatinin 0,5-0,9 mg/dL, Gula darah puasa, normal bila 80-100 mg/dL. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL dan MDA serum dilakukan pada subyek penelitian pada awal penelitian (data dasar), pertengahan (setelah minggu keempat masa perlakuan) dan akhir penelitian (setelah minggu kedelapan masa perlakuan).

Pemeriksaan fisik dilakukan untuk mengetahui apakah ada gejala klinis penyakit tertentu seperti: anemia, hepatitis, hipertiroid, penyakit jantung, pasca stroke, pasca operasi, gagal ginjal dan diabetes melitus.

#### 3.6.5. Pemeriksaan asupan makanan

Data asupan makanan diperoleh dengan wawancara, yaitu pemeriksaan asupan makanan dilakukan dengan metode *food frequency questionnaire* (FFQ) semikuantitatif tiga bulan terakhir dan *food recall* 1 x 24 jam, setiap subyek ditanya untuk mengingat asupan makanan selama 24 jam terakhir.

##### Metode *food recall* 1 x 24 jam

Terdapat 4 tahap yang dilakukan: Pertama, menanyakan kepada subyek kapan, dimana dan apa makanan yang dimakan oleh subyek selama 24 jam terakhir. Kedua, mencatat dengan teliti semua makanan dan minuman yang di konsumsi termasuk cara memasaknya. Ketiga, menanyakan kepada subyek perkiraan jumlah dari semua makanan dan minuman yang dikonsumsi dalam 24 jam dengan menggunakan ukuran rumah tangga (URT) dan *food model* digunakan untuk membantu ingatan subyek. Selanjutnya, data yang didapatkan dalam URT dikonversikan ke dalam ukuran gram dengan menggunakan daftar bahan makanan penukar<sup>60</sup> dan dianalisis dengan program *NutriSurvey* 2005. Sedangkan konsumsi isoflavon didapatkan dengan mengkonversi dan menghitung dengan cara manual.

Metode *food recall* 1 x 24 jam akan dilakukan sebanyak lima kali, yaitu sebelum perlakuan, awal minggu III perlakuan, awal minggu V perlakuan, awal minggu VII perlakuan dan awal minggu IX perlakuan. *Food recall* 1 x 24 jam

pada sebelum perlakuan akan diberi kode "0" pada penyajian data, sedangkan *food recall* 1 x 24 jam awal minggu III dan awal minggu V dari masing-masing individu akan dibuat reratanya dan disajikan dengan kode "IV". Untuk *food recall* 1 x 24 jam awal minggu VII dan awal minggu IX dari masing-masing individu akan dibuat reratanya dan disajikan dengan kode "VIII".

### Metode FFQ semikuantitatif

Metode FFQ semikuantitatif untuk menilai pola asupan isoflavon dan vitamin C, E, beta karoten dalam satu bulan terakhir, yang meliputi frekuensi, jenis, dan jumlah makanan yang dikonsumsi, dilakukan sebanyak satu kali, pada saat sebelum masa perlakuan dimulai. Metode FFQ semikuantitatif dilakukan dalam 4 tahap sama dengan metoda *food recall* 24 jam.

### 3.7. Identifikasi variabel

Matriks identifikasi variabel pada penelitian ini dapat dilihat dalam tabel 3.2.

Tabel 3.2. Matriks identifikasi variabel

No	Variabel	Metode	Skala	Kepustakaan
1.	Karakteristik demografi			
	a. Umur	Wawancara dan kuesioner	Ratio, ordinal	Perkeni, 2005
	b. Pendidikan		Ordinal	
2.	Indeks massa tubuh (IMT) awal, minggu IV dan minggu IX	Pengukuran antropometri	Rasio, ordinal	Gibson, 2005
3.	Asupan Zat Gizi (awal, pertengahan, akhir perlakuan)			
	a. Kalori	Recall 1x24 jam	Ratio/Ordinal	Perkeni, 2005 NCEP-ATP III, 2001 COT Working Group on Phytoestrogen, 2004
	b. Lemak	Recall 1x24 jam	Ratio/Ordinal	
	d. Kolesterol	Recall 1x24 jam	Ratio/Ordinal	
	f. Isoflavon	FFQ semikuantitatif, recall 1 X 24 jam	Ratio/Ordinal	
	g. Beta karoten	FFQ semikuantitatif	Ratio/Ordinal	
	h. Vitamin C	Recall 1x24 jam	Ratio/Ordinal	
		FFQ semikuantitatif	Ratio/Ordinal	
	i. Vitamin E	Recall 1x24 jam	Ratio/Ordinal	
		FFQ semikuantitatif	Ratio/Ordinal	
4.	Kadar kolesterol LDL	Spektrofotometri	Ratio	NCEP-ATP III, 2001
5.	Kadar MDA serum			
	a. Sebelum perlakuan	Spektrofotometri	Ratio	Vega-Lopez dkk, 2005
	b. Minggu IV			
	c. Minggu VIII			

### **3.8. Pengolahan, analisis, interpretasi, dan penyajian data**

#### **3.8.1. Pengolahan data**

Data yang diperoleh diedit, dikelompokkan, diberi kode, kemudian dilakukan data entri. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Statistical Program for Social Science (SPSS)* versi 11.5.

#### **3.8.2. Analisis data**

Data yang sudah bersih akan ditabulasi dan diolah secara statistik dengan menggunakan program SPSS 11.5, sedangkan analisis asupan zat gizi menggunakan program *Nutrisurvey* 2005, analisis asupan isoflavon dari bahan makanan menggunakan daftar bahan makanan sumber isoflavon<sup>43</sup> dan dihitung secara manual dengan menggunakan kalkulator.

Data mengenai karakteristik demografi disajikan dalam bentuk statistik deskriptif. Untuk mengetahui apakah data yang akan diuji berdistribusi normal atau tidak dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Jika distribusi data normal, data disajikan dalam bentuk rerata  $\pm$  simpang baku, dan jika distribusi data tidak normal, disajikan dalam median dan rentang nilai minimum-maksimum.

Analisis data numerik dua kelompok berpasangan, akan digunakan uji statistik parametrik (uji t-berpasangan) apabila data berdistribusi normal dan bila data berdistribusi tidak normal akan digunakan uji statistik nonparametrik (*Wilcoxon*). Batas kemaknaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 5% dengan ketentuan, tidak bermakna bila  $p \geq 0,05$  atau bermakna bila  $p < 0,05$ .

#### **3.8.3. Penyajian data**

Data yang sudah diolah dan dianalisis disajikan dalam bentuk tekstular, tabular dan diagram, serta disajikan dalam bentuk tesis dan diuji di hadapan para penguji.

### **3.9. Batasan operasional**

Subyek penelitian adalah perempuan perimenopause berusia 45-55 tahun yang mempunyai kadar kolesterol total 200-239 mg/dL yang diundang ke Departemen Ilmu Gizi FKUI, Jakarta dan memenuhi kriteria penelitian.

**Usia:**

Usia yang digunakan ialah berdasarkan tanggal lahir yang tertera di Kartu Tanda Penduduk (KTP) dan ditentukan berdasarkan hari ulang tahun terakhir usia subyek. Usia subyek akan dikategorikan dalam dua kelompok yaitu 45-49 tahun dan 50-55 tahun.<sup>25</sup>

**Perimenopause:**

Perimenopause adalah waktu antara segera sebelum menopause (di mana terjadi perubahan gambaran endokrinologik, biologik dan klinik) dan satu tahun sesudah menopause.<sup>5</sup> Data diperoleh dengan cara melakukan wawancara riwayat amenorhoe subyek penelitian.

**Pendidikan:**

Pada penelitian ini yang dimaksud dengan pendidikan adalah tingkat pendidikan formal terakhir yang pernah diikuti oleh subyek penelitian yang dikategorikan sebagai berikut:

Rendah: buta huruf, tamat/tidak tamat SD dan SLTP, tidak tamat SLTA/ sederajat  
 Sedang: tamat SLTA tapi tidak tamat perguruan tinggi atau akademi  
 Tinggi : tamat perguruan tinggi atau akademi

**Status gizi:**

Status gizi ditentukan dengan perhitungan indeks massa tubuh (IMT), yang didapat dengan cara membagi BB dalam kilogram dengan TB dalam meter kuadrat. Klasifikasi status gizi berdasarkan IMT tertera pada tabel 3.3.

Tabel 3.3. Klasifikasi status gizi<sup>64</sup>

IMT (kg/m <sup>2</sup> )	Klasifikasi
≤18,5	Berat badan kurang
18,5-22,9	Normal
> 23	Berat badan lebih:
23-24,9	Berisiko
25-29,9	Obes I
>30	Obes II

### Asupan harian kalori, lemak dan kolesterol:

Data asupan harian kalori, lemak dan kolesterol diperoleh dengan metode tanya ulang (*recall*) 1x24 jam untuk asupan sebelum perlakuan (diberi kode "0"), pertengahan yaitu pada hari pertama minggu keempat (diberi kode "IV") dan sesudah perlakuan (hari pertama minggu kesembilan) diberi kode "VIII". Makanan yang dikonsumsi dianalisis dengan menggunakan komputer program *Nutrisurvey* 2005. Kemudian dihitung persentase asupan zat gizi dibandingkan dengan KKT masing-masing subyek, yang akan dilakukan sebagai berikut:

#### Asupan harian kalori

Asupan harian kalori adalah besarnya kadar kalori yang dikonsumsi per orang per hari dibandingkan dengan kebutuhan kalori total (KKT) per individu. KKT tersebut tergantung dari kebutuhan kalori basal (KKB). Dan aktivitas fisik (AF) masing-masing individu.

Untuk menentukan kebutuhan kalori total (KKT) maka:

$$\text{KKT} = \text{KKB} + \text{AF}$$

Kebutuhan kalori basal dihitung dengan menggunakan rumus *Harris Benedict*:

$$\text{KKB perempuan} = 655 + (9,63 \times \text{BB}) + (1,8 \times \text{TB}) - (4,73 \times \text{U})$$

Keterangan: BB = berat badan (kg), TB = tinggi badan (cm), U = usia (tahun).

Aktivitas fisik dihitung berdasarkan Indeks Aktiivitas Fisik (IAF), dan dibagi menjadi (1) rendah; (2) sedang; (3) tinggi, kemudian ditentukan penambahan kalorinya.

Contoh jenis aktivitas fisik rendah, sedang, tinggi digambarkan dalam tabel 3.4

Tabel 3.4. Jenis aktivitas fisik<sup>59</sup>

Rendah	Sedang	Tinggi
Pegawai kantor	Pegawai industri ringan	Pelaut
Pegawai toko	Ibu rumah tangga	Buruh
Sekretaris	Mahasiswa	Penari
Sopir		Atlit
Guru		



Intepetasi indeks aktivitas fisik adalah

Rendah : ditambah 10% dari kebutuhan basal  
 Sedang : ditambah 20% dari kebutuhan basal  
 Tinggi : ditambah 30% dari kebutuhan basal

#### Asupan harian lemak

Asupan harian lemak adalah banyaknya lemak total yang dikonsumsi dalam makanan sehari-hari. Data diperoleh dari *food recall* 1x24 jam dalam satuan gram, yang kemudian dikonversi dalam satuan kkal untuk masing-masing subyek penelitian. Asupan lemak harian (kkal) dipersentasikan terhadap KKT masing-masing subyek setelah itu diinterpretasikan sesuai anjuran penatalaksanaan hiperkolesterolemia pada tabel 3.5.<sup>25</sup>

#### Asupan harian kolesterol

Asupan harian kolesterol adalah banyaknya kolesterol yang dikonsumsi dalam makanan per hari. Untuk asupan kolesterol, diambil rata-rata kemudian diinterpretasikan sesuai dengan tabel 3.5.<sup>25</sup>

Tabel 3.5. Interpretasi asupan zat gizi<sup>25,67</sup>

Zat gizi	Hasil penilaian	Interpretasi
Kalori**	<80% dari kebutuhan kalori total	Kurang
	80-120% dari kebutuhan kalori total	Adekuat
	> 120% dari kebutuhan kalori total	Lebih
Lemak*	< 20% dari kalori total	Kurang
	20-25% dari kalori total	Cukup
	> 25% dari kalori total	Lebih
Kolesterol*	<200 mg/hari	Cukup
	≥200 mg/hari	Lebih

Sumber: \*PERKENI, 2005; \*\*Buku pedoman petugas Gizi Puskesmas; Depkes RI, 1990.

#### Asupan harian dan pola asupan isoflavon

Asupan harian isoflavon adalah asupan isoflavon per hari dalam bahan makanan sumber, di mana pada penelitian ini adalah asupan isoflavon dari bahan suplementasi (60 gram susu bubuk kedelai/hari) dan diet bahan makanan sumber sehari-hari. Pada penelitian ini kandungan isoflavon bahan suplementasi didapat

dari perhitungan rerata yaitu  $\pm 98$  mg dalam 60 gram susu bubuk kedelai.<sup>43</sup> Dari diet sehari-hari, kandungan isoflavon pada bahan makanan kacang kedelai, tempe, tahu, bubuk kedelai, susu kedelai dianalisis berdasarkan penelitian yang telah dilakukan<sup>43</sup> dan data diolah dengan secara manual dengan menggunakan kalkulator.

Pola asupan isoflavon adalah asupan isoflavon sehari-hari yang diperoleh dari analisis asupan harian dari data FFQ semikuatitatif selama tiga bulan terakhir. Data FFQ semikuatitatif akan diambil pada saat sebelum perlakuan.

#### **Asupan harian dan pola asupan vitamin E**

Asupan harian vitamin E adalah banyaknya vitamin E yang dikonsumsi dalam makanan per hari dan dari asupan bahan suplementasi. Data asupan vitamin E diperoleh dengan metoda *food recall* 1 x 24 jam. Kemudian dibandingkan dengan angka kecukupan vitamin E untuk orang dewasa, yaitu 15 mg/hari,<sup>29,41,70</sup> setelah itu diinterpretasi sesuai dengan tabel 3.6. Pola asupan vitamin E adalah asupan vitamin E sehari-hari yang diperoleh dari analisis asupan harian dari data FFQ semikuatitatif selama tiga bulan. Data FFQ semikuatitatif akan diambil pada saat sebelum perlakuan.

#### **Asupan harian dan pola asupan vitamin C**

Asupan harian vitamin C adalah banyaknya vitamin C yang dikonsumsi dalam makanan per hari. Data asupan vitamin C diperoleh dengan metoda *food recall* 1 x 24 jam. Kemudian dibandingkan dengan angka kecukupan vitamin C untuk wanita dewasa di Asia Tenggara, 2002, yaitu 75 mg/hari,<sup>41,61,70</sup> setelah itu diinterpretasi sesuai dengan tabel 3.6. Pola asupan vitamin C adalah asupan vitamin C sehari-hari yang diperoleh dari analisis asupan harian dari data FFQ semikuatitatif selama tiga bulan. Data FFQ semikuatitatif akan diambil pada saat sebelum perlakuan.

#### **Asupan harian dan pola asupan beta karoten**

Asupan harian beta karoten adalah banyaknya beta karoten yang dikonsumsi dalam makanan per hari. Data asupan beta karoten diperoleh dengan metoda *food*

*recall* 1 x 24 jam. Penelitian Mosca dkk menunjukkan, asupan beta karoten yang dapat mencegah peroksidasi LDL adalah 12-24 mg/hari,<sup>61</sup> setelah itu diinterpretasi sesuai dengan tabel 3.6. Pola asupan beta karoten adalah asupan beta karoten sehari-hari yang diperoleh dari analisis asupan harian dari data FFQ semikuatitatif selama tiga bulan. Data FFQ semikuatitatif akan diambil pada saat sebelum perlakuan.

Tabel 3.6. Interpretasi asupan antioksidan

Antioksidan	Hasil penilaian	Interpretasi
Vitamin E	< 15 mg/hari	Kurang
	≥ 15 mg/hari	Cukup
Vitamin C	< 75 mg/hari	Kurang
	≥ 75 mg/hari	Cukup
Beta karoten	<12 mg/hari	rendah
	12-24 mg/hari	adekuat
	>24 mg/hari	tinggi

#### Kadar kolesterol LDL

Kadar kolesterol LDL subyek penelitian diperoleh dari pemeriksaan darah subyek yang diambil pada saat sebelum penelitian, pada awal minggu V setelah perlakuan dan pada awal minggu IX masa perlakuan. Sebelum waktu pengambilan sampel darah, subyek penelitian diwajibkan melakukan puasa selama 12 jam.

Tabel 3.7. Klasifikasi kadar kolesterol LDL (mg/dL)

Kadar Kolesterol LDL	Kategori
< 100	Optimal
100 – 129	Mendekati optimal
130 – 159	Batas tinggi
160 – 189	Tinggi
≥ 190	Sangat tinggi

#### Kadar MDA serum

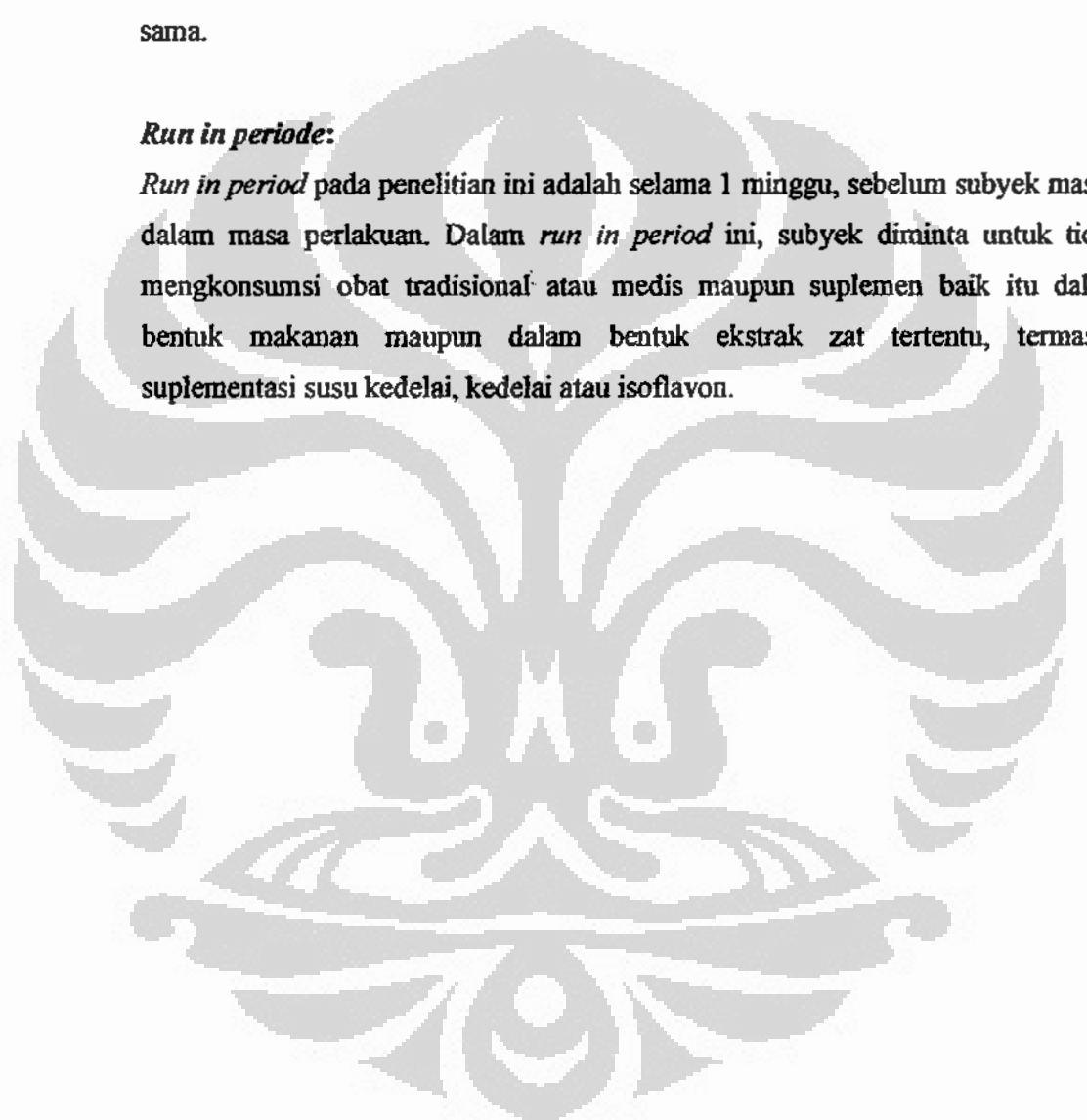
Kadar MDA serum subyek penelitian diperoleh dari pemeriksaan serum subyek penelitian yang diambil pada saat sebelum dan setelah minggu IV serta IX masa perlakuan.

**Bahan suplementasi**

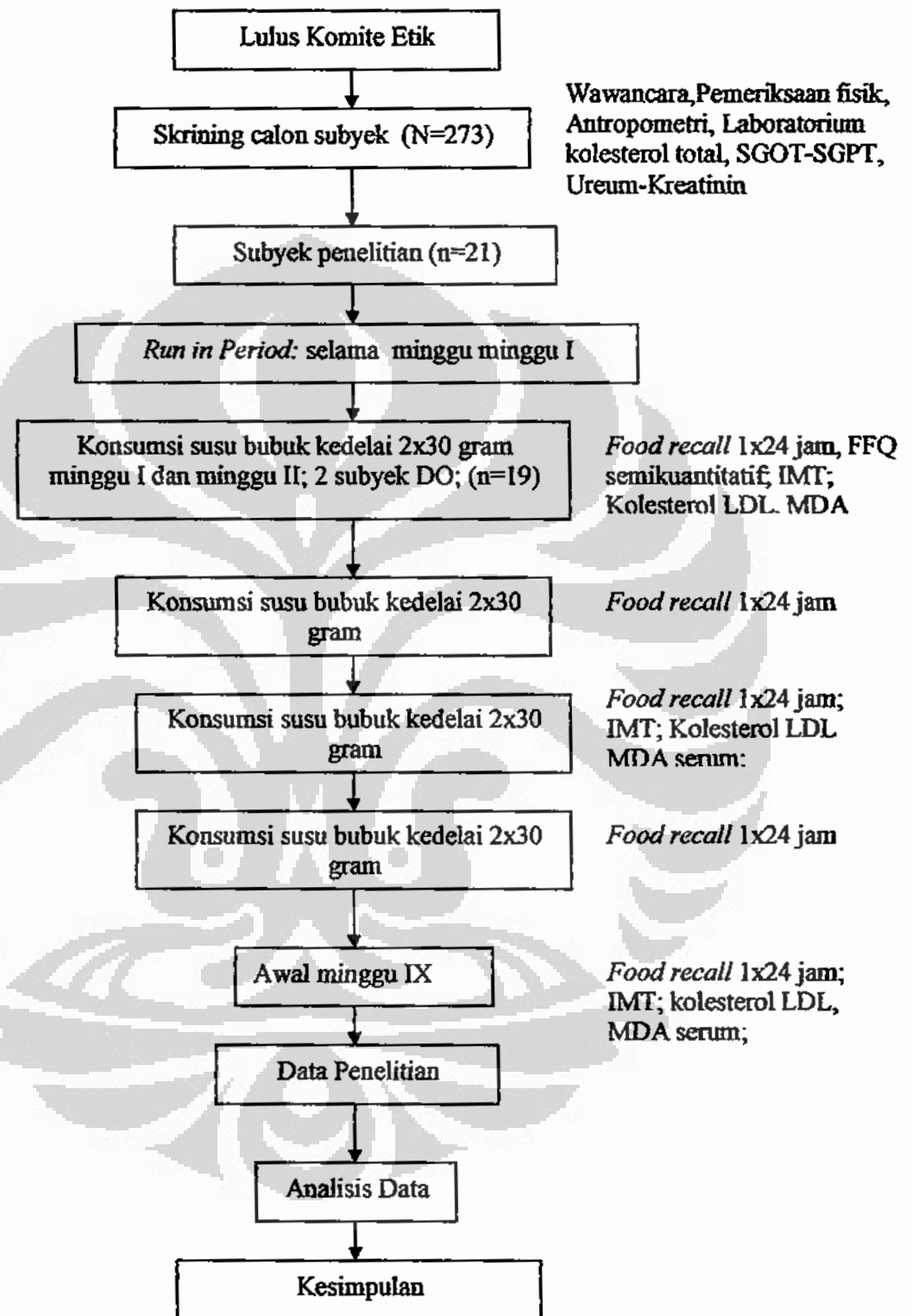
Bahan suplementasi yang diberikan kepada subyek penelitian adalah susu bubuk kedelai yang dikonsumsi 2 x 30 gram perhari selama delapan minggu, dilarutkan dengan air hangat 200 cc, sehingga menjadi susu kedelai. Untuk mengukur 30 gram dalam satu kali pemakaian, subyek penelitian diberikan sendok takar yang sama.

***Run in periode:***

*Run in period* pada penelitian ini adalah selama 1 minggu, sebelum subyek masuk dalam masa perlakuan. Dalam *run in period* ini, subyek diminta untuk tidak mengkonsumsi obat tradisional atau medis maupun suplemen baik itu dalam bentuk makanan maupun dalam bentuk ekstrak zat tertentu, termasuk suplementasi susu kedelai, kedelai atau isoflavin.



### 3.10. Kerangka operasional



#### 4. HASIL PENELITIAN

Pengumpulan data dilakukan mulai awal November 2007 hingga pertengahan Maret 2008 di Klinik Spesialis Gizi Seruni Departemen Ilmu Gizi FKUI, dilanjutkan dengan pengolahan data hingga April 2008. Calon subyek penelitian adalah perempuan perimenopause, sehat, berusia 45-55 tahun, mempunyai kadar kolesterol total 200-239 mg/dL, yang kemudian diundang ke klinik Spesialis Gizi Seruni untuk diperiksa kesehatannya sesuai dengan kriteria penelitian. Calon subyek yang memenuhi kriteria penelitian dan bersedia ikut serta dalam penelitian ini menandatangani *informed consent*.

Jumlah calon subyek penelitian yang diskruining lapangan adalah 273 orang; di mana 245 calon subyek tidak memenuhi kriteria penelitian pada saat dilakukan skrining lapangan. Dari 245 calon subyek, 89 subyek mempunyai IMT kurang dari 18,5 kg/m<sup>2</sup> atau lebih dari 29,9 kg/m<sup>2</sup>, 23 calon subyek ketika ditanyakan ulang tentang kesediaannya mengikuti penelitian mereka menyatakan menolak dengan alasan tidak menyukai susu kedelai, sedangkan 42 calon subyek ternyata mempunyai kadar kolesterol di atas 239 mg/dL, 50 calon subyek menderita hipertensi, 10 calon subyek mempunyai riwayat stroke, 5 calon mempunyai riwayat DM, 7 calon diketahui mempunyai kadar gula sewaktu di atas 200 mg/dL, 8 calon subyek mempunyai riwayat rawat inap karena penyakit kronik (subyek tidak tahu diagnosisnya) dalam satu bulan terakhir, 11 calon subyek menderita lebih dari satu penyakit degeneratif.

Setelah skrining di lapangan tersebut didapatkan 28 calon subyek yang memenuhi kriteria penelitian, yang kemudian diundang ke Klinik Gizi Seruni untuk dilakukan pengukuran antropometri, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium ulang yaitu kadar gula darah puasa (GDP), SGOT, SGPT dan ureum-kreatinin. Hasil pemeriksaan laboratorium tersebut menunjukkan bahwa 3 calon subyek mempunyai kadar GDP di atas 126 mg/dL, 3 calon subyek mempunyai kadar SGOT, SGPT di atas normal dan 1 calon subyek mempunyai kadar kreatinin di atas normal, sehingga pada tahap akhir skrining diperoleh 21 orang sebagai subyek penelitian. Setelah diberikan perlakuan ternyata sebanyak 19 orang subyek mengikuti masa perlakuan hingga delapan minggu, sedangkan 2

orang subyek *drop-out* setelah dua minggu pertama masa perlakuan, yaitu: seorang subyek mengeluh mual dan muntah setelah mengkonsumsi bahan suplementasi, sedangkan subyek lainnya tidak datang untuk kontrol dan tidak dapat dihubungi oleh peneliti pada dua minggu pertama masa perlakuan.

#### 4.1. Karakteristik demografi subyek penelitian

Karakteristik demografi subyek penelitian ini meliputi usia, tingkat pendidikan dan status gizi. Subyek penelitian yang dilibatkan adalah perempuan berusia 45-55 tahun, dengan rerata usianya adalah  $49,15 \pm 2,98$  tahun dan umumnya berlatar belakang pendidikan rendah. Sebaran karakteristik demografi subyek penelitian terdapat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Sebaran subyek penelitian berdasarkan karakteristik usia dan tingkat pendidikan

Variabel	Sebelum masa perlakuan (n=19)
Usia (tahun)	$49,15 \pm 2,98$
Kategori usia; n (%)	
45-49 tahun	8 (42,1)
50-55 tahun	11 (57,9)
Tingkat pendidikan;n (%)	
Rendah	10 (52,64)
Sedang	6 (31,57)
Tinggi	3 (15,79)

#### 4.2. Status Gizi

Pada penelitian ini status gizi ditentukan dengan menghitung IMT dan didapatkan rerata IMT sebelum perlakuan adalah  $23,66 \pm 3,58$  kg/m<sup>2</sup>, yang tergolong kelompok "berisiko". Setelah empat dan delapan minggu masa perlakuan, rerata status gizi subyek penelitian mengalami sedikit perubahan. Berdasarkan penggolongan IMT maka status gizi subyek penelitian sebelum dan sesudah perlakuan pada minggu keempat dan delapan terdistribusi paling banyak dalam kelompok "normal" dan "obes I". Tabel 4.2. memperlihatkan sebaran subyek berdasarkan karakteristik status gizi sebelum dan selama masa perlakuan.

Tabel 4.2 . Sebaran subyek berdasarkan karakteristik status gizi pada minggu ke 0, IV dan VIII

Variabel	Masa perlakuan		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
IMT (kg/m <sup>2</sup> )	23,66 ± 3,58	23,77 ± 3,63	23,69 ± 3,58
Kategori IMT;n (%)			
Normal	8 (42,1)	9 (47,4)	9 (47,4)
Berisiko	3 (15,8)	1 (5,2)	2 (10,5)
Obes I	8 (42,1)	9 (47,4)	8 (42,1)

0= sebelum perlakuan; IV= setelah 4 minggu perlakuan, VIII= setelah 8 minggu perlakuan

#### 4.3. Asupan harian kalori, lemak, kolesterol

Asupan harian kalori, lemak dan kolesterol subyek penelitian diperoleh dengan menggunakan metode *food recall* 1 X 24 jam. Tabel 4.3 memperlihatkan karakteristik asupan harian kalori, lemak dan kolesterol.

Tabel 4.3. Karakteristik asupan harian kalori, lemak, kolesterol pada saat sebelum dan pada masa perlakuan

Jenis asupan	Masa perlakuan		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
<b>Kalori:</b>			
KKT (kkal)	1518,63 ± 166,10	1520,71 ± 166,81	1518,65 ± 164,57
Asupan harian (kkal)	920,38 ± 299,73	1562,44 ± 273,54	1558,74 ± 315,54
% asupan terhadap KKT	61,36 ± 22,63	104,08 ± 22,29	104,46 ± 26,38
Interpretasi asupan kalori; n(%)			
Kurang	15 (78,90)	3 (15,80)	9 (47,40)
Adekuat	4 (21,10)	11 (57,90)	8 (42,10)
Lebih	0 (0)	5 (26,30)	2 (10,50)
<b>Lemak:</b>			
Asupan harian (g)	34,73 ± 16,82	30,50 ± 10,29	35,75 ± 14,76
% asupan terhadap KKT	20,69 ± 10,45	18,15 ± 6,00	21,67 ± 9,83
Interpretasi asupan lemak; n(%)			
Kurang	10 (52,60)	10 (53)	10 (53)
Cukup	4 (21,10)	7 (37)	3 (16)
Lebih	5 (26,30)	2 (10)	6 (31)
<b>Kolesterol:</b>			
Asupan harian (mg)	127 (10 - 631,10)*	154,67 ± 82,75	171,93 ± 100,69
Interpretasi asupan kolesterol; n(%)			
Cukup	12 (63,20)	14 (74)	11 (58)
Lebih	7 (36,80)	5 (26)	8 (42)

\* rerata asupan 193,49 ± 188,18



a. Asupan kalori harian pada saat sebelum perlakuan tergolong “kurang” dengan rerata % asupan kalori terhadap KKT adalah  $61,36 \pm 22,63$  %. Setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan, % asupan harian kalori terhadap KKT meningkat, masing-masing menjadi  $104,08 \pm 22,29$  dan  $104,46 \pm 26,38$  yang tergolong “adekuat”.

b. Pada penelitian ini asupan harian lemak subyek penelitian berdasarkan kriteria PERKENI (2005)<sup>25</sup> tergolong “cukup,” setelah minggu IV terjadi penurunan, tetapi minggu VIII masa perlakuan ada peningkatan.

c. Asupan harian kolesterol subyek penelitian pada saat sebelum, setelah empat dan delapan minggu perlakuan tergolong “cukup” yaitu  $< 200$  mg/hari, sesuai dengan anjuran PERKENI (2005).<sup>25</sup>

#### **4.4. Asupan harian dan pola asupan antioksidan**

Penilaian asupan harian dan pola asupan antioksidan meliputi asupan isoflavon, vitamin E, beta karoten dan vitamin C. Pola asupan antioksidan dinilai sebelum masa perlakuan dengan metode FFQ semikuantitatif, sedangkan penilaian asupan harian antioksidan menggunakan metode *food recall* 1 x 24 jam.

##### **4.4.1. Pola asupan antioksidan**

Pola asupan antioksidan subyek penelitian sebelum masa perlakuan menggambarkan asupan antioksidan subyek penelitian dalam jangka waktu tiga bulan terakhir. Tabel 4.4. memperlihatkan bahwa pola asupan antioksidan yang meliputi isoflavon, vitamin E, beta karoten dan vitamin C pada penelitian ini, ternyata pada umumnya kurang lebih sama dengan asupan hariannya pada saat sebelum masa perlakuan.

Tabel 4.4. Pola asupan antioksidan: isoflavon, vitamin E, vitamin C dan beta karoten sebelum masa perlakuan selama tiga bulan terakhir

Pola asupan antioksidan	Sebelum masa perlakuan (n=19)
Pola asupan isoflavon (mg)	46,05 ± 20,16
Pola asupan vitamin E (mg) Interpretasi pola asupan vitamin E	3,54 ± 1,30 Rendah
Pola asupan beta karoten (mg) Interpretasi pola asupan beta karoten	4,50 (0,80 -16,70) Rendah
Pola asupan vitamin C (mg) Interpretasi pola asupan vitamin C	136,83 ± 71,07 Cukup

#### 4.4.2. Asupan isoflavon, vitamin E, vitamin C dan beta karoten.

- Tabel 4.5 memperlihatkan bahwa rerata asupan harian isoflavon pada saat sebelum masa perlakuan meningkat setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan, yaitu dari  $46,36 \pm 19,94$  mg/hari menjadi masing-masing  $110,82 \pm 12,60$  dan  $111,87 \pm 11,72$  mg/hari.
- Rerata asupan harian vitamin E subyek penelitian sebelum dan pada masa perlakuan tergolong "kurang", walaupun setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan, terjadi sedikit peningkatan ( $2,22 \pm 1,43$  mg/hari menjadi  $3,64 \pm 0,97$  dan  $3,67 \pm 1,36$  mg/hari).
- Asupan harian beta karoten sebelum dan pada masa perlakuan kurang dari 12 mg/hari, sehingga termasuk kategori "rendah".
- Asupan harian vitamin C sebelum dan minggu kedelapan masa perlakuan tergolong "kurang," walaupun pada minggu keempat masa perlakuan, asupan subyek penelitian sempat tergolong "normal".

Tabel 4.5. Karakteristik asupan harian isoflavon, vitamin E, beta karoten dan vitamin C pada saat sebelum dan masa perlakuan

Jenis asupan	Masa perlakuan		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
<b>Isoflavon</b>			
Asupan Isoflavon (mg)	46,36 ± 19,94	110,82 ± 12,60	111,87 ± 11,72
<b>Vitamin E</b>			
Asupan vitamin E (mg)	1,8 (0,3 – 4,5)*	3,64 ± 0,97	3,67 ± 1,36
Interpretasi; n(%)			
Kurang	19 (100)	19 (100)	19 (100)
<b>Beta karoten</b>			
Asupan beta karoten (mg)	0,30 (0,10 – 3,4)	0,50 (0,10-3,5)	0,81 ± 0,53
Interpretasi(%)			
Rendah	19 (100)	19 (100)	19 (100)
<b>Vitamin C</b>			
Asupan vitamin C (mg)	48,93 ± 31,67	78,50 ± 43,32	68,28 ± 34,27
Interpretasi(%)			
Kurang	16 (84,2)	8 (42)	12 (63)
Cukup	3 (15,8)	11 (58)	7 (37)

\*Rerata ± SD: 2,22 ± 1,43 mg/hari

#### 4.5. Kadar kolesterol LDL dan malondialdehid

Tabel 4.6. memperlihatkan hasil pemeriksaan kolesterol LDL dan MDA serum pada saat sebelum, setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan.

##### 4.5.1. Kadar kolesterol LDL

Tabel 4.6 menunjukkan karakteristik kadar kolesterol LDL subyek penelitian sebelum setelah minggu keempat dan kedelapan masa perlakuan, di mana kadar kolesterol LDL subyek penelitian mengalami penurunan setelah masa perlakuan bila dibandingkan dengan kadarnya sebelum masa perlakuan.

Tabel 4.6. Kadar kolesterol dan MDA serum subyek penelitian pada saat sebelum dan pada masa perlakuan

Variabel	Masa Perlakuan		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
Kolesterol LDL (mg/dL)	134,32 ± 23,70	120,79 ± 21,30	122,68 ± 20,95
Kategori kolesterol LDL; n (%)			
Optimal	1 (5,30)	2 (10,50)	2 (10,50)
Di atas optimal	7 (36,80)	11 (57,9)	8 (42,10)
Batas tinggi	9 (47,40)	6 (31,60)	8 (42,10)
Tinggi	2 (10,50)	-	1 (5,30)
MDA serum (nmol/mL)	0,67 (0,18 -1,93) <sup>†</sup> 0,82 ± 0,47 <sup>**</sup>	0,98 ± 0,26	1,13 ± 0,40
Perubahan MDA serum <sup>†</sup> ; n (%)			
Menurun	-	7 (36,84)	6 (31,58)
Meningkat	-	12 (63,16)	13 (68,42)
Nilai p* MDA serum	-	TB	B
Perbedaan (nmol/mL)**	-	0,15 ± 0,47	0,31 ± 0,54
Persentase (%)**	-	27,41 (-51,30 - 461,11)	32,83 (-33,93-794,44)

<sup>†</sup> Perubahan MDA serum: Jumlah subyek yang mengalami perubahan kadar MDA sesudah perlakuan minggu IV dan VIII terhadap kadar MDA serum sebelum perlakuan.

<sup>†</sup> nilai median (min-maks); <sup>\*\*</sup> nilai mean ± SD

p\*: uji non parametrik *Wilcoxon*; TB: tidak bermakna bila  $p \geq 0,05$ ; B: bermakna bila  $p < 0,05$ ; uji statistik yang membandingkan kadar MDA serum sebelum perlakuan (0) dengan kadar MDA serum setelah perlakuan (minggu IV dan VIII).

p\*\*: perbedaan dan persentase perbedaan kadar MDA sebelum perlakuan (0) dengan setelah perlakuan (IV) dan (VIII)

#### 4.5.2. Kadar dan perubahan MDA

Kadar MDA serum subyek penelitian pada masa perlakuan umumnya menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan dengan sebelum masa perlakuan, walaupun pada beberapa subyek terjadi penurunan kadar MDA serum pada masa perlakuan. Setelah minggu keempat masa perlakuan tujuh orang subyek (36,84%, n=19) mengalami penurunan kadar MDA, sedangkan setelah minggu kedelapan masa perlakuan enam orang subyek mengalami penurunan kadar MDA (31,58%, n=19).

Nilai tengah dari % perbedaan peningkatan kadar MDA serum subyek setelah minggu keempat dan delapan masing-masing adalah 27,41% (-51,30 - 461,11%) dan 32,83% (-33,93 - 794,44%). Uji statistik non parametrik *Wilcoxon*

menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar MDA serum sebelum masa perlakuan dengan kadar MDA serum setelah empat minggu masa perlakuan, sedangkan perbedaan yang bermakna terlihat antara kadar MDA serum subyek penelitian sebelum perlakuan dengan kadar MDA serum subyek setelah delapan minggu masa perlakuan.

Jumlah subyek penelitian yang mengalami penurunan atau peningkatan kadar MDA akan dipisahkan berdasarkan status menopause, yaitu kelompok usia 45-49 tahun digolongkan sebagai premenopause dan kelompok usia 50-55 tahun digolongkan sebagai pasca menopause.<sup>3,25</sup> Penggolongan data yang lebih spesifik ini tidak termasuk dalam tujuan penelitian, namun penulis melihat hal yang menarik untuk dibicarakan dan dapat diteliti lebih lanjut, di mana penggolongan tersebut untuk melihat kecenderungan respon perempuan pre dan pasca menopause terhadap perubahan kadar MDA setelah pemberian susu bubuk kedelai. Tabel 4.7. menunjukkan sebaran jumlah subyek penelitian berdasarkan golongan pre dan pasca menopause dan perubahan kadar MDA setelah minggu IV.

Tabel 4.7. Sebaran jumlah subyek penelitian berdasarkan status estrogen dan perubahan kadar MDA setelah minggu IV perlakuan

Variabel	Setelah minggu IV masa perlakuan
Perubahan MDA serum <sup>†</sup> ; n	
Premenopause (n=8)	
Turun	4
Naik	4
Pasca menopause (n=11)	
Turun	3
Naik	8

Subyek yang mengalami penurunan kadar MDA setelah minggu IV masa perlakuan pada golongan premenopause adalah sebanyak empat dari delapan orang subyek, sedangkan pada golongan pasca menopause terdapat tiga dari 11 orang subyek.

Setelah minggu VIII perlakuan dilakukan penggolongan data berdasarkan status menopause khusus pada subyek yang mengalami peningkatan kadar MDA setelah minggu IV masa perlakuan. Tujuannya untuk melihat respon perubahan

kadar MDA setelah minggu VIII. Tabel 4.8. menunjukkan sebaran jumlah subyek penelitian berdasarkan golongan pre dan pasca menopause dan perubahan kadar MDA setelah minggu VIII, khusus untuk subyek yang mengalami peningkatan kadar MDA pada minggu ke IV masa perlakuan.

Tabel 4.8. Sebaran subyek, khusus pada kadar MDA yang meningkat pada minggu ke IV, berdasarkan status estrogen dan perubahan kadar MDA setelah minggu VIII

Variabel	Setelah minggu VIII masa perlakuan
Perubahan MDA serum <sup>†</sup> ; n	
Premenopause (n = 4)	
Turun	1
Tetap meningkat	3
Postmenopause (n = 8)	
Turun	3
Tetap meningkat	5

Khusus untuk subyek penelitian yang pada minggu IV kadar MDA-nya meningkat, maka setelah diberikan susu bubuk kedelai selama VIII minggu, terdapat satu dari empat perempuan premenopause yang mengalami penurunan kadar MDA dan terdapat tiga dari delapan perempuan pasca menopause yang mengalami penurunan kadar MDA.

## 5. PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental dengan rancangan studi *one-group pre-post test design* untuk mengetahui pengaruh pemberian susu bubuk kedelai 2x30 gram setiap hari selama delapan minggu, terhadap kadar malondialdehida pada perempuan perimenopause usia 45-55 tahun dengan hiperkolesterolemia.

Penelitian tentang pengaruh pemberian kedelai terhadap peroksidasi lipid yang diukur dengan menggunakan *biomarker* MDA telah banyak dilakukan, akan tetapi penelitian dengan menggunakan “susu bubuk kedelai” yang dikonsumsi oleh subyek perempuan perimenopause belum pernah dilakukan. Dalam hal “dosis”, asupan isoflavon sebesar 98 mg/hari, hampir sama dengan penelitian Steinberg dkk (2003) yang memberikan isoflavon 107 mg/hari dan kemudian terjadi penurunan peroksidasi lipid setelah masa perlakuan.<sup>13</sup> Sedangkan dalam hal “jangka waktu” penelitian selama delapan minggu perlakuan adalah sama dengan penelitian Hodgson dkk (1999).<sup>19</sup>

### 5.1. Keterbatasan penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Salah satu keterbatasan adalah rancangan penelitian ini, di mana rancangan uji klinik dengan studi *one group pre-post test design* tidak mempunyai kelompok kontrol sehingga faktor-faktor lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian tidak diketahui secara pasti. Kemungkinan ini telah diusahakan untuk diperkecil dengan menetapkan kriteria penelitian yang cukup ketat. Kelemahan lainnya adalah dalam hal jumlah subyek yang terbatas, walaupun mencapai jumlah minimal dari perhitungan sampel penelitian tetapi kemungkinan jumlah ini dapat memperkecil power ( $\beta$ ) pada penelitian ini yaitu kurang dari 90%.

Keterbatasan penelitian yang lain adalah metode pengambilan data asupan harian dan pola asupan zat gizi yang masing-masing menggunakan metode *food recall* 1 x 24 jam dan FFQ semikuantitatif yang sangat bergantung pada daya ingat dan persepsi subyek tentang porsi/jumlah bahan makanan yang dikonsumsi, akibatnya dapat terjadi *underestimated*, *overestimated*, atau *flat slope syndrome*.

*Flat slope syndrome* adalah individu dengan asupan nutrisi tertentu yang kurang dari anjuran cenderung untuk melaporkan asupan yang lebih banyak dari pada sebenarnya, sedangkan individu yang asupannya lebih cenderung melaporkan asupan yang kurang.<sup>85</sup> Untuk meningkatkan akurasi porsi/jumlah makanan yang dikonsumsi, maka pada metode *food recall* 1 x 24 jam dan FFQ semikuantitatif digunakan *food model*.

Zat aktif yang berperan sebagai antioksidan dalam bahan suplementasi adalah isoflavon kedelai, yang kandungannya tidak diperiksa sehingga tidak diketahui secara pasti kadarnya. Kandungan isoflavon dalam bahan suplementasi diperkirakan berdasarkan literatur ilmiah yang telah dipublikasikan. Untuk meningkatkan akurasi kadar isoflavon yang diberikan pada setiap subyek, maka pada pra-penelitian setiap subyek mendapat penyuluhan tentang cara penyimpanan yang baik dan aman serta cara mengkonsumsi bahan suplementasi, selain itu kepada subyek penelitian diberikan sendok takar yang sama. Bahan suplementasi dikirim dalam kemasan oleh produsen secara periodik agar bahan yang diberikan masih tetap baru dan jauh dari batas tanggal kadaluarsa serta disimpan ditempat yang aman dan terlindungi dari bahaya kerusakan. Sebelum diberikan kepada subyek penelitian, bahan suplementasi dalam kemasan juga diperiksa tanggal kadaluarsanya dan keamanan kemasan oleh peneliti untuk menjamin keamanan dan mencegah kerusakan bahan suplementasi. Untuk menilai kepatuhan, setiap subyek mengisi formulir kepatuhan yang harus dikembalikan setiap dua minggu sekali pada saat subyek datang mengambil bahan suplementasi yang baru dan mengembalikan kemasan bahan suplementasi yang lama. Kepatuhan subyek penelitian juga dimonitor dengan menelepon subyek dua kali seminggu.

Keterbatasan lainnya adalah dalam hal pemeriksaan laboratorium, yaitu tidak dipeliksanya kadar total antioksidan tubuh dan kadar isoflavon subyek penelitian pada saat sebelum dan selama masa perlakuan, oleh karena keterbatasan biaya penelitian. Kadar LDL teroksidasi tidak diperiksa karena tidak ditemukan laboratorium di Jakarta yang dapat mengerjakan pemeriksaan ini.



## 5.2. Karakteristik demografi subyek penelitian

Rerata usia subyek penelitian adalah  $49,15 \pm 2,98$  tahun dengan rentang usia antara 45-55 tahun dan sebanyak 57,9% terdapat pada kelompok usia 50-55 tahun. Sedangkan Block dkk (2001) melaporkan adanya hubungan usia dengan stres oksidatif. Pada pengukuran kadar MDA pada kelompok usia 19-42 dan 43-53 tahun, hasilnya menunjukkan bahwa kadar MDA kelompok usia 43-53 tahun lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya.<sup>69</sup> Hal ini mengindikasikan bahwa seiring dengan meningkatnya usia, kerentanan terhadap stres oksidatif semakin tinggi. Penyebab peningkatan peroksidasi lipid pada golongan usia yang semakin meningkat belum diketahui secara pasti, tetapi mungkin disebabkan oleh beberapa hal, yaitu menurunnya aktivitas antioksidan enzimatik seperti SOD dan GPx,<sup>81</sup> atau karena penurunan asupan antioksidan eksogen dari bahan makanan sumber.<sup>82</sup> Demikian juga usia berhubungan erat dengan status estrogen. Perimenopause ditandai dengan penurunan kadar estrogen. Pada kondisi ini subyek mempunyai kecenderungan akan terjadinya peningkatan deposit sel lemak tubuh yang berperan pada pelepasan sitokin secara berlebihan, sehingga tingkat stres oksidatif akan lebih tinggi.<sup>71</sup>

Status gizi subyek sebelum perlakuan umumnya tergolong "berisiko" dengan rerata IMT  $23,66 \pm 3,58 \text{ kg/m}^2$ , sedangkan rerata IMT selama masa perlakuan hampir sama dengan sebelum perlakuan. Block dkk (2002) menemukan adanya hubungan yang bermakna antara IMT di atas "normal" dengan peroksidasi lipid.<sup>69</sup>

Dari hasil pengamatan karakteristik demografi subyek penelitian sebelum masa perlakuan yang meliputi usia, status perimenopause dan IMT; maka kemungkinan subyek penelitian merupakan kelompok yang rentan terhadap stress oksidatif dan peroksidasi lipid.

## 5.3. Asupan harian kalori, lemak, kolesterol dan antioksidan serta pola asupan antioksidan.

Data asupan harian kalori, lemak, kolesterol dan antioksidan subyek penelitian diperoleh dari *food recall* 1 x 24 jam, sedangkan pola asupan antioksidan diperoleh dari FFQ semikuantitatif. Penilaian asupan antioksidan meliputi asupan

isoflavon dan asupan vitamin E dari bahan suplementasi dan konsumsi bahan makanan sehari-hari, sedangkan penilaian asupan beta karoten dan vitamin C hanya diperoleh dari konsumsi bahan makanan sehari-hari.

### 5.3.1. Asupan harian kalori, lemak dan kolesterol

Persentase rerata asupan kalori harian subyek penelitian terhadap KKT sebelum perlakuan tergolong "rendah" (61,36% KKT), tetapi penilaian asupan ini tidak cocok dengan IMT subyek yang tergolong "berisiko."

Ada beberapa alasan yang mungkin menjadi faktor penyebabnya di antaranya adalah latar belakang pendidikan subyek yang umumnya rendah, sehingga subyek tidak mengetahui pentingnya melaporkan setiap makanan yang dikonsumsi. Subyek juga mungkin tidak mengetahui jenis makanan yang berkalori tinggi atau rendah. Faktor lainnya adalah *flat slope syndrome* pada saat pengambilan data asupan atau subyek lupa akan bahan makanan yang dikonsumsi. Selain itu pengambilan data asupan makanan sebelum perlakuan dengan metode *food recall* 1 x 24 jam hanya dilakukan satu kali, sehingga kemungkinan tidak dapat mewakili variasi asupan harian, sedangkan pengambilan data asupan harian pada minggu keempat dan delapan masa perlakuan dilakukan dengan metode *repeated food recall* 1 x 24 jam yang dapat dianggap mewakili variasi asupan harian subyek.

Persentase rerata asupan kalori harian terhadap KKT setelah empat dan delapan minggu perlakuan tergolong "adekuat" (104,08% dan 104,46% KKT) dan hal ini sesuai dengan rerata IMT yang tidak mengalami perubahan drastis setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan, kemungkinan hal ini disebabkan oleh karena pengetahuan subyek penelitian tentang zat gizi dan manfaatnya semakin meningkat.

Rerata asupan lemak subyek penelitian pada saat sebelum perlakuan adalah 34,73 g/hari, yang tergolong "cukup" (20,69% KKT). Pada minggu keempat dan delapan masa perlakuan, asupan lemak subyek penelitian ini masing-masing menjadi: 30,50 g/hari (18,15% KKT) yang tergolong "kurang" dan 35,75 g/hari (21,67% KKT) yang tergolong "cukup". Reddy dkk (1997) menyimpulkan bahwa asupan kalori dan lemak total mempunyai korelasi positif dengan

konsentrasi peroksidasi lipid.<sup>70</sup> Dengan semakin meningkatnya asupan kalori dan lemak maka terjadi peningkatan laju metabolisme yang berefek pada peningkatan pelepasan senyawa ROS.<sup>4</sup> Berdasarkan hubungan tersebut maka asupan lemak harian subyek penelitian yang tergolong "cukup" atau dalam batas aman ini dapat diasumsikan tidak menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid.

Rerata asupan harian kolesterol subyek penelitian pada saat sebelum dan masa perlakuan berdasarkan anjuran NCEP-ATP III tergolong "cukup", jumlah asupan kolesterol ini hampir sama dengan penelitian Steinberg dkk (2003), yang juga melakukan penelitian pada perempuan perimenopause berusia 54,9 tahun. Dalam penelitian Steinberg dkk (2003) diberikan 107 mg isoflavon/25 g kedelai/hari selama enam minggu, dan disimpulkan bahwa isoflavon kedelai dapat menurunkan tingkat peroksidasi lipid.<sup>73</sup>

### **5.3.2. Pola asupan dan asupan harian antioksidan.**

Pola asupan dan asupan harian antioksidan meliputi pola asupan dan asupan harian isoflavon, vitamin E, beta karoten dan vitamin C.

#### **a. Pola asupan dan asupan harian isoflavon sebelum dan selama masa perlakuan**

Pola asupan isoflavon tiga bulan terakhir subyek penelitian yaitu  $46,05 \pm 20,16$  mg/hari, hampir sama dengan rerata asupan harian isoflavon pada saat sebelum perlakuan, yaitu  $46,36 \pm 19,94$  mg/hari. Studi epidemiologi yang dipublikasikan oleh Gultekin dan Yildiz pada tahun 2003 menunjukkan bahwa penduduk Jepang yang mempunyai angka kejadian PJK tergolong "rendah", mempunyai kebiasaan mengkonsumsi isoflavon kedelai 25-100 mg/hari, sedangkan penduduk Inggris yang mempunyai angka kejadian PJK tergolong "tinggi" hanya mengkonsumsi isoflavon kedelai 1 mg/hari.<sup>33</sup> Berdasarkan penelitian epidemiologi tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa asupan isoflavon subyek penelitian ini pada saat sebelum masa perlakuan tergolong "cukup," yaitu masih dalam rentang asupan harian isoflavon masyarakat Jepang yang mewakili masyarakat Asia.

Asupan isoflavon subyek penelitian pada masa perlakuan meningkat, yang digambarkan melalui data asupan harian. Data asupan isoflavon ini diperoleh dari

penilaian asupan makanan harian dan bahan suplementasi dengan memperhitungkan tingkat kepatuhan subyek penelitian setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan, yaitu masing-masing sebesar  $110,82 \pm 12,60$  dan  $111,87 \pm 11,72$  mg/hari. Peningkatan asupan harian ini sedikit di atas rentang asupan harian penduduk Jepang, yaitu 25-100 mg/hari.<sup>33</sup> Asupan harian isoflavon pada minggu keempat dan delapan masa perlakuan hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Steinberg dkk (2003) yang memberikan isoflavon kedelai sebanyak 107 mg/hari dan berhasil menurunkan tingkat peroksidasi lipid.

**b. Pola asupan dan asupan harian vitamin E, beta karoten dan vitamin C sebelum dan selama masa perlakuan**

Asupan antioksidan yang meliputi asupan vitamin E, beta karoten dan vitamin C secara umum tergolong "rendah," hasil ini berbeda dengan hasil dari penelitian Steinberg dkk (2003) yang melakukan studi tentang efek pemberian isoflavon kedelai terhadap peroksidasi lipid dan juga menilai asupan antioksidan vitamin E, beta karoten dan vitamin C pada subyeknya. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa rerata asupan antioksidan subyek penelitiannya adalah di atas angka rekomendasi dan berhasil menurunkan peroksidasi lipid. Sedangkan rendahnya asupan antioksidan pada subyek penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh latar belakang tingkat pendidikan subyek yang rendah sehingga mempengaruhi pemilihan jenis bahan makanan sumber antioksidan dan pengolahannya, selain itu subyek cenderung mengkonsumsi buah dan sayuran yang merupakan bahan makanan sumber antioksidan dalam jumlah yang sedikit. Penelitian yang dilakukan oleh Thompson dkk (1999) pada 28 perempuan dengan rerata usia 49,8 tahun membuktikan bahwa dengan mengkonsumsi 462 g buah/hari dan 514 g sayur/hari dapat menurunkan stres oksidatif. Dibandingkan dengan subyek penelitian Thompson, subyek dalam penelitian ini hanya mengkonsumsi buah 250,21g/hari dan sayur 191,21 g/hari.<sup>82</sup>

Asupan vitamin E subyek penelitian tergolong "rendah", baik sebelum dan selama masa perlakuan. Dalam penelitian ini tidak diberikan suplemen vitamin E sehingga data asupan vitamin E hanya didapat dari analisis asupan makanan sehari-hari dan asupan dari bahan perlakuan dengan memperhitungkan tingkat

kepatuhan subyek. Walaupun asupan kedelai meningkat pada masa perlakuan, namun total asupan vitamin E subyek tetap rendah. Minyak nabati dari gandum, biji bunga matahari, kanola, jagung dan zaitun merupakan bahan makanan sumber vitamin E yang baik, namun harganya mahal dan sulit didapat, sehingga jarang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Subyek penelitian menggunakan minyak kelapa sawit untuk memasak, sedangkan kandungan vitamin E dalam minyak kelapa sawit sangat rendah. Kacang-kacangan dan biji-bijian sebagai bahan makanan sumber vitamin E dikonsumsi dalam jumlah sedikit dan jarang, kecuali kedelai.

Asupan beta karoten subyek penelitian sebelum dan selama masa perlakuan tergolong "rendah." Bahan makanan sumber beta karoten yang dikonsumsi subyek penelitian pada umumnya merupakan buah-buahan segar dan sayuran. Buah yang dikonsumsi subyek adalah pepaya, pisang, melon, jeruk, apel, mangga dan nanas. Buah-buahan tersebut bukanlah sumber beta karoten yang baik kecuali pepaya, jeruk dan mangga.<sup>77</sup> Beta karoten pada buah mempunyai bioavailabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan sumber nabati yang lain, karena beta karoten pada buah terdapat dalam globul kromoplas yang mengandung sedikit ikatan protein, sehingga mudah terlepas saat dicerna.<sup>78</sup>

Jenis sayuran yang dikonsumsi di antaranya adalah kangkung, buncis, wortel, tomat, sawi dan daun singkong, yang merupakan bahan makanan sumber beta karoten yang cukup baik, tetapi sayuran ini umumnya diolah dengan cara direbus atau ditumis. Bioavailabilitas beta karoten sayuran akan lebih tinggi bila bahan makanan tersebut dikonsumsi setelah diolah dengan cara pemanasan ringan.<sup>79</sup>

Pola asupan vitamin C subyek penelitian ini, tergolong "cukup", tetapi dari penilaian asupan harian, pada umumnya tergolong "kurang." Hal ini disebabkan oleh variasi asupan setiap harinya, sedangkan pola asupan merupakan gambaran asupan pada umumnya selama tiga bulan terakhir. Asupan vitamin C yang dianjurkan untuk memenuhi kebutuhan vitamin C dalam makanan sehari-hari adalah dengan cara mengkonsumsi buah dan sayuran segar dalam lima kali penyajian,<sup>80</sup> sedangkan pada penelitian ini sayuran dikonsumsi setelah diolah

dengan cara direbus atau ditumis, selain itu frekuensi penyajian buah dan sayuran tersebut hanya berkisar 1-3 kali/hari dan jumlah asupan juga sedikit.

Vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang dapat melindungi antioksidan endogen pada kolesterol LDL. Antioksidan endogen pada kolesterol LDL terdiri dari beta karoten dan  $\gamma$ -tokoferol, yang akan melindungi partikel kolesterol LDL dari peroksidasi lipid, sedangkan vitamin C akan lebih meningkatkan resistensi kolesterol LDL tersebut.<sup>64</sup> Pemberian vitamin E baik dari suplementasi maupun melalui asupan bahan makanan tertentu dapat mengurangi peroksidasi lipid, karena sifat vitamin E yang larut lemak, maka aktifitas antioksidannya pada lipid dan kolesterol LDL lebih baik.<sup>64</sup>

Secara umum hasil penelitian ini menunjukkan asupan antioksidan vitamin E, beta karoten dan vitamin C masih tergolong kurang sehingga mungkin belum cukup untuk mengurangi peroksidasi lipid dan nampaknya tingginya asupan isoflavon saja tidak cukup untuk mengurangi peroksidasi lipid dan stres oksidatif, hal ini sesuai dengan pernyataan Halliwell dan Gutteridge (2007) yang menyatakan bahwa asupan antioksidan tunggal dosis tinggi tidak cukup mengurangi stres oksidatif.<sup>4</sup>

#### **5.4. Kadar kolesterol LDL dan MDA serum**

##### **5.4.1. Kadar kolesterol LDL**

Kadar kolesterol LDL subyek penelitian selama masa perlakuan menurun bila dibandingkan dengan kadar kolesterol LDL subyek sebelum perlakuan, tetapi rerata kadar tersebut masih di atas batas optimal yang dianjurkan oleh NCEP ATP III dan PERKENI, yaitu  $>100\text{mg/dL}$ . Penelitian ini tidak dapat menentukan apa penyebab penurunan kadar kolesterol LDL karena tidak mempunyai kelompok kontrol, tetapi mungkin saja penurunan kadar kolesterol LDL ini disebabkan oleh perlakuan yaitu pemberian bubuk kedelai.

Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian Jenkins dkk (2002) yang memberikan 73 mg isoflavon/50g kedelai/hari kepada 18 perempuan pasca menopause yang berusia 60-64 tahun selama empat minggu. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa penurunan kadar kolesterol LDL terjadi secara bermakna. Jenkins juga menilai efek pemberian isoflavon kedelai terhadap

peroksidasi kolesterol LDL dengan mengukur LDL *conjugated dienes*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kadar LDL *conjugated dienes* menurun walaupun tidak bermakna.<sup>54</sup>

#### 5.4.2. Kadar MDA serum

Kadar MDA serum subyek penelitian selama masa perlakuan pada umumnya lebih tinggi bila dibandingkan dengan sebelum masa perlakuan. Rerata persentase peningkatan kadar MDA setelah empat dan delapan minggu perlakuan, masing-masing 27,41% dengan rentang -51,30 – 461,11% dan 32,83% dengan rentang -33,93 - 794,44%. Walaupun beberapa subyek mengalami penurunan kadar MDA serum, namun secara keseluruhan kadar MDA serum subyek meningkat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Vega Lopez dkk (2005) pada perempuan pasca menopause, di mana kadar MDA subyek penelitiannya meningkat 10% setelah perlakuan.<sup>18</sup> Penelitian Wisemann dkk (2000) pada perempuan usia 30 tahun juga membuktikan hal yang sama, terjadi peningkatan kadar MDA sekitar 6% setelah perlakuan.

Vega Lopez dkk (2005) menduga peningkatan kadar MDA terjadi oleh karena faktor usia, kadar isoflavon plasma yang rendah dan kadar kolesterol yang tinggi. Wisemann dkk (2000) mengemukakan alasan bahwa pemeriksaan MDA sebagai *biomarker* pada penelitiannya tidak tepat karena Wisemann berpendapat pemeriksaan MDA lebih cocok pada studi klinis seperti hiperlipidemia, sedangkan pada penelitian ini peningkatan kadar MDA setelah masa perlakuan diduga disebabkan oleh beberapa faktor yaitu *biomarker*, karakteristik isoflavon dan kemungkinan karena faktor bahan perlakuan

#### Faktor *biomarker* MDA

MDA adalah molekul dialdehida yang sangat reaktif, terbentuk pada saat peroksidasi lipid berlangsung dan cenderung tidak stabil.<sup>87</sup> Kadar MDA diukur dengan menggunakan *thiobarbituric acid assay* (TBAR).<sup>7</sup> Menurut Morrow dkk (1995) MDA merupakan parameter peroksidasi lipid yang kurang sensitif karena selain MDA, karbohidrat, asam amino, aldehida dan peroksida juga dapat terukur oleh uji TBAR, sehingga mempertinggi pengukuran kadar MDA.<sup>88,93</sup>

Kemungkinan lain adalah adanya variasi kadar MDA berkaitan dengan irama sirkadian, tetapi hal ini telah diantisipasi dengan cara melakukan pengambilan sampel pada jam yang sama, baik pada saat sebelum masa perlakuan maupun pada minggu keempat dan delapan masa perlakuan.

#### **Faktor karakteristik isoflavon**

Pada penelitian ini asupan isoflavon selama masa perlakuan dianggap dapat mengurangi tingkat peroksidasi lipid pada subyek penelitian, namun hasil pemeriksaan kadar MDA serum menunjukkan adanya peningkatan selama masa perlakuan, yang diduga telah terjadi peningkatan peroksidasi lipid. Beberapa alasan yang mendasari terjadinya peningkatan kadar MDA ini adalah terjadinya penurunan bioavailabilitas isoflavon akibat penurunan jumlah flora normal usus yang sering terjadi pada subyek usia pertengahan. Telah diketahui bahwa isoflavon yang terdapat dalam bahan makanan adalah isoflavon glikon yaitu dalam bentuk konjugasi, yang tidak dapat diserap. Flora normal usus akan membantu mengubah isoflavon glikon, menjadi isoflavon aglikon yang lebih mudah diserap. Peran flora normal usus sangat penting untuk meningkatkan bioavailabilitas isoflavon kedelai.<sup>47</sup>

Faktor kedua adalah faktor yang berhubungan dengan waktu paruh isoflavon di dalam sirkulasi darah. Isoflavon mempunyai waktu paruh 6-8 jam,<sup>16</sup> sehingga untuk mempertahankan agar kadarnya di dalam darah tetap tinggi maka asupan isoflavon sebaiknya diberikan 3-4 kali sehari. Pada penelitian ini asupan tersebut diberikan hanya dua kali sehari; kemungkinan frekuensi pemberian ini perlu ditingkatkan agar didapat hasil yang optimal, seperti yang dikemukakan oleh Cassidy dan Pascual-Teresa (2005).<sup>94</sup>

Dalam sebuah tulisannya Halliwell (2006) mengatakan bahwa isoflavon dapat diserap oleh saluran cerna, tetapi kadarnya dalam bentuk isoflavon aktif sebagai antioksidan yaitu *unconjugated* di dalam plasma sangat kecil, tidak lebih dari 1  $\mu\text{mol/L}$ . Sedangkan untuk mencapai kadar 1  $\mu\text{mol/L}$  tidak bergantung dari dosis isoflavon yang dikonsumsi. Hal ini disebabkan karena di dalam lumen saluran cerna terdapat banyak sekali radikal bebas dan pro-oksidan, yang terbentuk sebagai akibat dari metabolisme normal enterosit atau masuk bersama



makanan dan minuman yang dikonsumsi, maupun dari reaksi kimia antara enterosit dengan senyawa atau zat yang terkandung dalam makanan atau minuman.<sup>84</sup> Pada saat isoflavon diubah menjadi bentuk aglikon yang mempunyai sifat sebagai antioksidan, maka isoflavon langsung "terpakai" untuk menyeimbangkan radikal bebas dan pro-oksidan dalam lumen saluran cerna.<sup>84</sup> Penelitian pada hewan maupun *in vitro* yang telah berhasil membuktikan manfaat antioksidan isoflavon kedelai, menggunakan konsentrasi isoflavon dalam jumlah besar, jauh di atas 1  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>91</sup> Pada penelitian ini kadar isoflavon plasma sebelum dan setelah masa perlakuan tidak diperiksa, namun ada kemungkinan dengan dosis asupan isoflavon sebanyak 110 mg/hari tidak dapat mencapai kadar 1  $\mu\text{mol/L}$  karena sudah "terpakai" di dalam lumen saluran cerna.

#### **Faktor bahan suplementasi**

Pada penelitian ini diharapkan dapat dilihat efek antioksidan isoflavon, namun salah satu kelemahan dalam penelitian ini adalah tidak diperiksanya kadar isoflavon dalam bubuk kedelai, sehingga kemungkinan untuk terjadinya kerusakan isoflavon dalam bahan suplementasi dapat saja terjadi. Walaupun demikian kemungkinan ini dapat disingkirkan karena berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Coward dkk (1998) menunjukkan bahwa isoflavon dalam kedelai dan olahannya (bubuk, susu, fermentasi dll) akan rusak apabila diproses dengan *deep fried* atau dipanggang langsung di atas api.<sup>89</sup> Proses pengolahan lain seperti fermentasi, dihaluskan, digiling, dioven, dan direbus hanya akan mengubah komposisi bentuk isoflavon dari bentuk glikon menjadi aglikon. Jadi kemungkinan berkurangnya total isoflavon dalam bahan suplementasi yang diberikan kepada subyek sangat kecil.

Faktor lain yang mungkin menyebabkan peningkatan kadar MDA subyek setelah masa perlakuan adalah adanya zat tertentu yang dapat bersifat sebagai radikal bebas atau pro-oksidan yang terdapat di dalam bahan suplementasi sehingga dapat mempengaruhi keseimbangan antioksidan-radikal bebas. Mungkin zat yang terkandung dalam bahan perlakuan jumlahnya sedikit tetapi mempunyai efek akumulasi, yang terlihat dari pola peningkatan rerata kadar MDA setelah

minggu keempat dan delapan yang masing adalah  $0,98 \pm 0,26$  nmol/ml ( $p = 0,16$ ) dan  $1,13 \pm 0,40$  nmol/ml ( $p = 0,023$ ).

Kemungkinan zat tersebut adalah siklamat, yang terdapat di dalam bahan suplementasi sebanyak 1 g/kg bubuk kedelai (lihat Lampiran 7). Apabila subyek mengkonsumsi 60 gram/hari susu bubuk kedelai, maka siklamat yang terikut masuk ke dalam saluran pencernaan adalah 0,6 mg/hari. Siklamat umumnya digunakan sebagai pemanis pengganti gula, karena pertama harganya yang lebih murah dan secara industrial lebih menguntungkan dari pada penggunaan gula alamiah, kedua; tidak mengandung kalori, sehingga sering disebut sebagai "gula diet" bagi mereka yang menderita penyakit tertentu dan harus mengatur asupan kalori, penggunaan siklamat dianggap "baik" bagi kesehatan.<sup>95</sup> Siklamat tidak diserap oleh tubuh, tetapi di dalam lumen usus siklamat diubah oleh flora usus menjadi sikloheksilamin yang dapat diserap oleh tubuh dan mempunyai sifat toksik. Pada hewan percobaan terlihat efek akumulasi yang bersifat karsinogenik<sup>95</sup>

#### **Perubahan kadar MDA berdasarkan status pre dan pasca menopause**

Pada pembahasan ini sedikit dibicarakan mengenai efek pemberian susu bubuk kedelai terhadap kadar MDA pada subyek penelitian yang dibagi menjadi golongan premenopause dan pasca menopause. Walaupun tidak termasuk dalam tujuan penelitian ini, penulis melihat ada hal yang menarik untuk kemudian mungkin dapat diteliti lebih lanjut.

Penurunan kadar MDA pada golongan premenopause setelah minggu IV masa perlakuan adalah sebanyak empat dari delapan orang subyek atau setengah dari kelompok ini. Sedangkan setelah minggu VIII masa perlakuan penurunan kadar MDA hanya terjadi pada seorang subyek dari subyek yang kadar MDA-nya tidak menurun pada minggu IV. Kemungkinan yang terjadi adalah pada golongan premenopause efek antioksidan hormon estrogen masih dominan, walaupun kadarnya mulai menurun. Pemberian bahan suplementasi yang mengandung isoflavin selama empat minggu diduga memberikan efek antioksidan secara sinergis.<sup>32</sup> Pada keadaan ini diduga isoflavin bertindak sebagai antioksidan secara langsung oleh karena mempunyai gugus hidroksil yang mendonorkan elektron kepada radikal bebas.<sup>19,86</sup>

Hal yang menarik dari hasil penelitian ini adalah terlihatnya kemungkinan dan pola yang berbeda pada golongan pasca menopause. Setelah empat minggu perlakuan terdapat sebanyak tiga dari 11 subyek pada kelompok ini yang mengalami penurunan kadar MDA, setelah delapan minggu perlakuan tiga dari delapan subyek golongan ini yang mengalami penurunan kadar MDA. Kemungkinan yang terjadi adalah pada golongan ini kadar estrogen sudah menurun, sehingga efek antioksidan estrogen sudah sangat berkurang. Pemberian bahan suplementasi yang mengandung isoflavon pada subyek pasca menopause diduga akan bekerja sebagai estrogen lemah yang menempati reseptor estrogen.<sup>32</sup> Berbeda dengan golongan premenopause, pada golongan pasca menopause isoflavon bekerja secara tidak langsung yaitu setelah berikatan dengan reseptor estrogen, ia akan mempengaruhi ekspresi gen yang mensintesis antioksidan enzimatis seperti SOD dan GPx, serta enzim *nitric oxide syntase* yang memproduksi NO,<sup>36,96</sup> efek ini semakin meningkat setelah minggu VIII perlakuan.

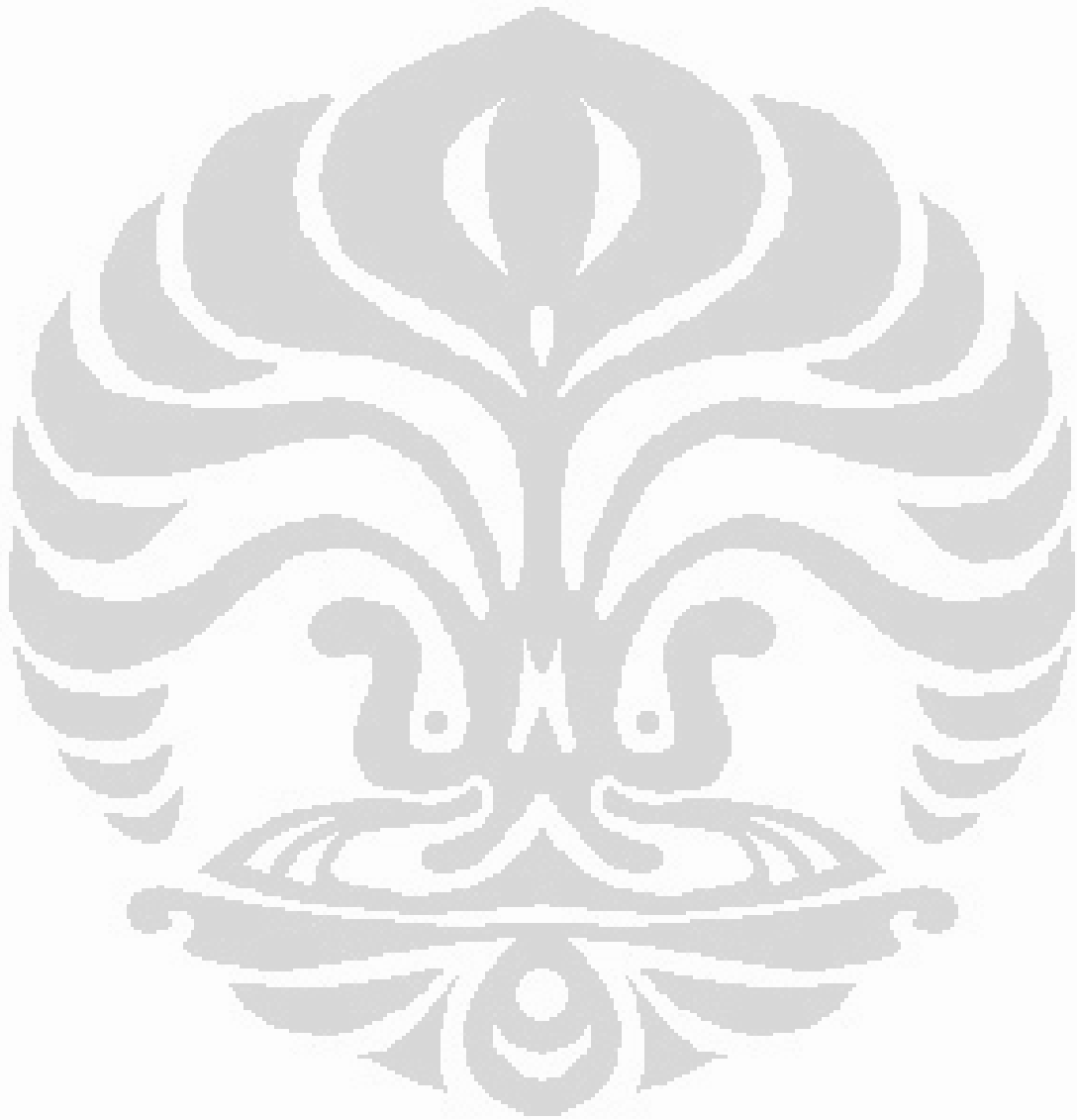
Walupun demikian, untuk memastikan kemungkinan-kemungkinan di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada kedua kelompok tersebut dengan metode penelitian dan *biomarker* yang lebih baik.

#### **Kadar kolesterol dan MDA serum**

Halliwell (2000) menyatakan bahwa pemeriksaan kadar MDA menunjukkan adanya peroksidasi lipid pada membran sel yang terjadi pada seluruh tubuh.<sup>93</sup> Jadi sebenarnya kadar MDA serum tidak menggambarkan secara spesifik terjadinya peroksidasi kolesterol LDL<sup>93</sup> Dengan demikian peningkatan kadar kolesterol LDL tidak selalu harus disertai peningkatan kadar MDA.

Pengukuran peroksidasi kolesterol LDL akan lebih akurat bila menggunakan metode kolesterol LDL *conjugated dienes* yaitu dengan cara mengisolasi kolesterol LDL. Kelemahannya adalah kemungkinan terjadi oksidasi pada kolesterol LDL yang sehat saat melakukan isolasi kolesterol LDL, sehingga dapat terjadi bias (*systematic error*).<sup>7</sup> Selain itu belum ada laboratorium di Jakarta yang dapat melakukan pemeriksaan ini. Pengukuran lain adalah dengan mengukur LDL teroksidasi, pada penelitian ini hal ini sudah dipikirkan tetapi laboratorium yang bisa melakukannya menggunakan metode pengukuran tidak langsung yaitu

dengan menggunakan rumus dan biayanya juga sangat mahal, sehingga dianggap kurang efektif



## 6. RINGKASAN, SIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Ringkasan

Penelitian uji klinik dengan *one-group pre-post test design* ini, bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian susu bubuk kedelai terhadap peroksidasi lipid yang dinilai dengan mengukur kadar malondialdehida sebagai *biomarker* peroksidasi lipid. Subyek penelitian adalah perempuan perimenopause dengan hiperkolesterolemia yang telah memenuhi kriteria penelitian. Subyek penelitian yang mengikuti masa perlakuan hingga selesai sebanyak 19 orang, yang pada umumnya berlatar belakang pendidikan rendah, dengan rerata usia 49,15 tahun dan memiliki rerata IMT  $23,66 \text{ kg/m}^2$  yang tergolong “berisiko.”

Rerata asupan harian kalori subyek penelitian sebelum perlakuan adalah  $920,38 \pm 299,73$  kkal yang tergolong “kurang” menurut persentase terhadap KKT. Setelah minggu keempat dan delapan masa perlakuan, asupan harian kalori masing-masing menjadi  $1562,44 \pm 273,54$  kkal dan  $1558,74 \pm 315,54$  kkal yang tergolong “cukup” menurut persentase terhadap KKT. Sedangkan untuk asupan harian lemak dan kolesterol, umumnya masih tergolong “cukup” berdasarkan anjuran PERKENI (2005)

Pola asupan dan asupan harian isoflavon subyek penelitian sebelum perlakuan hampir sama masing-masing adalah  $46,05 \pm 20,16$  dan  $46,36 \pm 19,94$  mg/hari dan kemudian meningkat selama masa perlakuan menjadi  $110,82 \pm 12,60$  dan  $111,87 \pm 11,72$  mg/hari. Sedangkan pola asupan dan asupan harian vitamin E, beta karoten dan vitamin C subyek penelitian sebelum dan selama masa perlakuan pada umumnya tergolong “kurang” menurut angka kecukupan.

Rerata kadar kolesterol LDL subyek penelitian sebelum masa perlakuan adalah  $134,32 \pm 23,70$  mg/dl, yang kemudian menurun setelah empat dan delapan minggu perlakuan yaitu masing-masing menjadi  $120,79 \pm 21,30$  dan  $122,68 \pm 20,95$  mg/dL, tetapi kadar tersebut masih tergolong “batas tinggi” menurut PERKENI dan NCEP-ATP III.

Rerata kadar MDA serum subyek penelitian sebelum masa perlakuan adalah  $0,82 \pm 0,47$  nmol/ml. Setelah empat dan delapan minggu masa perlakuan kadar MDA serum meningkat, yaitu masing-masing sebesar  $0,98 \pm 0,26$  nmol/ml

( $p = 0,16$ ) dan  $1,13 \pm 0,40$  nmol/ml ( $p = 0,023$ ). Beberapa faktor yang mungkin menjadi penyebab peningkatan tersebut adalah faktor subyek, *biomarker* MDA, bioavailabilitas dan karakteristik isoflavon serta asupan antioksidan.

Penggolongan berdasarkan status menopause menunjukkan bahwa golongan pre menopause yang mengalami penurunan kadar MDA setelah empat minggu perlakuan adalah empat dari delapan subyek premenopause dan pada golongan pasca menopause terdapat tiga dari 11 subyek. Khusus untuk kadar MDA yang meningkat setelah minggu IV, maka setelah pemberian bahan suplementasi selama delapan minggu menunjukkan bahwa golongan pre menopause yang mengalami penurunan kadar MDA adalah satu dari empat orang subyek dan golongan pasca menopause sebanyak tiga dari delapan orang subyek.

## 6.2. Simpulan

Setelah pemberian susu bubuk kedelai sebanyak  $2 \times 30$  g/hari selama delapan minggu kepada perempuan perimenopause dengan hiperkolesterolemia maka diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Kadar kolesterol subyek penelitian sesudah perlakuan menurun tetapi masih tetap di atas batas kadar kolesterol yang dianjurkan oleh PERKENI dan NCEP-ATP III.
2. Rerata kadar MDA mengalami peningkatan setelah masa perlakuan, walaupun demikian terdapat tujuh dari sembilan belas subyek mengalami penurunan kadar MDA. Penurunan kadar MDA nampaknya lebih terlihat pada golongan pre menopause setelah empat minggu masa perlakuan, tetapi setelah delapan minggu masa perlakuan penurunan tersebut lebih terlihat pada golongan pasca menopause, mungkin hal ini berhubungan dengan kadar estrogen.

Dengan demikian pemberian susu bubuk kedelai sebanyak  $2 \times 30$  g/hari selama delapan minggu kepada perempuan perimenopause dengan hiperkolesterolemia secara umum tidak menunjukkan adanya penurunan kadar MDA yang signifikan, namun yang menarik dan perlu diteliti lebih lanjut adalah bila dilakukan penggolongan berdasarkan status pre dan pasca menopause, maka efek penurunan kadar MDA mungkin dapat terlihat yang diduga berhubungan dengan kadar estrogen dan mekanisme kerja isoflavon dalam bahan perlakuan.

### 6.3. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan metode penelitian yang lebih baik, dalam hal rancangan penelitian, jumlah subyek, pemeriksaan laboratorium, dan penggunaan *biomarker* yang lebih spesifik, serta penelitian dengan subyek yang berbeda status menopause, yaitu golongan pre dan pasca menopause.
2. Subyek penelitian dapat mengkonsumsi kedelai untuk mendapatkan manfaat sebagai hipokolesterolemik dengan memperhatikan asupan kalori, lemak dan kolesterol, sesuai anjuran PERKENI dan NCEP-ATP III dan menjalankan pola hidup sehat.
3. Pengolahan dan produksi kedelai sebagai pangan fungsional secara besar-besaran dalam skala industri, harus memperhatikan efek penggunaan bahan tambahan makanan (BTM) yang berfungsi untuk meningkatkan kualitas produknya terhadap kesehatan konsumen.
4. Khusus untuk pemakaian siklamat dalam bahan makanan, terutama dalam pangan fungsional yang umumnya dikonsumsi setiap hari dalam jangka waktu yang lama perlu dikaji lebih mendalam, karena kemungkinan efek toksik-akumulasi, interaksi BTM dengan zat gizi juga perlu menjadi fokus kajian lebih lanjut.
5. Masyarakat yang ingin mendapat manfaat kedelai sebagai pangan/minuman fungsional sebaiknya membuat sendiri minuman ini sendiri dengan memperhatikan kebersihannya.

## SUMMARY, CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS

### A. Summary

The aim of this study with one-group pre-post test design is to investigate the effect of soy powder-milk supplementation toward lipid peroxidation which is measured by the level of malondialdehyde as a biomarker. The subjects were hypercholesterolemia perimenopause women who fulfilled the criteria of the study. There were nineteen subjects who completed the supplementation period, whose had commonly low educational background and mean of age were 49,15 years and classified as "risk" subjects because the mean of BMI of 23,66 kg/m<sup>2</sup>.

The mean of daily calorie intake of subjects before the supplementation was 920,38 ± 299,73 kcal which is classified as "low" % of KKT. After the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week of supplementation period, mean daily calorie intake were 1562,44 ± 273,54 kcal and 1558,74 ± 315,54 kcal which is classified as "sufficient."

The intake pattern and the daily intake of isoflavone of subjects before supplementation were similar, which were 46,15 ± 20,16 and 46,36 ± 19,94 mg/day. After treatment were increased to be 110,82 ± 12,60 and 111,87 ± 11,72 mg/day. Furthermore, intake pattern and the daily intake of vitamin E, beta carotene and vitamin C of subjects before, during and after supplementation were mostly recorded as "low".

Mean subjects' LDL level before supplementation period was 134,32 ± 23,70 mg/dL, which then decreased after four and eight weeks of supplementation at 120,79 ± 21,30 and 122,68 ± 20,95 mg/dL, however these values were still above the limit according to PERKENI and NCEP-ATP III.

The mean level of MDA serum of subjects before the supplementation period was 0,82 ± 0,47 nmol/mL. After four and eight week of supplementation period level of MDA serum had increased, which were 0,98 ± 0,26 nmol/mL (p = 0,16) and 1,13 ± 0,40 nmol/mL (p = 0,023). Several factors that might cause this increase were the subjects' age, menopausal status and BMI, MDA biomarker, bioavailability and isoflavone characteristics and antioxidant intake.

Grouped data of menopausal status shown that after four weeks supplementation the MDA level decreased mainly in pre menopausal subjects, but



after eight weeks of supplementation the post menopause subject shown the mainly reduced, with not significant. Seems that the estrogen play the important rules of antioxidant effect for menopausal status.

## 6.2 Conclusion

After supplementation of soy powder-milk 2x30 g/day for eight weeks in perimenopausal women with hypercholesterolemia, the conclusions are:

1. The mean level of LDL cholesterol of subjects was at "borderline high". After the supplementation period the average level of LDL cholesterol had decrease however it was still exceed the optimum level according to PERKENI and NCEP-ATP III.
2. The subjects mean level of MDA serum increased after supplementation period. The MDA level seems more reduce in pre menopause subjects than post menopause in four weeks of supplementation, but after eithg weeks the post menopause subjects shown diminish more than the other group.

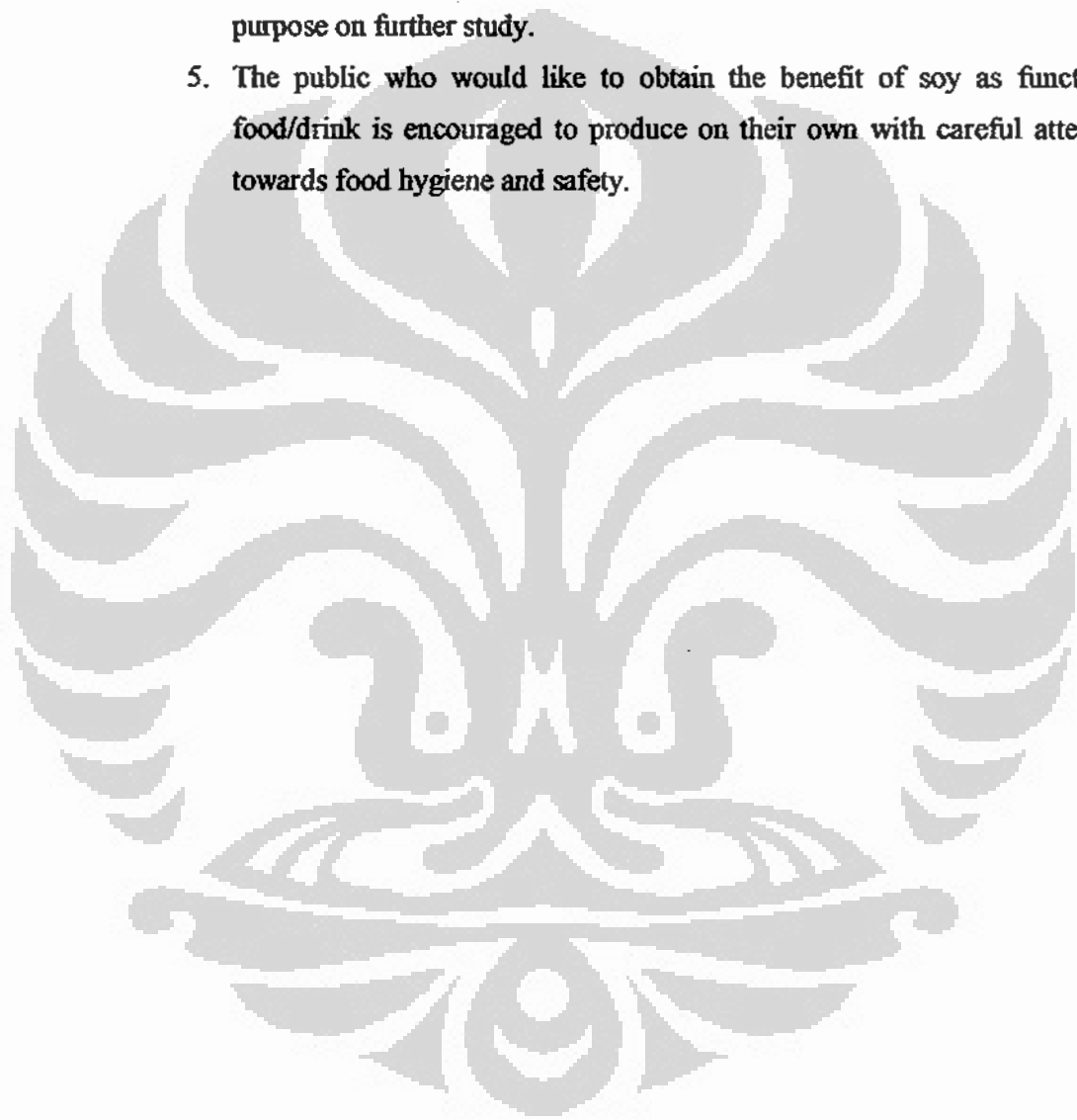
The supplementation of soy powder-milk 2x30 g/day for eight weeks in perimenopausal women with hypercholesterolemia as commonly did not show reduce the malondialdehyde level significantly, but the interested thing was the decreased of MDA level more shown in the pre and post menopausal groups, which possibly related to estrogen level and mechanism of action of isoflavone in supplement.

## 6.3 Recommendation

1. It is necessary to conduct similar study with a more comprehensive study design, number of subjects, laboratory examination and a more specific use of biomarker and used the group of subjects with pre and post menopause status.
2. Subjects of this study could exercise a healthy lifestyle and consume soy bean to get its benefit as hypocholesterolemic agent. Calorie, fat and cholesterol intake must also consider.
3. Production and processing of soybean as functional food on industrial scale needs to pay attention on effect of additional food ingredients which

supposed to increase the product quality to help improve consumers' health.

4. In regards to the use of cyclamate on food, especially on functional food which is commonly consumed daily for a long period needs to be examined further. The possibility of accumulation, interaction of additional food ingredients with nutrition substance should be the main purpose on further study.
5. The public who would like to obtain the benefit of soy as functional food/drink is encouraged to produce on their own with careful attention towards food hygiene and safety.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Statistik Indonesia. Diunduh dari <http://www.bps.go.id/>. Diakses pada tanggal 10 November 2007
2. Karakoc A, Arslan M, Yildiz F, editor. Reproductive Hormones in Female and Hormone Replacement Therapy dalam *Phytoestrogen in Functional Foods*. Florida:USA. Taylor and Francis; 2006. Hal 187
3. Prior JC. Perimenopause: The Complex Endocrinology of the Menopausal Transition. *Endocrine Reviews* 1998;19:397-428
4. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology And Medicine*. 4<sup>th</sup> Ed. New York: Oxford University Press; 2007
5. Pujol TJ, Tucker JE. Diseases of the Cardiovascular System dalam *Nutrition Therapy and Pathophysiology*. Nelms M, Sucher K, Long S; editor. California, USA: Thomson Brooks;2007. hal 371-420
6. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Metabolisme Oksigen dan Toksisitas Oksigen dalam *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta:EGC; 2000. hal, 321-34
7. Olusi. Obesity Is An Independent Risk Factor For Plasma Lipid Peroxidation And Depletion Of Erythrocyte Cytoprotective Enzymes In Human. *Int J Obes* 2002; 26: 1159-64
8. National Cholesterol Education Program (NCEP). Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adult (Adult Treatment Panel III) 1998. Diunduh dari <http://www.NCEP.com>. Diakses pada tanggal 8 November 2007
9. Walsh B, Schiff I. Menopause dalam *Principal and Practise of Endocrinology and Metabolism*. Becker KL editor.3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. Hal 982-9
10. Porkkala-Sarataho E. Long term Effect of Vitamin E, Vitamin C and Combined Supplementation on Urinary 7-hydro-8-OXO-2'-Deoxyguanosine Serum Cholesterol Oxidation Products and Oxidation Resistance of Lipids in Nondepleted Men. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2000;20: 2087-93
11. Tikkanen MJ, Wahala K, Ojala S, Vihma V, Adlercreutz H. Effect of Soybean Phytoestrogen Intake on Low-density Lipoprotein Oxidation Resistance. *Proc Natl Acad Sci.* 1998; 95:3106-10
12. Soyfoods Guide. Diunduh dari [www.soybean.org](http://www.soybean.org). Diakses pada tanggal 19 November 2007

13. Steinberg FM, Guthrie NL, Villablanca AC, Kumar K, Murray MJ. Soy Protein With Isoflavones Has Favorable Effects On Endothelial Function That Are Independent Of Lipid And Antioxidant Effects In Healthy Postmenopausal Women. *Am J Clin Nutr* 2003;78:123-30
14. Ososki AL, Kennelly EJ. Phytoestrogens: a Review of the Present State of Research. *Phytotherapy Research*. 2003;17:845-69
15. Sirtori CR, Johnson SK. Soy Proteins, Cholesterolemia, and Atherosclerosis dalam *Soy in Health and Disease Prevention*, Sugano M., editor. United State of America: Tailor & Francis Group;2006. hal.17-41
16. Zhuo X, Melby M K, Watanabe S. Soy Isoflavones and Health dalam *Phytoestrogen in Functional Foods*. Yildiz F editor. Florida,USA:Taylor and Francis;2006. hal 243-57
17. Sacks FM, Lichtenstein A, Van-Horn L, Harris W, Kris-Etherton P, Winston M. Soy Protein, Isoflavone and Cardiovascular Health: An American Heart Association Science Advisory for Professionals From the Nutrition Committee. *Circulation* 2006;113:1034-44
18. Vega-Lopez S, Yeum K, Lecker JL, Ausman LM, Johnson EJ, Devaraj S, dkk. Plasma Antioxidant Capacity in Response to Diets High in Soy or Animal Protein with or without Isoflavones. *Am J Clin Nut*. 2005; 81: 43-8
19. Sugano M. Nutritional Implications of Soy dalam *Soy in Health and Disease Prevention*, Sugano M., editor. United State of America:Tailor & Francis Group;2006.hal.1-16
20. Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N, Fukaya T. Different Effects of Oral Conjugated Equine Estrogen and Estrogen Replacement Therapy on Size and Oxidative Susceptibility of Low-Density Lipoprotein Particles in Postmenopausal Women. *Circulation*. 2002; 106: 1771-6
21. Rachman IA. Peranan estrogen sebagai pencegahan dan pengobatan osteoporosis pasca menopause (osteoporosis primer). Pertemuan Ilmiah Tahunan Nasional (PITNAS) I Perhimpunan Osteoporosis Indonesia (PEROSI). Padang, 17-18 Mei 2003
22. Zhu X, Bonet B, Gilleanwater H, Kopp RH. Opposing effects of estrogen and Progestins on LDL Oxidation and vascular wall cytotoxicity: Implications for Atherogenesis. *Society for Experimental Biology and Medicine*. 1999: 99; 214-21
23. Guthrie HA, Picciano MF. *Human Nutrition*. St. Louis: Mosbyyear book Inc; 1995. hal 111-5

24. Grundy SM. Nutrition In Management Of Disorder Of Serum Lipids And Lipoprotein dalam *Modern Nutrition in Health and Disease*. 2006. Edisi ke 10. Baltimore, Lippincott William & Wilkin. Hal 1076-94.
25. Perkeni (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia). Penatalaksanaan dislipidemia. Buku petunjuk penatalaksanaan dislipidemia, 2005.
26. Then AH. Pengaruh Suplementasi Indigestible Dextrin Dan Fitosterol Terhadap Penurunan Kadar Kolsterol Ldl Serum Penderita Hiperkolsterolemia. Tesis Magister Sains, Ilmu Gizi Klinik. Jakarta, Pasca sarjana FKUI. Hal 6-45
27. Best B. General Antioxidant Actions. Diunduh dari <http://www.benbest.com/nutrceut/AntiOxidants.html>. Diakses pada tanggal 30 Januari 2008
28. Priyadarsini KI. Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reaction of Antioxidants and Radioprotectors. Founder's day special issue. Diakses pada tanggal 30 Januari 2008
29. Rolfes SR, Pinna K, Whitney E. Life Cycle Nutrition: Adulthood and the Later Years dalam *Understanding Normal and Clinical Nutrition*. 7<sup>th</sup> ed. USA: Thomson Wadsworth; 2006. hal.553-73
30. Rohrdanz E, Ohler S, Tran-Thi Q, Kahl R. The Phytoestrogen Daidzein Affects the Antioksidant Enzym System of Rat Hepatoma H4IIE Cells. *J Nutr*. 2002; 132: 370-5
31. Santanam N, Shern-Brewer R, McClatchey R, Castellano PZ, Murphy AA, Voelkel S, Parthasarathy S. Estradiol as an antioxidant: incompatible with its physiological concentrations and function. *Journal of Lipid Research* 1998;39:2111-8
32. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 2002;346:340-52
33. Gultekin E dan Yildiz F. Introduction to Phytoestrogen dalam *Phytoestrogen in Functional Foods*. Yildiz F, editor. Florisa,USA:Taylor and Francis;2006.hal 3-17
34. Fuller CJ, Jialal I. Antioxidants and LDL Oxidation dalam *Antioxidants and Disease Prevention*. Garewal HS, editor. New York: CRC Press; 1997. 115-30
35. USDA-Iowa State University. Database on the Isoflavone Content of Foods. Diunduh dari: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isoflav.html>. Diakses pada tanggal: 28 November 2007

36. Cassidy A, Pascual-Teresa S, Rimbach G. Molecular Mechanism by which Dietary Isoflavones Potentially Prevent Atherosclerosis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2003. Diunduh dari <http://www.expertreviews.org/>. Diakses tanggal 29/01/ 2008
37. Leitzmann C, Watzl B. Other Biologically Active Substances in Plant Foods: Phytochemicals dalam *Essentials of Human Nutrition*. Mann J, Truswell AS, eds. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Oxford University Press; 2007. hal 222-32
38. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. The Fat-Soluble Vitamins dalam *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Gropper SS, Smith JL, Groff JL, editor. 4<sup>th</sup> ed. California: Thomson Wadsworth; 2005. hal 325-67
39. Skeaf M. Vitamin C and E dalam *Essentials of Human Nutrition*. Mann J, Truswell AS editor. 3<sup>rd</sup> ed. New York: OxfordUniversity Press; 2007. hal 206-13
40. Bruno RS. The Role of Alfa and Gamma Tocopherols in Health dalam *Nutraceuticals and Functional Foods*. Wildman REC editor. Florida: CRC Press; 2007. hal 309-32
41. Setchell KDR, Cassidy A. Dietary Isoflavone: Biological Effect and Relevance to Human Health. *J Nutr*.1999;129: 758s-67s.
42. Wang HJ, Murphy PA. Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods. *J. Agric. Food Chem*. 1994;42: 1666-73
43. COT Working Group on Phytoestrogen. "Phytoestrogen". Diunduh dari <http://www.foodstandards.gov.u>. Diakses pada tanggal 23 Maret 2008
44. Bender DA. *Benders' Dictionary of Nutrition and Food Technology*. 8<sup>th</sup> ed. England: CRC Press LLC;2006. hal 423.
45. Coward L, Smith M, Kirk M, Barnes S. Chemical Modification Of Isoflavones In Soyfoods During Cooking And Processing. *Am J Clin Nutr* 1998;68: 1486-91.
46. Dewell A, Hollenbeck CB, Bruce B. The Effects of Soy-Derived Phytoestrogens on Serum Lipids and Lipoproteins in Moderately Hypercholesterolemic Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:118-21.
47. Hendrich S, Murphy PA. Isoflavone: Source and Metabolism dalam *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, Wildman REC, editor. 2<sup>nd</sup> ed. United State of America: Tailor & Francis Group;2007. hal.23-54.
48. Gultekin E, Yildiz F. Introduction to Phytoestrogen dalam *Phytoestrogen in Funtional Food*. Yildiz F, editor. USA: Taylor and Francis; 2006. hal.3-17.

49. Watanabe S, Zhou X, Melby MK, Ishiwata N, Kimira M. Systematic Review of Intervention Studies Using Isoflavone Supplements and Proposal for Future Studies dalam *Soy in Health and Disease Prevention*, Sugano M., editor. United State of America: Tailor & Francis Group; 2006. hal.87-106
50. Pertamawan A. Hubungan Antara Asupan Fitoestrogen Isoflavon dengan Prevalensi Gejolak Panas pada Wanita Pasca-menopause di Kelurahan Utan Kayu Selatan Kecamatan Matraman, Jakarta Timur. Jakarta: Bagian Obstetri dan Ginekologi FKUI RSCM;2002.hal.10-7
51. Zubik L, Meydani M. Bioavailability of Soybean Isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77: 1459-65
52. Rishi RK. Chemistry and Mechanism of Action of Phytoestrogens dalam *Phytoestrogen in Functional Foods*. Yildiz F, editor. Florida: Taylor and Francis;2006. hal. 81-95
53. Pattel RP, Boersma BJ, Crawford JH, Hogg N, Kirk M, Kalyanaraman B, dkk. Antioxidant Mechanisms of Isoflavones in Lipid Systems: Paradoxical Effects of Peroxyl Radical Scavenging. *Free Radic Biol Med.* 2001;31:1570-81
54. Jenkins DJA, Kendall CWC, Jackson CC, Connelly PW, Parker T, Faulkner D, dkk. Effect of High- and Low-isoflavone Soyfoods on Blood Lipids, Oxidized LDL, Homocysteine, and Blood Pressure in Hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr.* 2002;76: 365-72
55. Communication and Educational Technology Services (CETS). Soybean Growth and Development, Soybean Growth and Development & Management Information for Replant Decisions, Produced by Communication and Educational Technology Services, University of Minnesota Extension, Reviewed 1998. Diunduh dari <http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystems-images-5701f01.gif.mht>. Diakses tgl 19 desember 2007
56. Gibson RS. *Principles of Nutritional Assessment*. New York: Oxford University Press; 2005. hal 300-22
57. Alpha Diagnostic International.(2007). Malondialdehyde (MDA; 1,1,3,3 Tetramethoxypropane). Diunduh dari <http://www.4adi.com/>. Diakses tanggal 9 Oktober 2007
58. Bates B. *Pemeriksaan Fisik dan Riwayat Kesehatan*. ed. 2. Jakarta: EGC; 1998. hal 165
59. Waspadji S, Semiardji G, Sukardji K, Moenarko R. *Cara mudah mengatur makanan sehari-hari, seimbang dan sesuai kebutuhan gizi*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2004

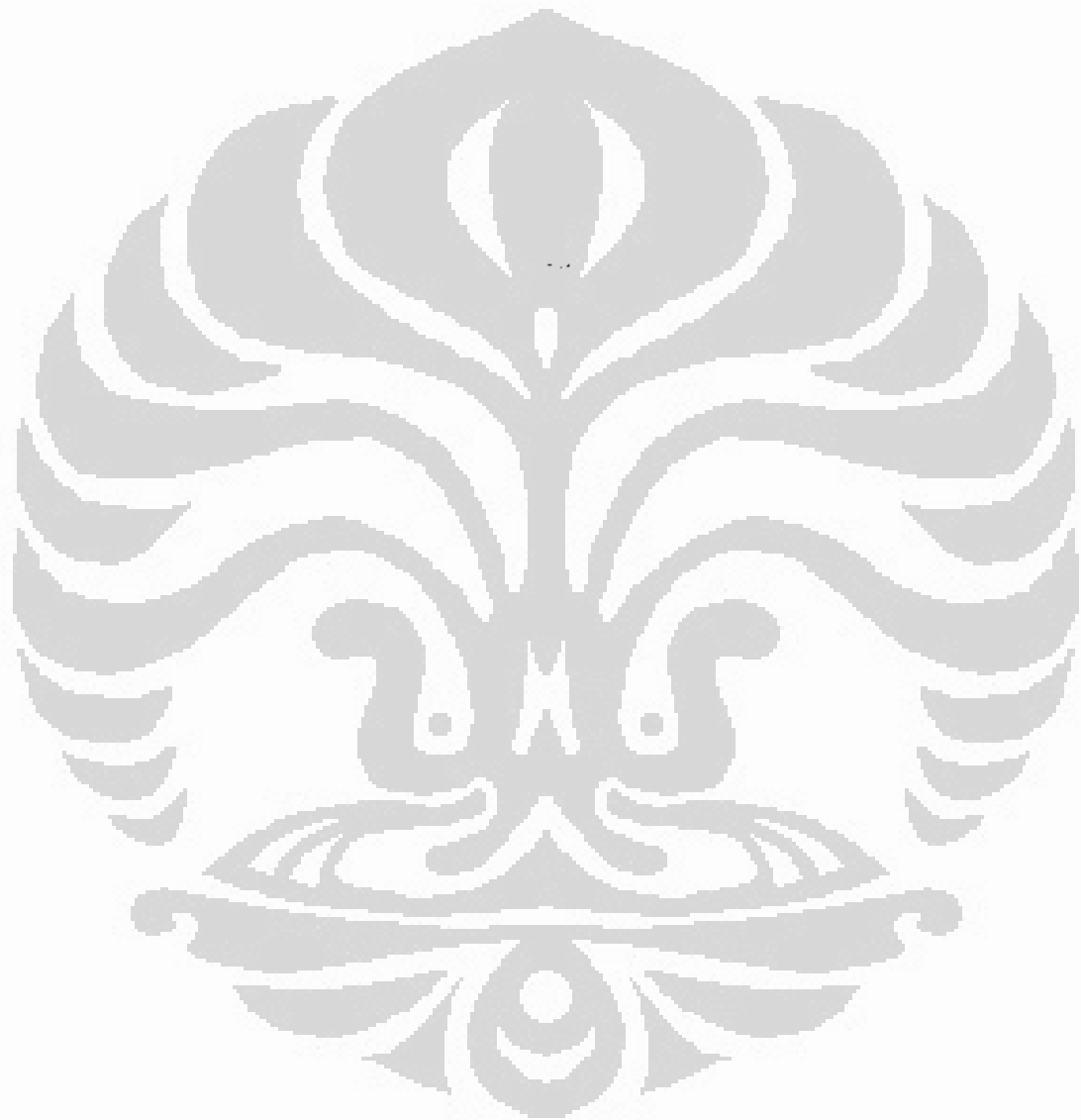
60. Cabrera IZ. Vitamin C dalam *Recommended Dietary Allowances: Harmonization in Southeast Asia* (Tee-E-S. dan Florentino RF editors). ILSI-Southeast Asia Region ;2005. hal 168-81.
61. Institute of medicine. *Dietary Reference Intakes for vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. Washington DC: National Academy Press; 2000. hal: 325-80
62. Rishi RK. Phytoestrogens in Health and Illness. *Indian Journal of Pharmacology*. 2002;34 : 311-20
63. Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*; Ed 2. Jakarta: Sagung Seto; 2006.
64. WHO-WPRO. The Asia-Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. Health Communications Australia Pte. Limited. (2000). Diunduh dari [http://www.diabetes.com.au/pdf/obesity\\_report.pdf](http://www.diabetes.com.au/pdf/obesity_report.pdf). Diakses tanggal 25 Juni 2006).
65. Halliwell B, Gutteridge MC. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1990;280:108.
66. PD Mandala. Hasil Analisis Bubuk Instan Kedelai. Puslitbang Gizi dan Makanan, Bogor. 2006
67. Buku pedoman petugas Gizi Puskesmas, Depkes RI, 1990
68. Iuliano L, Micheletta F, Maraghi M, Frati G, Diczfalusy U, Violi F. Bioavailability of Vitamin E as Function of Food Intake in Healthy Subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:e34-7
69. Block G, Dietrich M, Norko EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, Packer L. Factors Associated with Oxidative Stress in Human Populations. *Am J Epidemiol* 2002;156:274-85
70. Reddy K, Ramamurthy R, Somasekaraiah BV. Free radical and antioxidant status in urban and rural Tirupati men: interaction with nutrient intake, substance abuse, obesity and body fat distribution. *Asia Pacific J Clin Nutr*. 1997;6(4):296-311
71. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Kimura M, Noma K, Sasaki S, Hara K, Matsuura H, Goto C, Oshima T, Chayama K, Yoshizumi M. Low Body Mass Index is a Risk Factor for Impaired Endothelium-Dependent Vasodilatation in Humans: Role of NO and Oxidative Stress. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:256-63)



72. Ward WF, Qu W, Remmen HV, Zackert WE, Roberts LJ, Richardson A. Effects of Age and Caloric Restriction on Lipid Peroxidation: Measurement of Oxidative Stress by F<sub>2</sub>-Isoprostane Levels. *J Gerontol. A Biol Sci. Me. Sci* 2005;60:847-85
73. Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, dkk. Isoflavone Phytoestrogen consumed in Soy Decrease F<sub>2</sub>-isoprostane Concentrations and Increase Resistance of Low-density Lipoprotein to Oxidation in Humans. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72: 395-400
74. Xu dkk, 1994. Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. Daidzein Is A More Bioavailable Soymilk Isoflavone Than Is Genistein In Adult Women. *J Nutr* 114;124:825-32
75. Engelman HM, Alekel DL, Hanson LN, Kanthasamy AG, Reddy MB. Blood Lipid And Oxidative Stress Responses To Soy Protein With Isoflavones And Phytic Acid In Postmenopausal Women. *Am J Clin Nutr* 2005;81:590-6
76. Suhardjo, 2003. Berbagai Cara Pendidikan Gizi. 2003, ed 2. hal 35-47. PT Bumi Aksara, Jakarta Indonesia.
77. Setiawan B, Sulaeman A, Giraud DW, Driskell JA. Carotenoid content Of Selected Indonesian Fruit. *J Food Comp Anal* 2001;14:169-76.
78. De Pee S, West CE, Martui S, Muhilal, Hautvst JGA. Orange fruit is more effective than are dark-green leafy vegetables in increasing serum concentration of retinal and beta karoten in school children in Indonesia. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1058-67
79. Yeum K, Russell RM. Carotenoid Bioavailability and Bioconversion. *Ann Rev Nutr* 2002; 22:483-504
80. Ausmann LM. Criteria and Recommendations For Vitamin C intake. *Nutr Rev* 1999; 57: 222-9
81. Andriollo-Sanchez M, Hininger-Favier I, Meunier N, Venneria E, O'Connor JM, Maiani G, Coudray C, Roussel AM. Age-related Oxidative Stress And Antioxidant Parameters In Middle-Aged And Older European subjects: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr* 2005;59:S58-6
82. Thompson HJ, Heimendinger J, Haegele A, Sedlacek SM, Gillette C, O'Neil C, Wolfe P, Conry C. Effect of Increased Vegetable And Fruit Consumption On Markers Of Oxidative Cellular Damage. *Carcinogenesis* 1999; 20:2261-6
83. Surono IS. Probiotik Susu fermentasi dan kesehatan. 2004. PT Tri Cipta KARYA. Jakarta. Hal 180-200

84. Halliwell B, Rafter J, Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherol, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr* 2005;81:268s-76s
85. Buzzard M. 24-hour Dietary Recall And Food Record Methods, dalam *Nutritional Epidemiology* (Willett W;editor) 1998; hal 50-73. Oxford University Press, New York
86. Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, Adam O, Grohe C, Laufs K, Bohm M, Nickenig G. Modulation of Antioxidant Enzyme Expression And Function By Estrogen. *Circ Res* 2003;93:170-7
87. ESA-Application Note. Malondialdehida (70-5033P\_Malondialdehyde.pdf). Diakses pada tanggal 31 July 2008. Diunduh dari [www.esainc.com](http://www.esainc.com). Diakses pada tanggal 8 Juli 2008
88. Jialal I, Devaraj S. Low density lipoprotein-oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chemistry* 1996; 42: 498-506
89. Coward L, Smith M, Kirk M, Barnes S. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. *Am J Clin Nutr* 1998;68: 1486-91.
90. Campbell MJ, Woodside JV, Honour JW, Morton MS, Leathem AJ. Effect of red clover-derived isoflavone supplementation on insulin-like growth factor, lipid and antioxidant status in healthy female volunteers: a pilot study. *Eur J Clin Nutr*. 2004 Jan; 58(1): 173-9
91. Halliwell B. Dietary polyphenol: Good, bad, or indifferent for your healthy?. *European J Cardiores* 2006;73:341-7.
92. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, no: HK.00.05.23.3664, tentang: Ketentuan Pokok Pengawasan Suplemen Makanan. 9 Agustus 2004
93. Halliwell B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovascular Research* 2000;47:410-8
94. Dhandapani KM, Brann DW. Protective effect of estrogen and selective estrogen receptor modulators in the brain. *Biology of reproduction* 2002;67:1379-85
95. European Commission. Revised Opinion on Cyclamic Acid and Its Sodium and Calcium Salts. *Scientific Committee on Food* 2000;SCF/CS/EDUL/192 final:1-8
96. Borrás C, Gambini J, Gomez-Cabrera, Sastre J, Pallardo FV, Mann GE, Vina J. Genistein, a soy isoflavone, up-regulates expression of antioxidant genes:

involvement of estrogen receptors, ERK1/2, and NF $\kappa$ B. *FASEB J*  
2006;20:E1476-81





# UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax. : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac.id

No : 321 / PT02.FK/ETIK/2007

## KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ETHICAL CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

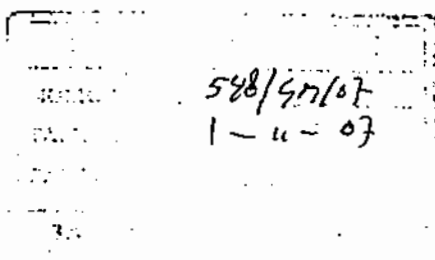
*The Committee of The Medical Research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

"PENGARUH PEMBERIAN SUSU KEDELAI TERHADAP KADAR PROFIL LIPID DAN MDA PADA KELOMPOK WANITA USIA 45-55 TAHUN DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA".

Nama peneliti utama : dr. SRI SUKMANIAH, MSc, SpGK  
*Name of the principal investigator*

Nama institusi : ILMU GIZI FKUI/RSCM  
*Name of Institution*

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.  
*and approved the above mentioned proposal.*



30 Oktober 2007

Ketua  
Chairman

Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)



Lampiran 2

Formulir instrument pengambilan data

## Lembar Informasi Penelitian

Yth. Ibu/Saudari

Dengan ini kami jelaskan bahwa pada wanita usia 45-55 tahun akan terjadi masa transisi dari siklus haid yang teratur menjadi tidak teratur (masa perimenopause). Pada masa ini, terjadi penurunan produksi hormon estrogen (hormon kewanitaan), sehingga dapat terjadi gejala-gejala antara lain gangguan pada tulang, peningkatan kadar kolesterol darah, dan lain-lain. Peningkatan kadar kolesterol darah perlu diwaspadai karena dapat meningkatkan risiko terjadinya penyakit jantung koroner (PJK).

Untuk itu kami akan mengadakan penelitian pada wanita berusia 45-55 tahun, mengenai upaya pencegahan PJK. Apabila Ibu/Saudari bersedia mengikuti penelitian ini, maka akan dilakukan:

1. Pengambilan darah sebanyak 5 cc atau 1 satu sendok makan pada saat awal, pertengahan dan akhir penelitian, yang didahului dengan puasa selama 12 jam.
2. Pemeriksaan kesehatan fisik sekali selama penelitian
3. Diberi minum 2 (dua) gelas susu setiap hari selama 8 minggu (2 bulan)
4. Wawancara mengenai kebiasaan makannya pada saat awal, pertengahan dan akhir penelitian
5. Pengukuran berat badan dan tinggi badan pada saat awal, pertengahan dan akhir penelitian

Akibat pengambilan darah mungkin Ibu/Saudari akan merasakan sedikit ketidaknyamanan, namun hal ini dapat diatasi dengan pengambilan darah yang dilakukan oleh tenaga yang sudah ahli dan terlatih.

Keikutsertaan Ibu/Saudari dalam penelitian ini bersifat sukarela dan Ibu/Saudari dapat menolak atau mengundurkan diri selama proses penelitian berlangsung. Keuntungan bagi Ibu/Saudari apabila ikut serta dalam penelitian ini adalah dapat mengetahui keadaan kesehatan dan gizi Ibu/Saudari. Penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan status kesehatan dan gizi Ibu/Saudari. Semua data pada penelitian ini bersifat rahasia.

Apabila Ibu/Saudari bersedia ikut dalam penelitian ini, maka kami akan memohon kesediaannya untuk dapat menandatangani surat persetujuan bahwa Ibu/Saudari menjadi peserta penelitian.

### **PENGARUH PEMBERIAN SUSU KEDELAI TERHADAP KADAR PROFIL LIPID DAN MDA PADA KELOMPOK WANITA USIA 45-55 TAHUN DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA**

Hal-hal yang belum jelas dalam penelitian ini dapat ditanyakan secara langsung atau melalui telepon pada penanggung jawab penelitian ini yaitu dr. Christina Olly Lada (0811841065).

Atas kesediaan Ibu/Saudari, kami ucapkan terima kasih.

Form A2

## FORMULIR PERSETUJUAN

**Pengaruh Pemberian Susu Bubuk Kedelai Terhadap Kadar  
Malondialdehida Pada Wanita Perimenopause Usia 45-55 Tahun Dengan  
Hiperkolesterolemia**

Peneliti:  
Christina Olly Lada

Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia  
Jl. Salemba Raya 6, Jakarta. Tel (021) 31930208

Setelah mendengar dan membaca penjelasan mengenai tujuan dan manfaat dari penelitian diatas, maka yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :  
Umur :  
Pendidikan :  
Pekerjaan :  
Alamat :

Menyatakan bahwa saya

- Bersedia untuk mengikuti penelitian ini selama 8 (delapan) minggu
- Bersedia untuk diwawancarai mengenai asupan makanan sehari-hari
- Bersedia untuk diukur berat badan, tinggi badan
- Bersedia diperiksa darah untuk mengetahui kadar MDA darah

Saya dan keluarga mengerti bahwa jika masih memerlukan penjelasan, saya akan mendapatkan jawaban dari peneliti dr. Christina Olly Lada, telp: 0811841065.

Dengan menandatangani formulir ini, saya setuju ikut dalam penelitian ini.

Jakarta,      November 2007

Mengetahui  
Penanggung Jawab,

Menyetujui  
Peserta Penelitian,

(dr. Christina Olly Lada)

(.....)

**FORMULIR SELEKSI**

Nama : \_\_\_\_\_ No. Telepon : \_\_\_\_\_

Tgl lahir : \_\_\_\_\_ Alamat rumah : \_\_\_\_\_

No.	Kriteria	Ya (✓)	Tidak (✓)
<b>A.</b>	<b>Kriteria Penerimaan</b>		
1	Datang bulan sudah tidak teratur sejak satu tahun terakhir? atau Telah mati haid selama lebih dari 12 bulan dan kurang dari 24 bulan?		
2	Umur 45-55 tahun		
3	IMT 18,5-29,9 kg/m <sup>2</sup> (BB <sub>1</sub> :.....kg; BB <sub>2</sub> :.....kg; RerataBB:.....kg; TB <sub>1</sub> :.....cm; TB <sub>2</sub> :.....cm; RerataTB :.....cm; IMT:.....kg/m <sup>2</sup> )		
4	Tidak merokok, tidak konsumsi alkohol		
5	Tidak sedang mendapat terapi HRT/terapi sulih hormon		
6	Bersedia minum susu kedelai 2 kali sehari selama 8 minggu		
7	Bersedia berhenti minum susu yang dikonsumsi saat ini		
8	Bersedia berhenti mengkonsumsi suplemen/herbal/vitamin/mineral yang dikonsumsi saat ini		
9	Telah mendapatkan penjelasan tentang program ini		
10	Menyetujui <i>Informed Consent</i>		
11	Kolesterol Total 200-239 mg/dL (.....mg/dL)		
<b>B.</b>	<b>Kriteria penolakan</b>		
1	Tidak sedang mengkonsumsi obat yang mempengaruhi kadar lemak darah		
2	Tekanan Darah (TD) Normal (TD <sub>1</sub> :.....mmHg; TD <sub>2</sub> :.....mmHg; RerataTD:.....mmHg)		
3	Tidak pernah /sedang menderita penyakit darah tinggi		
4	Tidak pernah/sedang menderita penyakit jantung, stroke, osteoarthritis		
5	Tidak pernah/sedang menderita penyakit kanker		
6	Tidak pernah/sedang menderita penyakit hati		
7	Tidak pernah/sedang menderita penyakit ginjal		
8	Tidak pernah/sedang menderita penyakit kencing manis		
9	SGOT/SGPT normal (SGOT/SGPT.....)		
10	Ureum Kreatinin normal (U/C.....)		
11	Gula darah puasa normal: < 100 mg/dL (GDP:.....mg/dL)		
12	Tidak sedang berpartisipasi dalam program kesehatan/gizi lain		
<b>Memenuhi kriteria sebagai partisipan program susu kedelai</b>			

Pemeriksa:	Tanggal Pemeriksaan:	Tanda tangan Pemeriksa:
------------	----------------------	-------------------------



Form A4

Kode   **PEMERIKSAAN FISIK**

Tanggal : \_\_\_\_\_ Petugas: \_\_\_\_\_

Nama Partisipan: \_\_\_\_\_ Usia: \_\_\_\_\_

Fisik	Kondisi: - normal (N) - abnormal (AN) - tidak diketahui (TK)	Bila abnormal (AN), beri keterangan/penjelasan
Mata		
Telinga, Hidung		
Tenggorokan		
Chest		
Abdomen (organomegaly)		
Kulit		
Tangan/Kaki		
Lain-lain, sebutkan.....		

Form B1

KODE 

--	--	--

**IDENTITAS RESPONDEN**

Diisi oleh Petugas

Tanggal :

Petugas :

1. Nama :
2. No.telepon :
- Alamat rumah :
3. Tanggal lahir :
4. Usia :
5. Pendidikan :
 

1. Buta huruf /Tidak tamat SD	2. Tamat SD
2. Tidak tamat SMP	3. Tamat SMP
2. Tidak tamat/tamat SMA	4. Tidak tamat/tamat akademi, diploma, perguruan tinggi
5. Tamat perguruan tinggi	

Form B2.

Lembar *Food Recall* 1x24 jam

Kode

--	--	--

Hari/Tanggal	:	.....
Nama Subyek	:	.....
No.Kode Subyek	:	.....
Pemeriksa	:	.....

Pemeriksaan *Food Recall* ke : 1 2 3 4

Waktu/Jam	Menu	Bahan Makanan	URT	Gram
<b>Pagi</b>				
<b>Selingan</b>				
<b>Siang</b>				
<b>Selingan</b>				
<b>Malam</b>				
<b>Selingan</b>				

Form B3

Kode

--	--

**PENILAIAN ASUPAN MAKANAN FFQ SEMIKUANTITATIF**

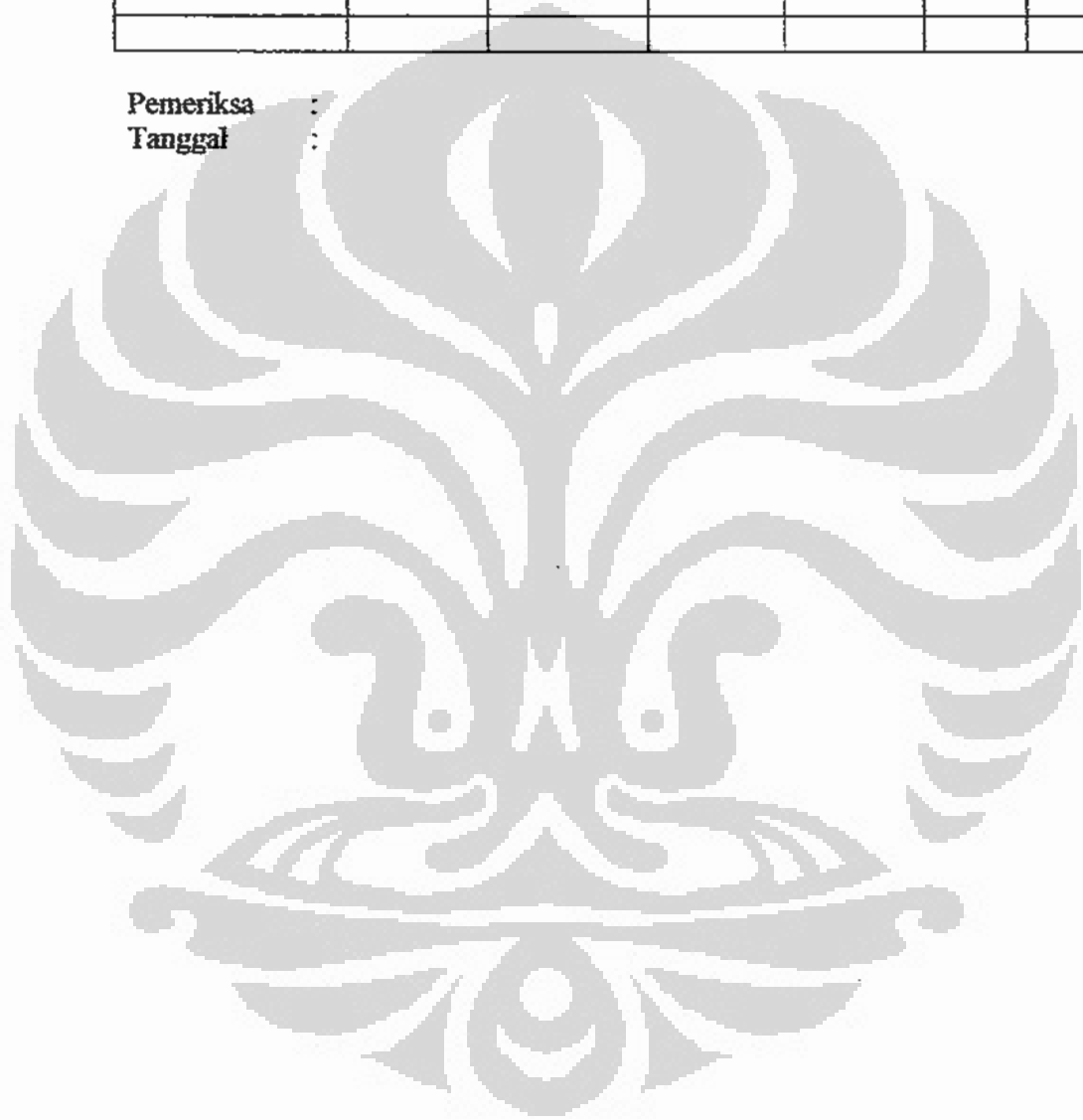
Tanggal :

Nama :

Jenis makanan	Harian	Mingguan	Bulanan	Tidak pernah	Jumlah	
					URT	Gram
Sumber Isoflavon						
Kacang kedelai						
Miso						
Susu kedelai						
Tempe						
Teh						
Tahu						
Lain-lain						
Sumber antioksidan						
Anggur (sedang)						
Apel merah						
Apel malang						
Arbei						
Belimbing						
Jambu air						
Jeruk manis						
Jeruk bali						
Leci						
Mangga						
Pear						
Nanas						
Pepeya						
Semangka						
Strawberi						
Tomat						
Wortel						
Tauge						
Kacang hijau						
Kacang merah						
Kacang tanah						
Caisim						
Bayam						
Sawi						
Kacang panjang						
Daun kemangi						
Daun katuk						

Daun papaya						
Daun singkong						
Lain-lain						

Pemeriksa :  
Tanggal :



Form C.

Kode   **PEMERIKSAAN ANTROPOMETRI**

Nama :

Umur :

Pemeriksaan	Sebelum perlakuan	Minggu IV	Minggu IX
Berat Badan (cm)			
Tinggi Badan (kg)			
IMT ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )			

Pemeriksa

Tanggal Periksa

Universitas Indonesia

Form D.

Kode

--	--	--

**PEMERIKSAAN LABORATORIUM**

Nama :

Usia :

**Pra Penelitian**

Kolesterol Total	=
Kolesterol LDL	=
Gula Darah Puasa	=
SGOT	=
SGPT	=
Ureum	=
Kreatinin	=

Pemeriksaan	Sebelum perlakuan	Minggu IV	Minggu IX
Kolesterol LDL (mg/dL)			
MDA (nmol/mL)			
Pemeriksa			

Form E.

Kode   

**KEPATUHAN**  
(diisi oleh responden setiap hari)

Nama :

Umur :

No	Hari/Tanggal	Minum Susu (beri tanda *)		Tidak	Keluhan
		Ya			
		Satu kali/hari	Dua kali/hari		
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					
10.					
11.					
12.					
13.					
14.					

Pemeriksa :

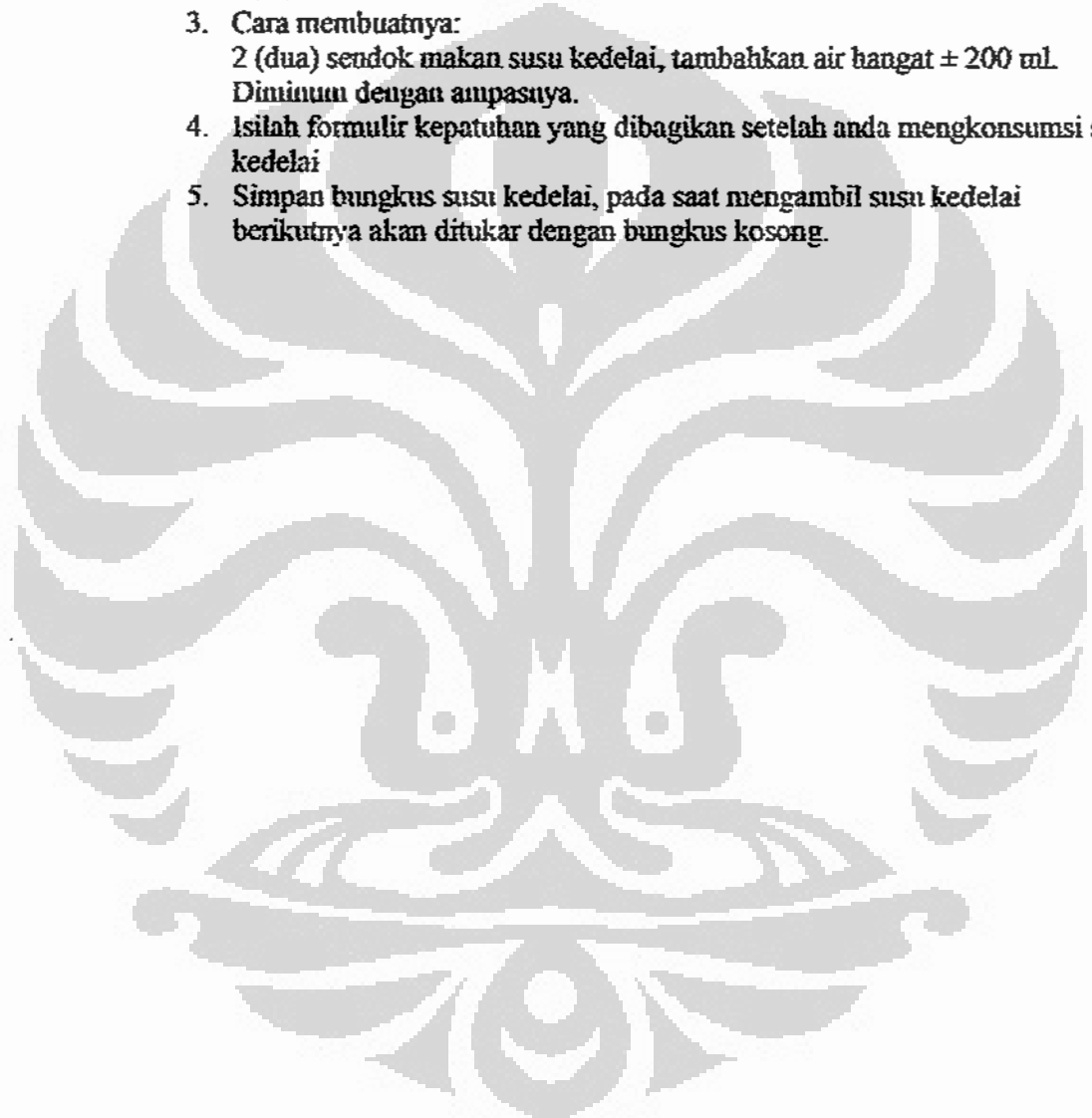
Tanggal Periksa :

Universitas Indonesia



**Lampiran 3.****CARA MENGONSUMSI SUSU KEDELAI**

1. Susu kedelai dikonsumsi kurang lebih 15 menit setelah makan
2. Susu kedelai dikonsumsi dua (2) kali sehari, pagi dan siang hari setelah makan
3. Cara membuatnya:  
2 (dua) sendok makan susu kedelai, tambahkan air hangat  $\pm$  200 ml.  
Dinum dengan ampasnya.
4. Isilah formulir kepatuhan yang dibagikan setelah anda mengonsumsi susu kedelai
5. Simpan bungkus susu kedelai, pada saat mengambil susu kedelai berikutnya akan ditukar dengan bungkus kosong.



**Lampiran 4****PROSEDUR PEMERIKSAAN LABORATORIUM****KOLESTEROL SERUM**

Menggunakan *Kit* dari *Boehringer Mannheim*

Metode: CHOD – PAP.

**Prinsip:**

Kolesterol ester yang bereaksi dengan  $H_2O$  dengan bantuan enzim kolesterol esterase akan menghasilkan kolesterol dan  $RCOOH$ . Selanjutnya kolesterol akan bereaksi dengan  $O_2$  dengan bantuan enzim oksidase akan menghasilkan  $\Delta^4$  – kolestenon dan  $H_2O_2$ .

Reaksi selanjutnya terjadi antara 2 molekul  $H_2O_2$  dengan 4-aminofenazon dan fenol dengan bantuan enzim peroksidase akan membentuk senyawa 4-(*p*-benzo kinon- monoimino –fenazon dan 4 senyawa  $H_2O$ .

**Reagensia:**

1. Larutan pereaksi mengandung dapar Tris: 100 mmol/L, pH 7,7  $Mg^{2+}$ ; 50 mmol/L, 4-aminofenazon; 1 mmol/L; sodium kolat; 10 mmol/L; fenol; 6 mmol/L; 3-4 dikloofenol; 4 mmol/L; Kolesterol esterase  $\geq 0,4$  U/mL; kolesterol oksidase  $\geq 0,25$  U/mL; peroksidase  $\geq 0,2$  U/mL
2. Sampel: Serum, plasma heparin atau plasma EDTA.

**Cara kerja:**

Pipetkan ke dalam tabung reaksi sebagai berikut:  
 Tambahkn tabung blanko 2 mL larutan perekasi. Tambahkan tabung uji 0,02 mL bahan uji dan 2 mL larutan pereaksi.  
 Campur dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 20 – 25°C .  
 Ukur serapan tabung uji dalam satu jam pada panjang gelombang 500 nm terhadap larutan blanko.

**Perhitungan:**

Kadar kolesterol =  $575 \times A$  uji (mg/dL)

$A$  uji = serapan bahan uji.

## Metode Pemeriksaan Kolesterol LDL

### Pemeriksaan kolesterol LDL Direk (DAICHI) Metoda Homogeneous

#### Prinsip:

##### Tahap I:

Reagen 1 (enzim solution) dicampur dengan spesimen serum. Deterjen 1 dalam reagen 1 melarutkan struktur kilomikron, VLDL dan HDL sehingga melepaskan kolesterol. Kolesterol bebas yang terbentuk oleh kolesterol esterase, bereaksi dengan kolesterol oksidase menghasilkan hidrogen peroksida.

Hidrogen peroksida bereaksi dengan 4-aminoantipirin menghasilkan produk tak berwarna.

##### Tahap 2:

Tambahkan reagen 2 yang mengandung deterjen 2 yang melepaskan kolesterol dari LDL yang tersisa sehingga dapat dilanjutkan dengan reaksi enzimatik.

Reagen 2 mengandung bahan pewarna garam NN-bis-(4-sulfobutil)toluidin disodium. Hidrogen yang terbentuk dengan reaksi enzimatik menghasilkan produk berwarna biru ungu. Intensitas warna sebanding dengan konsentrasi kolesterol LDL.

Sampel: serum, plasma EDTA/heparin

Jumlah: 300  $\mu$ L.

#### Cara kerja:

##### 1. Cara kalibrasi

- Pipet 250  $\mu$ L kalibrator ke dalam sample cup.
- Letakkan pada rak kalibrator alat Hitachi series/cobas mira.
- Kerjakan seperti program control alat Hitachi series/cobas mira

##### 2. Melakukan kontrol

- Kontrol dilakukan setelah hasil kalibrasi memenuhi syarat
- Cara melakukan control:  
Pipet 250  $\mu$ L kontrol ke dalam sample cup. Letakkan pada rak kalibrator alat Hitachi series/cobas mira. Kerjakan seperti program control alat Hitachi series/cobas mira

##### 3. Pemeriksaan sample

- Dilakukan setelah hasil kalibrasi dan control memenuhi syarat.
- Cara melakukan pemeriksaan sample  
Pipet 250  $\mu$ L sampel ke dalam sample cup. Letakkan pada rak kalibrator alat Hitachi series/cobas mira. Kerjakan seperti program control alat Hitachi series/cobas mira

## GLUKOSA DARAH

Menggunakan *Kit* dari *Boehringer Mannheim*

Metode: GOD – PAP (glukosa oksido-peksidase)

### Prinsip:

Reaksi antara senyawa D-Glukosa dengan  $O_2$  dan  $H_2O$  dengan bantuan glukosa oksidase akan membentuk senyawa D-Glukono- $\delta$ - akton dan  $H_2O_2$ . Selanjutnya terjadi reaksi antara  $H_2O_2$  dan asam hidroksi benzoat serta 4-amino antipirin dengan bantuan enzim peroksidase akan membentuk senyawa 4-( $p$  – benzokinon–monoimino )-fenazon dan  $H_2O$

Bahan: Serum, plasma

### Cara kerja:

1. Larutan pereaksi mengandung 200 mmol/L, dapar fosfat pH 7,2; 10 mmol/L 4 – asam hidroksibenzoat, 0,75 mmol/L 4-aminoantipirin;  $\geq 25 \mu$  kat glukosa oksidase (GOD),  $\geq 20 \mu$  kat peroksidase (POD).
2. Tabung uji ditambahkan 10  $\mu$ L bahan uji dan 1000  $\mu$ L larutan pereaksi. Tabung standar ditambahkan 10  $\mu$ L larutan standar dan 1000  $\mu$ L larutan pereaksi, tabung blanko ditambahkan 1000  $\mu$ L larutan pereaksi.
3. Campur dan inkubasi pada suhu  $25^\circ C$  selama 20 menit.
4. Set panjang gelombang 500 nm. Spektrofotometer pada posisi nol dengan larutan blanko.
5. Baca serapan tabung uji, dan standar terhadap larutan blanko.
6. Perhitungan:

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{A_{\text{uji}}}{A_{\text{standar}}} \times \text{kadar standar (mg/dL)}$$

## KREATININ

Menggunakan *Kit* dari *Boehringer Mannheim*

Metode: **JAFFE**

Prinsip:

Dalam suasana basa, kreatinin bereaksi dengan asam pikrat membentuk senyawa kompleks berwarna jingga yang diukur serapannya pada panjang gelombang 500nm.

Bahan: Serum, plasma

Cara kerja:

1. Larutan pereaksi mengandung 85 mmol/L dapar borat pH 12,4; 500 mmol/L litium hidroksida 1,2%; asam pikrat 32 mmol/L
2. Tabung uji: tambahkan 1000  $\mu$ L larutan pereaksi dan 100  $\mu$ L bahan uji. Tabung standar: tambahkan 1000  $\mu$ L larutan pereaksi dan 100  $\mu$ L larutan standar.
3. Campur dan baca serapan uji dan standar  $A_1$  pada panjang gelombang 500 nm setelah 30 detik. Setelah satu menit baca serapan uji dan standar ( $A_2$ ).  
 $A_2 - A_1 = \Delta A$ .
4. Perhitungan:

$$\text{Kadar kreatinin} = \frac{\Delta A \text{ uji}}{\Delta A \text{ standar}} \times \text{kadar standar (mg/dL)}$$

**SGPT (Alanin aminotransferase).**

Menggunakan *Kit* dari *Boehringer Mannheim*

Metode: Rekomendasi *International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)*

**Prinsip:**

Reaksi antara L-alanin dan 2-oksoglutarat dengan bantuan ALT akan menghasilkan senyawa L - glutamat dan piruvat.

Selanjutnya akan terjadi reaksi antara Piruvat dan NADH serta ion  $H^+$  dengan bantuan LDH akan menghasilkan L - laktat dan  $NAD^+$

**Bahan:** Serum, plasma

**Cara kerja:**

1. 1000  $\mu$ L larutan pereaksi ditambahkan 200  $\mu$ L akuades.
2. 100  $\mu$ L larutan bahan uji
3. Campur dan baca setelah 1 menit. Ulangi setelah 1, 2 dan 3 menit dan hitung  $\Delta A$  /menit.
4. Perhitungan:

$$SGPT = \Delta A / \text{menit} \times F \text{ U/L}$$

F = faktor koreksi (3824) pada panjang gelombang 365 nm.

**Malondialdehida****Metoda: Spektrofotometri dari Wills.****Prinsip:**

2 molekul TBA berikatan dengan 1 MDA menghasilkan kompleks TBA-MDA-TBA yang berwarna merah jambu yang memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 530 nm.

**Langkah pengukuran:**

- a. Mengukur nilai serapan blanko dan standar (konsentrasi standar 0,05 nmol/mL).
  1. Pengukuran serapan blanko = 1000  $\mu$ L H<sub>2</sub>O + 500  $\mu$ L TCA 20% + 1000  $\mu$ L TBA 0,67%. Dipanaskan di air mendidih selama 10 menit. Setelah dingin diukur nilai serapannya.
  2. Dengan cara yang sama dengan langkah (1) di atas diukur nilai serapan standar.
- b. Menghitung persamaan regresi  $Y = a + bx$ , dimana y adalah nilai serapan (standar – blanko) dan x adalah konsentrasi standar.
- c. Mengukur nilai serapan bahan uji sebagai nilai y ke dalam persamaan regresi, sehingga diperoleh nilai x sebagai konsentrasi dalam nmol/mL.

Nilai normal dari pemeriksaan ini belum dapat ditetapkan karena untuk hal ini diperlukan jumlah bahan uji yang cukup besar, akan tetapi dari nilai *recovery* didapatkan nilai yang memuaskan karena mendekati nilai 90%.

**Lampiran 5. Komposisi bahan suplementasi**

**PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN GIZI DAN MAKANAN  
LABORATORIUM TEKNOLOGI MAKANAN DAN POTENSI GIZI**  
Jl. DR. Sumaru No. 63, Bogor 16112; Telepon 0251-321761; Fax 0251-326348

No. : 424/LL/TMPG/2006	<b>HASIL ANALISIS</b>	Halaman : 1 dari 1
------------------------	-----------------------	--------------------

Nama Perusahaan/Pelanggan : PD Mandala 525  
 Alamat : Jl. Guntur Melati No. 33 Garut 44116  
 Nomor Telepon/Fax : 0262-234424  
 Tanggal Pengiriman : 12 Mei 2006  
 Jenis Sampel / Kode : Kedelai Bubuk Instan

No.	Nama Sampel / Kode Sampel	Jenis Analisis	Metode	Hasil	Satuan
	Kedelai Bubuk Instan	Protein	Kjeldahl	36,5	g/100 g
		Lemak	Soxhlet	22,7	g/100 g
		Air	Gravimetri	5,5	g/100 g
		Abu	Gravimetri	3,7	g/100 g
		Karbohidrat	By difference	31,5	g/100 g
		Energi	Perhitungan	476	kkal
		Besi	Spektrofotometri	4,8	mg/100 g
		Kalsium	Titrimetri	410,4	mg/100 g

Bogor, 1 Juni 2006

Penanggung Jawab Analisis

Drs. Almasyhuri, MSi





Lampiran 6. Kandungan sildamat dalam bahan suplementasi

**MDL-525 FOOD**

**Kedelai Bubuk Instan**  
**MDL-525®**

Komposisi:  
Kedelai Bubuk  
Pemanis Buatan  
Natrium sildamat (1g/Kg)

**MDL-525 FOOD**

**Rasa "Plain"**

**Kedelai Bubuk Instan**  
**MDL-525®**

Mengandung:  
Protein  
Lemak  
Serat

**MDL-525** adalah kedelai bubuk yang terbuat dari biji kedelai pilihan rasanya enak dan nikmat mengandung Protein, Lemak dan Serat.

Produksi :  
**PT. MANDALA PUTRA 525**  
JABAR - INDONESIA

BPOM RI MD : 850510001977  
No. Reg : 000154317

Netto 200 g

**LAMPIRAN 7. Proses dan Cara Pengolahan Bahan Supplementasi****PD. MANDALA 525****Kedelai Bubuk Instant MDL-525**

Jl. Guntur Melati Kel. Haurpanggung Tarogong Kidul Garut - 44151  
Tlp. (0262) 234424 - Fax (0262) 234945 / (0262) 231478

**PROSES PRODUKSI KEDELAI BUBUK INSTAN MDL-525****I. BAHAN BAKU**

- a. Kondisi kedelai dalam keadaan kering dengan tingkat kekeringan  $\pm 80\%$  dari supplier;
- b. Penyeleksian bahan : layak atau tidaknya untuk diproses.

**II. TAHAPAN PRODUKSI**

Proses Penyortiran :

Dibagi menjadi tiga bagian :

1. Pemilihan kedelai yang berkualitas;
2. Pemisahan limbah kedelai;
3. Kedelai digiling menjadi dua bagian untuk memisahkan limbah kulit kedelai;
4. Proses penapian dengan tujuan untuk membuang sisa-sisa kulit dan kotoran yang masih bercampur dengan kacang kedelai / menempel;
5. Pemisahan limbah kulit kedelai.

**III. PROSES PENCUCIAN**

- a. Kedelai dicuci dalam drum dengan kapasitas 30 kg / drum, kemudian dicuci sampai bersih selama  $\pm 30$  menit dengan empat kali proses pencucian;
- b. Proses ulang pembuangan kulit yang masih menempel pada kacang kedelai dengan cara disaring.

**IV. PROSES PEMASAKAN**

- a. Pemeriksaan kondisi kacang kedelai, layak tidaknya untuk direbus;
- b. Kedelai yang sudah layak dimasukkan ke dalam ketel dengan kapasitas maksimal 90 Kg / ketel dengan volume air 400 lt dan dengan suhu  $20^{\circ}$  sampai dengan  $100^{\circ}$  C.
- c. Kedelai dipanaskan atau direbus selama  $\pm 1$  jam / ketel sampai kedelai tersebut layak untuk dioven.

**V. PROSES PENGOVENAN**

- a. Loyang yang akan dipakai dibersihkan dengan air mendidih selama  $\pm 15$  menit;
- b. Kedelai dimasukkan pada loyang  $\pm 5$  Kg / loyang ukuran loyang 190 cm x 90 cm x 6 cm dengan isi loyang maksimal 30 Kg;



## PD. MANDALA 525

### Kedelai Bubuk Instant MDL-525

Jl. Guntur Melati Kel. Haurpanggung Tarogong Kidul Garut - 44151  
Tlp. (0262) 234424 - Fax (0262) 234945 / (0262) 231478

- e. Selama kedelai dioven dilakukan penyortiran / pemilihan ulang untuk menjaga ke higienisan kedelai tersebut;
- f. Kedelai yang sudah dioven dimasukkan pada loyang pendingin sampai kondisi kedelai benar-benar kering.

#### VI. PROSES PENGGILINGAN HALUS

Kedelai kering yang sudah dioven kemudian digiling sampai kondisi kedelai menjadi serbuk halus, kemudian dimasukkan ke dalam drum dengan berat  $\pm$  20 Kg / drum.

#### VII. PROSES PENGEMASAN

Kedelai yang sudah digiling halus kemudian dikemas dengan menggunakan kemasan aluminium foil yang berukuran  $\pm$  22 cm dengan berat bersih (netto) 200 gram s.d 205 gram.

#### VIII. PROSES PENGEPAKAN (PACKING)

- a. Kedelai yang sudah dikemas kemudian dipack ke dalam dus pcs yang berukuran 9 cm  $\times$  16 cm  $\times$  4,5 cm;
- b. Penempelan hologram / segel MDL-525;
- c. Dimasukkan ke dalam dus luar (inner) yang berukuran 29,3 cm  $\times$  16,7 cm  $\times$  16,4 cm;
- d. Dimasukkan ke dalam dus gros (ekspedisi) dengan ukuran 60,5 cm  $\times$  60,5 cm  $\times$  34,5 cm.

Keterangan :

Dengan hitungan bahan baku dari per satu kilogram kedelai menjadi tiga kemasan (3 pack  $\times$  200 gram).

Mengetahui :

Direktur

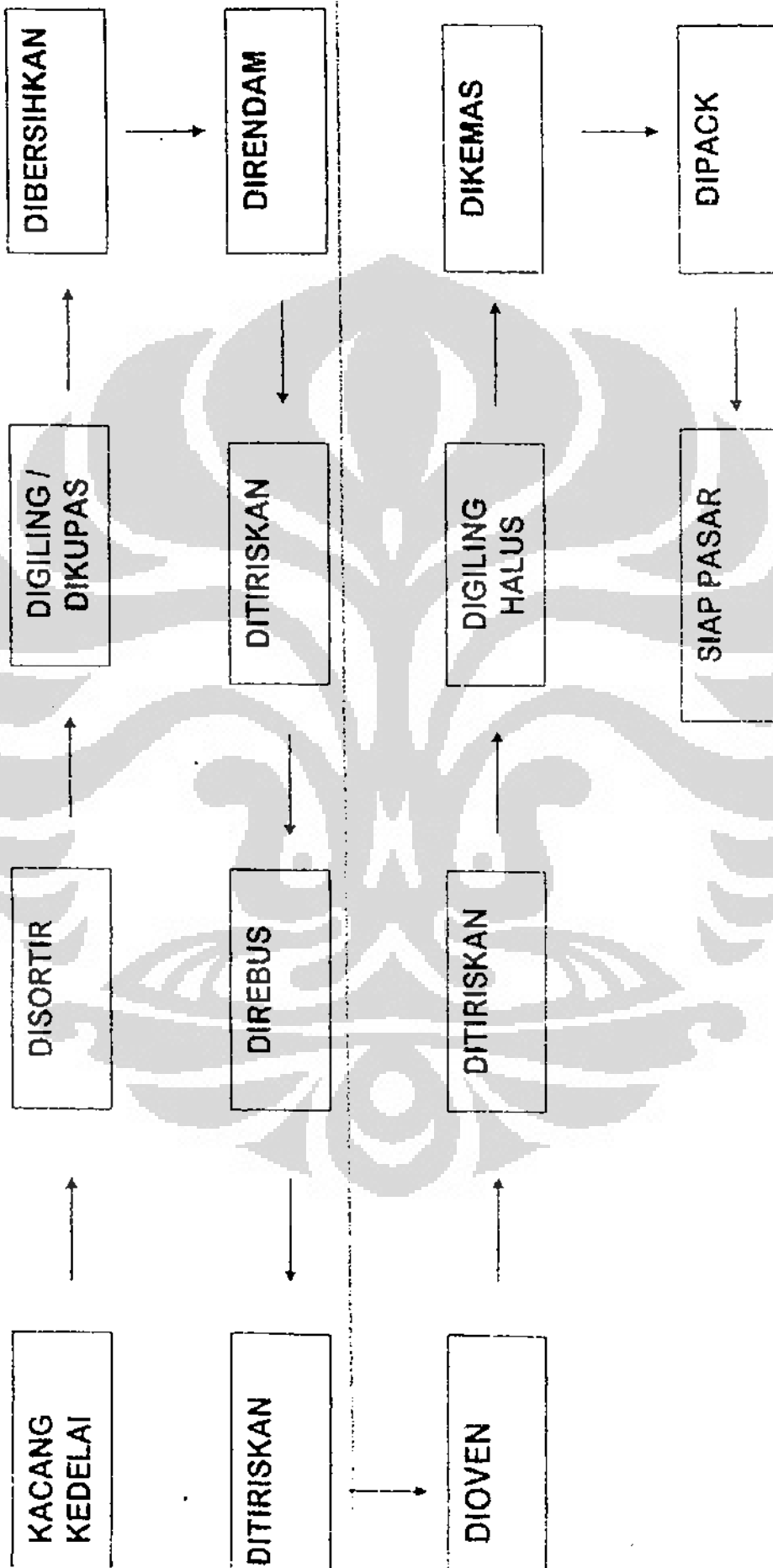


H. Nia Kusuma

Kepala Produksi

Ir. Beben Musthafa

# ALUR / ALUR PROSES PRODUKSI KEDELAI BUBUK INSTANT MDL - 525



Mengetahui :



Kepala Produksi,

PT. BINA MANDIRI

Manuscript

## THE EFFECT OF SUPPLEMENTATION SOY POWDER-MILK ON MALONDIALDEHYDE LEVEL OF HYPERCHOLESTEROLEMIC PERIMENOPAUSE WOMEN

Christina Olly Lada, Inge Permadhi, Ani Retno Prijanti

### ABSTRACT

**Objective:** To investigate the effect of soy powder-milk supplementation 2 x 30 g/day for eight weeks toward lipid peroxidation which is measured by the level of malondialdehyde in perimenopause women with hypercholesterolemia.

**Method:** One group pre-post test design study on 21 perimenopause women with hypercholesterolemia, who were fit the study criteria. Subjects started to consume 2x30g soy powder-milk everyday within eight week period. Data that were taken include: demographic, anthropometric, nutrition intake, isoflavone, antioxidant, pattern of isoflavone intake and antioxidant. The laboratory data included level of LDL cholesterol and malondialdehyde serum before and after 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week of supplementation period. Statistical tests that were used was paired t-test if normal distribution and *Wilcoxon* for not normal distribution with significance level of  $p < 0,05$ .

**Results:** Nineteen subjects completed the study; two subjects drop out. Most subjects had a low educational background, mean at 49.15 years old and had BMI classified as "risk." The subjects' calorie intake before supplementation was low, however after the fourth and eighth week of supplementation was regarded as sufficient. Subjects' intake pattern and daily intake of isoflavone were sufficient and during supplementation were increase. While the intake pattern and daily intake of antioxidant subjects before and during supplementation were low. The subjects' mean level of LDL cholesterol before the supplementation was  $134,32 \pm 23,70$  mg/dl. After four and eight week supplementation it was decrease considerably at  $120,79 \pm 21,30$  and  $122,68 \pm 20,95$  mg/dL, which was still considered as high level. The subjects' mean level of MDA serum before supplementation was  $0,82 \pm 0,47$  nmol/mL. After four and eight week of supplementation level of MDA serum was increase consecutively at  $0,98 \pm 0,26$  nmol/ml ( $p = 0,16$ ) and  $1,13 \pm 0,40$  nmol/ml ( $p = 0,023$ ). Several factors that might cause the increase were subjects' age, menopausal status, and BMI, MDA biomarker, bioavailability and characteristics of isoflavone and antioxidant intake.

**Conclusion:** Supplementation of soy powder-milk every day did not decrease malondialdehyde level in perimenopausal women with hypercholesterolemia. The other factors which influence the level of MDA were considered.

**Key words:** hypercholesterolemia, perimenopase women, soy powder-milk, lipid peroxidation, malondialdehyde

## INTRODUCTION

The increase of life expectancy in Indonesia results in the increased of the number of perimenopause women and consequently the prevalence of degenerative disease was also increase.

One of the causes of degenerative disease is oxidative stress which affected of imbalance between free radicals and antioxidants. Oxidative stress could be happened in lipid and the process called lipid peroxidation in membrane cell or LDL-cholesterol. Lipid peroxidation on membrane cell induced cell damage and produced oxidized LDL-cholesterol that induced atherosclerotic lesion. Lipid peroxidation.

The evidence shows that the supplementation of antioxidants could decrease lipid peroxidation. One of the polyphenolic compounds which had an antioxidant effect was isoflavone. The in vitro study previously proved the effect of antioxidant isoflavone, but in vitro study still controversial.

The chemical form of antioxidant isoflavon is isoflavone aglycone (unconjugated isoflavone). The isoflavone bioavailability depend on gut's micro flora, eating habits, gaster acid, transit time and age.

## SUBJECTS AND METHODS

### Subjects

The subjects were perimenopause women aged 45-55 years old with hypercholesterolemia in a range for cholesterol total 200-239 mg/dL who were recruited from women community in the public such as *PKK* group, *arisan* and women group of the church or mosque. Subjects were screened on following selection criteria: BMI 18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>, not using HRT, not a smoker, absence of hypertension, diabetes mellitus, renal diseases, liver diseases, cardiovascular diseases, stroke, osteoarthritis or cancer, not taking medications that affect lipid metabolism, not consumed supplementation such as vitamin C, E and beta carotene.

There were 21 subjects meet research criteria. After one week run-in period, subjects were received 2x30 g/day soy powder-milk for eight weeks. The study proposal was approved by The Ethics Committee of the Faculty of Medicine University of Indonesia. All subjects received both written and oral information regarding the studi and gave their written consent.

### Methods

#### Study design

The one group pre-post test design study used to investigate the effects of soy powder-milk on malondialdehyde level of perimenopause women with hypercholesterolemia. The investigation was done at the Clinical Nutrition Department of Faculty of medicine, University of Indonesia at Salemba 6, Jakarta from November 2007 to April 2008.

### Interview

Data obtained through interview using questionnaires, including age of subjects, background of formal education, daily intake of calorie, fat, cholesterol, vitamin E, beta carotene, vitamin C and isoflavone and the pattern intake of vitamin E, beta carotene, vitamin C and isoflavone which collected before and along supplementation period.

### Anthropometric measurement

Subjects BMI data were counted by the calculation of mean data of weight and height were measure twice. The measurements were collected before supplementation and every two weeks of supplementation period.

### Laboratory measurement

All measurements were done and venous blood samples were obtained after 12 h overnight fast by using standardized methods. The measurement of Cholesterol LDL and malondialdehyde level were colleted before and after 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup> weeks of supplementation period.

### Statistical analysis

All statistical analysis were performed with SPSS for windows 11.5 statistics program. Data were expressed as the mean  $\pm$  SD for normal distribution and median (minimum-maximum) for not normal distribution. The normality of variables distribution was checked by *Shapiro-Wilk* test. Two-tailed paired *t* test or *Wilcoxon* were use to compared before and after mean of malondialdehyde level. The power of this study was 0.90 and probability for type I error  $\alpha=0,05$ .

## RESULTS

### Subjects

There were 21 subjects submitted into the study, 19 subjects completed the study period and 2 subjects were excluded.

Table 1 shows the characteristic of subjects. The mean of subjects age was 49,15 and the majority of educational background is low (52,64%).

Table 1. Characteristic of subjects

Variable	Before Supplementation (n=19)
Age (years)	49,15 $\pm$ 2,98
Age category; n (%)	
45-49 years	8 (42,1)
50-55 years	11 (57,9)
Educational level; n (%)	
Low	10 (52,64)
Moderate	6 (31,57)
High	3 (15,79)

Table 2 shows the characteristic of BMI subjects before supplementation and after 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week of supplementation period. The mean of BMI subjects before supplementation was 23,66 kg/m<sup>2</sup> which is categorized in overweight at risk according to WHO-WPRO (2000).

Table 2. Subject's BMI before and after supplementation period

Variable	Supplementation period		
	0 <sup>#</sup> (n=19)	IV <sup>##</sup> (n=19)	VIII <sup>###</sup> (n=19)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,66 ± 3,58	23,77 ± 3,63	23,69 ± 3,58
Category of BMI (kg/m <sup>2</sup> )*; n (%)			
Normal (18,5-22,9)	8 (42,1)	9 (47,4)	9 (47,4)
At Risk (23-24,9)	3 (15,8)	1 (5,2)	2 (10,5)
Obese I (25-29,9)	8 (42,1)	9 (47,4)	8 (42,1)

<sup>#</sup> Before supplementation, <sup>##</sup> after 4<sup>th</sup> week of supplementation period, <sup>###</sup> After 8<sup>th</sup> week of supplementation period

\* Based on WH-WPRO for Asia-Pacific

After 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week of supplementation period the mean of BMI did not change dramatically and the BMI's categorized was same as before supplementation.

#### Nutrient intake

The data of nutrient intake was about calorie, fat and cholesterol daily intake, which collected by using food recall 1x24 hours and analyzed by using Nutri Survey 2005. The data's were shown in table 3.

Table 3. Daily nutrient intake before and after supplementation period

Nutrient intake	Supplementation period		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
<b>Calorie :</b>			
TCR (kcal)	1518,63 ± 166,10	1520,71 ± 166,81	1518,65 ± 164,57
Daily intake (kcal)	920,38 ± 299,73	1562,44 ± 273,54	1558,74 ± 315,54
% intake to TCR	61,36 ± 22,63	104,08 ± 22,29	104,46 ± 26,38
Daily intake interpretation; n(%)			
Low	15 (78,90)	3 (15,80)	9 (47,40)
Sufficient	4 (21,10)	11 (57,90)	8 (42,10)
High	0 (0)	5 (26,30)	2 (10,50)
<b>Fat:</b>			
Daily intake (g)	34,73 ± 16,82	30,50 ± 10,29	35,75 ± 14,76
% intake to TCR	20,69 ± 10,45	18,15 ± 6,00	21,67 ± 9,83
Daily intake interpretation; n(%)			
Low	10 (52,60)	10 (53)	10 (53)
Sufficient	4 (21,10)	7 (37)	3 (16)
High	5 (26,30)	2 (10)	6 (31)
<b>Cholesterol:</b>			
Daily intake (mg)	127 (10 - 631,10)*	154,67 ± 82,75	171,93 ± 100,69
Daily intake interpretation ; n(%)			
Sufficient	12 (63,20)	14 (74)	11 (58)
High	7 (36,80)	5 (26)	8 (42)

TCR: Total calorie requirement, Daily intake interpretation categorized based on NCEP-ATP III



Calorie daily intake before supplementation were 61,36% of TCR which is low according to AKG in Indonesia but after supplementation period the daily intake was increase to 104,08 and 104,46% of TCR. The fat daily intake was similar before and after supplementation period and categorized in sufficient. Daily intake of cholesterol before and after 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup> week of supplementation period were sufficient according to the suggested in NCEP-ATP III.

#### Antioxidant daily intake

The data's of antioxidant daily intake were presented as daily intake of isoflavone, vitamin E, beta carotene and vitamin C were collected from food recall 1x24 hours of food intake.

Table 4. Daily intake of antioxidant in nutrient before and after supplementation period

Antioxidants daily intake	Supplementation period		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
<b>Isoflavone</b>			
Isoflavone intake (mg)	46,36 ± 19,94	110,82 ± 12,60	111,87 ± 11,72
<b>Vitamin E</b>			
Vitamin E intake (mg)	1,8 (0,3 – 4,5)*	3,64 ± 0,97	3,67 ± 1,36
Interpretation; n(%)			
Low	21 (100)	19 (100)	19 (100)
<b>Beta carotene</b>			
Beta carotene intake (mg)	0,30 (0,10 – 3,4)	0,50 (0,10-3,5)	0,81 ± 0,53
Interpretation(%)			
Low	21 (100)	19 (100)	19 (100)
<b>Vitamin C</b>			
Vitamin C intake(mg)	48,93 ± 31,67	78,50 ± 43,32	68,28 ± 34,27
Interpretation(%)			
Low	16 (84,2)	8 (42)	12 (63)
Sufficient	3 (15,8)	11 (58)	7 (37)

\* The mean ± SD: 2,22 ± 1,43 mg/day

The daily intakes of antioxidants were commonly low before and after supplementation except for isoflavone daily intake which categorized sufficient before supplementation period, after supplementation period it was increased because of soy powder-milk supplement.

#### Cholesterol and malondialdehyde level

Table 5 shows the level of cholesterol and malondialdehyde before and after supplementation period.

Table 5. Cholesterol and malondialdehyde level before and after supplementation period

Variable	Supplementation period		
	0 (n=19)	IV (n=19)	VIII (n=19)
LDL cholesterol (mg/dL)	134,32 ± 23,70	120,79 ± 21,30	122,68 ± 20,95
Serum MDA (nmol/mL)	0,67 (0,18 -1,93) 0,82 ± 0,47	0,98 ± 0,26	1,13 ± 0,40
Serum MDA p* value	-	TB	B
Perbedaan (nmol/mL)	-	0,15 ± 0,47	0.31 ± 0.54
Persentase (%)	-	27,41 (-51,30 - 461,11)	32,83 (-33,93-794,44)

\* Wilcoxon test

The level of LDL cholesterol was decreased after supplementation period although the level of LDL cholesterol before and after supplementation similarly above the safe level of LDL cholesterol which is recommendation by NCEP-ATP III.

The data show that there were increased of MDA level after supplementation period, and the increased was significant after 8th week of supplementation. The raised of MDA level were 27,41 and 32,83% after 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week of supplementation period.

## DISCUSSION

From the baseline data of subjects characteristic the data's shows that the subjects were categorized in high risk of oxidative stress because of the menopausal status and increased of aged and BMI. Halliwell and Guteridge (2007) informed that the individu who had gained of body weight would increase the fat cells that caused raised of cytokine released so that would increase oxidative stress. On the other side, decreased of estrogen level in perimenopausal women would raised the number of fat cells, then cytokine released would increased and the oxidative stress would increased.

Intake of one single high dose of antioxidant did not have enough benefit to decrease lipid peroxidation, but the intake of few antioxidants as RDA would do good to decrease oxidative stress. Subjects' antioxidant daily intake such as vitamin E, beta carotene and vitamin C were low, except daily intake of isoflavone were increase after supplementation period.

The level of LDL cholesterol was decrease after supplementation period. The caused of the declined were unknown whether because of change of daily intake of calorie, fat and cholesterol or because of high intake of soy powder-milk in supplementation periods. This study was a one group pre-post tests design which

is did not have a control group, and the confounding factor can not be detected. Nevertheless seems that determinant of food intake was diminutive, because of the daily intake of nutrient before and after supplementation period seems did not change dramatically, then the percent intake to TCR were sufficient. So the decline of the LDL cholesterol after supplementation period was might possibly because of the intake of 2x30g soy powder-milk every day. There is so many content of variety component in soybean which has hypocholesterolemic effect, such as fiber, soy protein, PUFA and isoflavone. The possibility of Hawthorn effect could not be ruined.

The increased of malondialdehyde level after supplementation period perhaps because of few things. The other study to investigate the effect of soy due to lipid peroxidation found improved of MDA level after supplementation period. The other studies with similar results were Vega Lopez et al (2005) found the improved of MDA level was about 10% after supplementation and Wisemann et al (2000) was improved 6%. Vega Lopez et al (2005) assumed the improved influence by the aged-of the subjects, isoflavone plasma level were low and high cholesterol level of the subjects. Wisemann et al (2000) considered that the improved of MDA level was bease of the biomarker was not enough sensitive for their normolipidemic subjects, it was more benefit for clinical study such as hyperlipidemia subjects

The results of this study may be influenced by the characteristic of the subjects were vulnerable for oxidative stress, the other factors were the biomarker, bioavaialability of isoflavone, the characteristic of antioxidant isoflavone and daily intake of the other antioxidants.

#### **MDA as biomarker**

MDA level was measured by thiobarbituric acid assay, Morrow et al (1995). MDA was the parameter of lipid peroxides which less sensitive because apart from MDA, other substances such as carbohydrate, amino acid, aldehyda and peroxides could be detected by TBAR test, which increase the measurement of MDA level.

Other possibility was the circadian of the body but it was anticipated by adjusting the same timing for the blood sample, both before the supplementation and also on the fourth week and eight week of the supplementation.

#### **Unconjugated isoflavone as antioxidant**

The antioxidant effect of isoflavone was only found in unconjugated form, whether Halliwell (2006) found that the level of unconjugated isoflavone was under 1  $\mu\text{mol/L}$ , on the other hand, study in vitro showed that the effect of antioxidant isoflavone inside the plasma is too small to prevent lipid peroxides. According to Halliwell (2006) polyphenol which has an effect as antioxidant was used up in the guts which was formed ROS from enterocytes metabolism as well as those that got in with food/drinks.

### **Isoflavon characteristic factors**

On this study, isoflavone intakes during supplementation period was thought could reduce lipid peroxides level on the subjects, however the result of examination on MDA serum level indicated an increase during the supplementation period, which suspected the increase of peroxides lipid. Few reasons that may cause this includes the decrease of isoflavone bioavailability caused by the decrease of flora normal usus which mostly take place on middle-age subjects. It is known that isoflavone available on food was glycol isoflavone which was on conjugated form that could not be absorbed. Gut's micro flora would help to change glycone isoflavone to be aglycone form which was easier to be absorbed. The role of Gut's micro flora was significant in order to increase the soy isoflavone bioavailability.

The second factor was related to isoflavone's half-life in the circulation of blood. Isoflavone had 6 to 8 hours half-life, therefore the isoflavone intakes should be given 3-4 times a day in order to maintain its level in the blood remain high. On this study the intakes was only given twice a day; perhaps the frequency of intakes need to be increased to get an optimum result, as suggested by Cassidy and Pascual-Teresa (2005).

### **Supplementation factor**

On this study the isoflavone antioxidant effect was expected to be seen, however one of the weaknesses of this study was the absence of isoflavone level on soy powder, which posed the possibility of damage on the supplements. However, this possibility was dismissed because study conducted by Coward (1998) showed that isoflavone on soy and its generative (powder, milk, fermentation, etc) would be broken if it was processed by deep fried or grilled directly on top of the fire.<sup>89</sup> Other processes such as fermentation, dihaluskan, grilling and boiling would only alter the composition of isoflavone format from glycone to be an aglycone. Thus the possibility of a decrease on total isoflavone in the supplementation given to subject was very low.

Other factor that may cause the increase of subjects' MDA level after the supplementation was the existence of substances that could act as free-radicals or pro-oxidant inside the supplementation that influence the balance of antioxidant-free radicals. Perhaps the substances on the intakes is small in quantity but had accumulation effect, which was shown by the average level of MDA after the fourth and eight week which subsequently was  $0,98 \pm 0,26$  nmol/mL ( $p = 0,16$ ) and  $1,13 \pm 0,40$  nmol/mL ( $p = 0,023$ ).

It was possible the substance was cyclamate inside the supplementation as little as 1 g/kg soy powder. If subject consumed 60 gram/day soy powder-milk, then cyclamate which was carried on was 0,6 mg/day. Even though the subjects' consumption of Cyclamate was very low according to DRI of European Committee (0-0,7 mg/bw). Cyclamate commonly used as sweetener to replace sugar, because of its cheaper price that gave advantage to the industry; secondly it has no calories, which then commonly named as "diet-sugar" especially for those with certain illnesses and had to control calorie intakes, thus the use of cyclamate considered as "good" for the health. The body did not absorb cyclamate, but it would be altered by guts flora inside the lumen to become cyclohexilamine that could be absorbed by the body and has some toxic traits. On animals

accumulating effect that carcinogenic could be observed. The interaction possibility in supplementation form between cyclamate and the other nutrient can not be eliminating. Further study needs to be conducted in order to find cyclamate interaction. In conclusion: the supplementation of soy powder-milk 2x30 g/day did not decrease malondialdehyde level in perimenopausal women with hypercholesterolemia

#### REFERENCES

1. Statistik Indonesia. Diunduh dari <http://www.bps.go.id/>. Diakses pada tanggal 10 November 2007
2. Prior JC. Perimenopause: The Complex Endocrinology of the Menopausal Transition. *Endocrine Reviews* 1998;19:397-428
3. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology And Medicine*. 4<sup>th</sup> Ed. New York: Oxford University Press; 2007
4. Pujol TJ, Tucker JE. Diseases of the Cardiovascular System dalam *Nutrition Therapy and Pathophysiology*. Nelms M, Sucher K, Long S; editor. California, USA: Thomson Brooks;2007. hal 371-420
5. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Metabolisme Oksigen dan Toksisitas Oksigen dalam *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta:EGC; 2000. hal, 321-34
6. National Cholesterol Education Program (NCEP). Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adult (Adult Treatment Panel III) 1998. Diunduh dari <http://www.NCEP.com>. Diakses pada tanggal 8 November 2007
7. Tikkanen MJ, Wahala K, Ojala S, Vihma V, Adlercreutz H. Effect of Soybean Phytoestrogen Intake on Low-density Lipoprotein Oxidation Resistance. *Proc Natl Acad Sci*. 1998; 95:3106-10
8. Steinberg FM, Guthrie NL, Villablanca AC, Kumar K, Murray MJ. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2003;78:123-30
9. Zhuo X, Melby M K, Watanabe S. Soy Isoflavones and Health dalam *Phytoestrogen in Functional Foods*. Yildiz F editor. Florida,USA:Taylor and Francis;2006. hal 243-57
10. Vega-Lopez S, Yeum K, Lecker JL, Ausman LM, Johnson EJ, Devaraj S, dkk. Plasma Antioxidant Capacity in Response to Diets High in Soy or Animal Protein with or without Isoflavones. *Am J Clin Nut*. 2005; 81: 43-8

11. Perkeni (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia). Penatalaksanaan dislipidemia. Buku petunjuk penatalaksanaan dislipidemia, 2005.
12. Rolfes SR, Pinna K, Whitney E. Life Cycle Nutrition: Adulthood and the Later Years dalam *Understanding Normal and Clinical Nutrition*. 7<sup>th</sup> ed. USA: Thomson Wadsworth; 2006. hal.553-73
13. USDA-Iowa State University. Database on the Isoflavone Content of Foods. Diunduh dari: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isoflav.html>. Pada tanggal: 28 November 2007
14. Cassidy A, Pascual-Teresa S, Rimbach G. Molecular Mechanism by which Dietary Isoflavones Potentially Prevent Atherosclerosis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2003. Diunduh dari <http://www.expertreviews.org/>. Diakses tanggal 29/01/ 2008
15. COT Working Group on Phytoestrogen. "Phytoestrogen". Diakses pada tanggal 23 Maret 2008. Diunduh dari <http://www.foodstandards.gov.u>
16. Hendrich S, Murphy PA. Isoflavone: Source and Metabolism dalam *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, Wildman REC, editor. 2<sup>nd</sup> ed. United State of America: Tailor & Francis Group; 2007. hal.23-54.
17. Gultekin E, Yildiz F. Introduction to Phytoestrogen dalam *Phytoestrogen in Funtional Food*. Yildiz F, editor. USA: Taylor and Francis; 2006. hal.3-17.
18. Pattel RP, Boersma BJ, Crawford JH, Hogg N, Kirk M, Kalyanaraman B, dkk. Antioxidant Mechanisms of Isoflavones in Lipid Systems: Paradoxical Effects of Peroxyl Radical Scavenging. *Free Radic Biol Med*. 2001;31:1570-81
19. Jenkins DJA, Kendall CWC, Jackson CC, Connelly PW, Parker T, Faulkner D, dkk. Effect of High- and Low-isoflavone Soyfoods on Blood Lipids, Oxidized LDL, Homocysteine, and Blood Pressure in Hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr*. 2002;76: 365-72
20. Communication and Educational Technology Services (CETS). Soybean Growth and Development, Soybean Growth and Development & Management Information for Replant Decisions, Produced by Communication and Educational Technology Services, University of Minnesota Extension, Reviewed 1998. Diunduh dari <http://www.extension.umn.edu-distribution-cropsystems-images-5701f01.gif.mht>. Diakses tgl 19 desember 2007
21. Institute of medicine. *Dietary Reference Intakes for vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. Washington DC: National Academy Press; 2000. hal: 325-80

22. Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*; Ed 2. Jakarta: Sagung Seto; 2006.
23. WHO-WPRO. The Asia-Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. Health Communications Australia Pte. Limited. (2000). Diunduh dari [http://www.diabetes.com.au/pdf/obesity\\_report.pdf](http://www.diabetes.com.au/pdf/obesity_report.pdf) (diakses tanggal 25 Juni 2006).
24. Block G, Dietrich M, Norko EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, Packer L. Factors Associated with Oxidative Stress in Human Populations. *Am J Epidemiol* 2002;156:274-85
25. Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, dkk. Isoflavone Phytoestrogen consumed in Soy Decrease F2-isoprostane Concentrations and Increase Resistance of Low-density Lipoprotein to Oxidation in Humans. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 395-400
26. Surono IS. Probiotik Susu fermentasi dan kesehatan. 2004. PT Tri Cipta Karya. Jakarta. Hal 180-200
27. Halliwell B, Rafter J, Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherol, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr* 2005;81:268s-76s
28. Jialal I, Devaraj S. Low density lipoprotein-oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chemistry* 1996; 42: 498-506
29. Coward L, Smith M, Kirk M, Barnes S. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. *Am J Clin Nutr* 1998;68: 1486-91.
30. Halliwell B. Dietary polyphenol: Good, bad, or indifferent for your health?. *European J Cardiores* 2006;73:341-7.
31. Halliwell B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovascular Research* 2000;47:410-8
32. Cassidy A, Pascual-Teresa SD. Dietary Isoflavones and Coronary Artery Disease-Proposed Molecular Mechanism of Action dalam *Nutrogenomic*. Rimbach G, Fuchs J, Packer L; eds. 2005, CRC Press, Florida. Hal 301-26
33. European Commission. Revised Opinion on Cyclamic Acid and Its Sodium and Calcium Salts. Scientific Committee on Food 2000;SCF/CS/EDUL/192 final:1-8

**DAFTAR RIWAYAT HIDUP**

Nama : Dr. Christina Olly Lada  
Tempat/tanggal lahir : Kupang, 8 April 1972  
Agama : Kristen Protestan  
Status perkawinan : Kawin  
Nama suami : Enrico Imanuel Polla, SE  
Nama anak : 1. Marvel Abysha  
2. Magna Gabriel  
Riwayat Pendidikan : Lulus Fakultas Kedokteran Universitas Kristen  
Indonesia, Jakarta, Tahun 2000  
Riwayat Pekerjaan : 1998-1999: Dokter sukarelawan di pengungsian Timor  
Barat, NTT pasca disintergrasi Timor Leste bersama  
LSM Obor Berkat Indonesia dan *Christian Children  
Fund*.  
2000-2002: *Medical Analist Department Claim Asuransi*  
Sinar Mas, Jakarta  
2002-2004: Dokter PTT di Puskesmas Oebobo, Kupang-  
NTT  
2004-Sekarang: Dosen FKM Universitas Nusa Cendana-  
NTT  
Organisasi : Anggota IDI-Kupang  
Anggota Muda PDGMI