

**MAKALAH
PENGEMBANGAN PANGAN FUNGSIONAL**

**TAHU SUTRA,
MAKANAN BERGIZI DENGAN ISOFLAVON
YANG TINGGI**

BIDANG ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN

Oleh

RIZKI MARYAM ASTUTI (NIRD: 9121000315)



**Universitas Bakrie
Kampus Kuningan Kawasan Epicentrum
Jl. HR Rasuna Said Kav. C-22, Jakarta, 12920**

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kacang kedelai merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Disamping bernilai gizi tinggi, para peneliti menemukan bahwa kedelai mempunyai banyak efek yang menguntungkan bagi kesehatan. Oleh karena itu, pada bulan Oktober 1999, US FDA menyetujui klaim kesehatan yang menyatakan bahwa konsumsi 25 gram protein kedelai, sebagai bagian dari diet rendah lemak jenuh dan kolesterol, dapat mengurangi resiko penyakit jantung, yang merupakan penyebab kematian nomor satu di berbagai negara maju. Selain protein, kedelai juga mengandung senyawa bioaktif lain yaitu isoflavon. Isoflavon termasuk salah satu jenis senyawa polifenol, dan bersifat sebagai fitoestrogen karena kemampuannya berinteraksi dengan reseptor estrogen pada sel. Berdasarkan studi dari banyak peneliti tentang isoflavon kedelai, saat ini kedelai dikembangkan sebagai pangan fungsional, yaitu suatu bahan pangan yang mengandung komponen bioaktif tertentu yang secara ilmiah telah terbukti bermanfaat bagi kesehatan.

Para peneliti telah menemukan bahwa isoflavon yang terdapat dalam kedelai dapat menurunkan kadar kolesterol dan menghambat oksidasi LDL, sehingga konsumsi produk kedelai dapat mencegah terjadinya penyakit atherosklerosis (Yousef, *et al.*, 2004). Selain itu, kemampuan isoflavon untuk berikatan dengan reseptor estrogen dapat mencegah timbulnya gejala menopause pada saat kadar estrogen tubuh berkurang. Sebaliknya, pada saat kadar estrogen tubuh berlebih, ikatan isoflavon dengan reseptor dapat menekan kerja estrogen sehingga menurunkan resiko kanker payudara (Lissin dan Cooke, 2000). Aktivitas lain dari isoflavon adalah sebagai antioksidan. Kemampuan isoflavon untuk menangkap radikal yang dapat menyebabkan oksidasi LDL, tidak hanya dapat mencegah penyakit atherosklerosis, tetapi juga dapat mencegah penyakit kanker lainnya seperti kanker lambung, kanker prostat, dan kanker paru-paru (Dixon dan Ferreira, 2002). Pentingnya isoflavon dalam mencegah berbagai penyakit

degeneratif membuat kedelai menjadi salah satu bahan pangan yang pantas untuk dikembangkan.

Pada dasarnya, kedelai sudah banyak diolah menjadi berbagai produk, diantaranya adalah tahu, tempe, susu kedelai, kembang tahu, dan lain-lain. Namun, kandungan isoflavon pada produk-produk tersebut jumlahnya berkurang akibat proses pengolahan. Selain itu, isoflavon yang ada masih berada dalam bentuk terglisosilasi yang tidak mudah diserap oleh tubuh, kecuali pada tempe. Isoflavon yang ada dalam tempe sudah terhidrolisis menjadi aglikon yang mudah diserap di dalam usus, tetapi pada umumnya konsumsi tempe tidak terlalu banyak karena hanya berfungsi sebagai lauk pauk pada nasi.

Produk olahan lain yang menarik untuk diperhatikan adalah susu kedelai. Dibanding produk lain, susu kedelai mengandung nilai gizi yang lebih banyak. Hal ini disebabkan susu kedelai dibuat dari air ekstrak kedelai yang digiling halus, sehingga kemungkinan adanya zat gizi yang terbuang sangat kecil. Namun demikian, isoflavon yang terkandung dalam susu kedelai masih dalam bentuk terglisosilasi. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode untuk mengkonversi isoflavon dalam susu kedelai menjadi bentuk aglikonnya. Pembuatan produk makanan dengan isoflavon yang tinggi merupakan konsep yang harus diterapkan dalam pengembangan pangan fungsional berbasis kedelai agar isoflavon yang terkandung didalamnya dapat dimanfaatkan secara maksimal.

Masalah lain terkait dengan susu kedelai adalah ketidaktertarikan masyarakat Indonesia untuk mengkonsumsi produk ini. Oleh karena itu, pengembangan produk berbasis susu kedelai termodifikasi, seperti tahu sutra yang akan dijelaskan dalam makalah ini, merupakan salah satu alternatif untuk menciptakan makanan sehat sekaligus bergengsi di tengah-tengah masyarakatnya sendiri.

Tujuan

Makalah ini bertujuan untuk mendesain suatu penelitian pengembangan produk yang berbasis susu kedelai tinggi isoflavon (tahu sutra) dengan modifikasi metode yang diambil dari beberapa jurnal yang sudah dipublikasikan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kedelai

Kedelai adalah salah satu tanaman polong-polongan yang banyak digunakan sebagai bahan dasar berbagai jenis makanan di Asia Timur seperti kecap, tahu dan tempe. Kedelai yang dibudidayakan terdiri dari dua spesies, yaitu *Glycine max* (disebut kedelai putih, dengan biji berwarna kuning, agak putih, atau hijau), dan *Glycine soja* (kedelai hitam, dengan biji yang berwarna hitam) (<http://id.wikipedia.org/wiki/Kedelai>). Kacang kedelai yang banyak digunakan untuk dibuat berbagai jenis makanan ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Kacang kedelai

Kacang kedelai kaya akan vitamin (vitamin A, E, K dan beberapa jenis vitamin B) dan mineral (K, Fe, Zn dan P). Beberapa produk dari kedelai utuh juga merupakan sumber serat makanan yang baik. Tabel 1. menunjukkan kandungan zat gizi dalam ekstrak kedelai jernih.

Tabel 1. Kandungan gizi ekstrak kedelai tersaring (jernih)

Komponen	Kandungan dalam 100 g ekstrak jernih kedelai
Energi	145 kJ (36 kkal)
Protein	3,2 g
Karbohidrat	3,0 g
Serat kasar	0,1 g

Lemak	1,5 g
Asam lemak tidak jenuh (PUFA)	Tinggi
Asam lemak jenuh	Rendah
Vitamin A	41,2 IU
Vitamin C	0 mg
Thiamin (B1)	0,05 mg
Riboflavin (B2)	0,03 mg
Sodium	21,6 mg
Potassium	133,4 mg
Kalsium	21,6 mg
Besi	1,2 mg

Sumber: eBook pangan 2006.

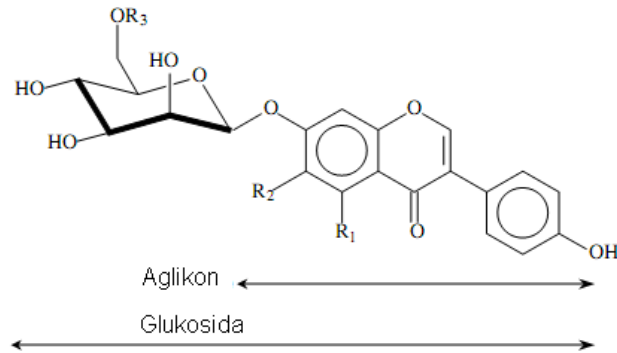
Selain zat-zat gizi di atas, kedelai mengandung senyawa bioaktif lain yang sangat bermanfaat bagi tubuh, yaitu isoflavon. Isoflavon termasuk senyawa polifenol, tahan panas, mempunyai aktifitas estrogen dan terdapat dalam jumlah yang tinggi dalam kedelai dan produk olahannya.

Telah banyak bukti ilmiah tentang manfaat kesehatan dari kedelai dan produk olahannya dalam hubungan dengan khasiatnya sebagai anti kanker, mencegah penyakit jantung, osteoporosis dan gejala monopouse. Manfaat kesehatan yang diperoleh dari konsumsi kedelai disebabkan oleh kandungan isoflavonnya yang berkisar antara 14-153 mg/100 g. Konsumsi isoflavon di Jepang diperkirakan 25-100 mg/hari, sementara wanita Cina mengkonsumsi 39 mg/hari. Sebaliknya, konsumsi isoflavon di Barat seperti Amerika Serikat lebih rendah, yaitu <1 mg/hari. Menurut FDA, konsumsi 25 g protein kedelai per hari sebagai bagian dari diet rendah lemak jenuh dan kolesterol dapat membantu mengurangi risiko penyakit jantung koroner dengan menurunkan kadar kolesterol darah (Safford, *et al.*, 2003).

B. Isoflavon

Isoflavon kedelai seringkali disebut sebagai fitoestrogen karena isoflavon mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan reseptor estrogen. Walaupun afinitas untuk binding dengan reseptor estrogen tersebut lemah, tetapi isoflavon mampu mencegah beberapa penyakit yang berhubungan dengan regulasi hormon estrogen. Struktur isoflavon dibentuk dari 3-fenilkroman sebagai kerangka dasarnya yang terhidroksilasi pada posisi 4 dan 7. Berdasarkan gugus yang terikat

Selain itu, glukosida isoflavon juga dapat mengalami reaksi esterifikasi pada posisi 6 (pada glukosa) dengan gugus asetil atau malonil membentuk asetildaidzin, asetilgenistin, asetilglisitin, malonildaidzin, malonilgenistin dan malonilglisitin (Penalvo, *et al.*, 2004). Perbedaan struktur kimia senyawa-senyawa tersebut digambarkan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Struktur ester dari glukosida isoflavon

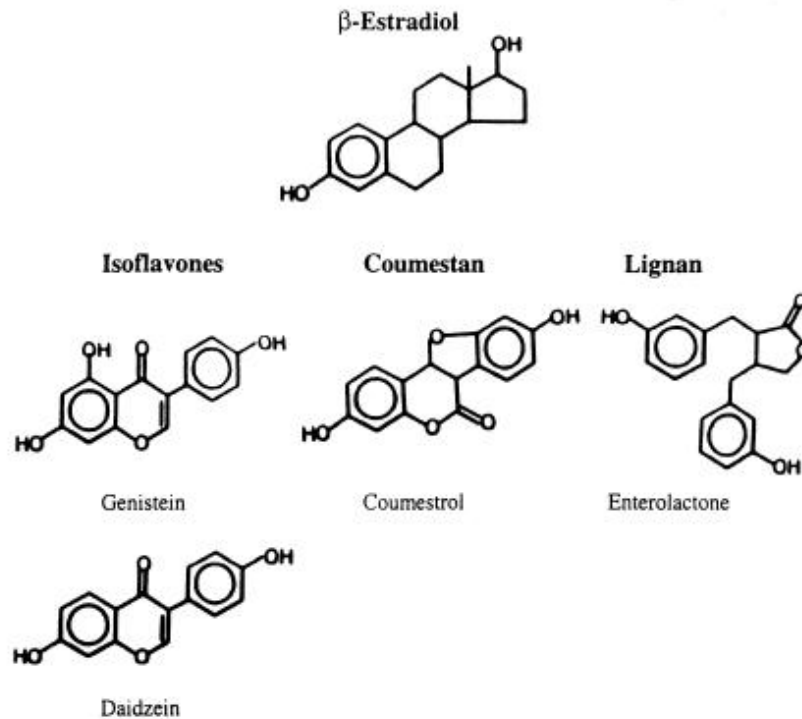
Nama	Singkatan	R1	R2	R3
6''-O-Asetildaidzin	Adin	H	H	COCH ₃
6''-O-Asetilgenistin	Agin	OH	H	COCH ₃
6''-O-Asetilglisitin	Aglyn	H	OCH ₃	COCH ₃
6''-O-Malonildaidzin	Mdin	H	H	COCH ₂ COOH
6''-O-Malonilgenistin	Mgin	OH	H	COCH ₂ COOH
6''-O-Malonilglisitin	Mglyn	H	OCH ₃	COCH ₂ COOH

Jika glukosida maupun ester glukosida isoflavon dihidrolisis, maka akan terbentuk monosakarida, asetil atau malonil, dan aglikon (daidzein, genistein dan glisitein). Isoflavon pada kedelai dan produk kedelai yang diolah tanpa fermentasi seperti susu kedelai berada dalam bentuk glukosidanya (Naim, *et al.* 1974), sedangkan produk kedelai yang difermentasi seperti tempe, mengandung isoflavon dalam bentuk aglikonnya (isoflavon yang tidak terkonjugasi) (Coward, *et al.*, 1993; Wang dan Murphy, 1994).

C. Isoflavon Sebagai Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa difenol yang memiliki struktur kimia yang mirip dengan estradiol. Terdapat beberapa tipe fitoestrogen, tetapi senyawa

fitoestrogen yang utama adalah isoflavon, lignan dan coumestan (Gambar 5). Sumber utama fitoestrogen adalah kacang kedelai, sereal, *flaxseed* sebagai sumber lignan, dan alfalfa sebagai sumber coumestan. Diantara ketiga fitoestrogen tersebut, penelitian lebih difokuskan pada isoflavon (Lissin dan Cooke, 2000).



Gambar 5. Senyawa-senyawa yang memiliki kemampuan sebagai fitoestrogen

Genistein dan daidzein merupakan isoflavon yang memiliki aktivitas paling tinggi sebagai fitoestrogen. Kedua senyawa ini mempunyai efek estrogenik, yaitu pada beberapa jaringan menunjukkan respon proestrogenik. Aktivitas estrogenik tergantung dari afinitas binding terhadap reseptor estrogen yang ditentukan oleh cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksi sebagai sisi aktifnya (Martucci dan Fishman, 1993).

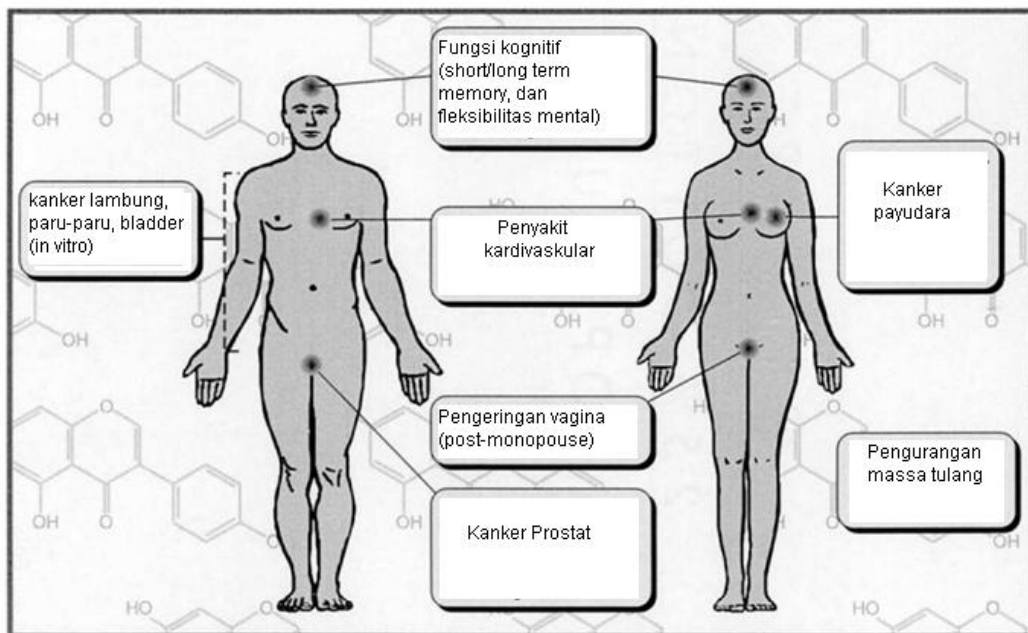
Dibandingkan dengan estradiol, genistein dan daidzein dapat berikatan dengan reseptor estrogen berturut-turut sebesar 100 dan 1000 kali lebih lemah. Namun demikian, genistein dan daidzein dapat dikonsumsi karena tetap memberikan efek fisiologis bagi tubuh. Selain efek estrogenik, kedua isoflavon kedelai juga memiliki efek antiestrogenik. Efek antiestrogenik adalah kemampuan genistein atau daidzein dalam mencegah estrogen untuk berikatan dengan reseptor

estrogen pada saat kadar hormon estrogen berlebihan. Pada kondisi ini, isoflavon bekerjasama dengan gonadotropin mencegah sintesis estrogen atau meningkatkan sintesis protein-estrogen (Lissin dan Cooke, 2000).

D. Manfaat Isoflavon Bagi Kesehatan

Diantara ketiga aglikon isoflavon, genistein dan daidzein merupakan isoflavon yang paling penting karena strukturnya mirip dengan estrogen (Kaldas and Hugh, 1989). Kemiripan struktur isoflavon dengan estrogen menyebabkan isoflavon mampu berikatan dengan reseptor estrogen ketika kadar estrogen di dalam tubuh menurun. Selain itu, isoflavon juga merupakan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan, meningkatkan eksresi cairan empedu, mengurangi kadar kolesterol tubuh, meningkatkan hormon tiroid, dan mengurangi rasio insulin-glukagon (Potter, 1998).

Dalam mencegah timbulnya beberapa penyakit, genistein memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibanding daidzein, diantaranya adalah mencegah penyakit kanker payudara, kanker prostat, kanker lambung, kanker paru-paru, kanker bladder, penyakit jantung, memperlambat gejala post-menopause, dan efek kesehatan lainnya (Dixon dan Ferreira, 2002).



Gambar 6. Beberapa target pencegahan penyakit oleh genistein

- ***Sebagai antioksidan dalam mencegah kanker***

Jika sistem antioksidan di dalam tubuh mengalami kerusakan, ROS (*Reactive Oxygen Species*) dapat menginisiasi proses oksidasi lipid dan kerusakan DNA sehingga bisa menyebabkan terjadinya mutasi sel yang dapat mengakibatkan kanker (Devi *et al.*, 2000). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh dapat menyerang sel apa saja yang ditemuinya pertama kali yang sesuai dengan afinitasnya, sehingga dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan sistem enzim menjadi kacau (Giray, *et al.*, 2001). Hasil penelitian Yousef, *et al.* (2004) menunjukkan bahwa pembentukan radikal dapat diturunkan dengan diet isoflavon. Penelitian lain melaporkan bahwa suplementasi isoflavon secara *in vitro* dapat mengurangi hidrogen peroksida yang dapat menyebabkan kerusakan DNA (Sierens, *et al.*, 2002). Selain *in vitro*, Sierens, *et al.* juga membuktikan hal tersebut secara *in vivo* dengan hasil penelitian menunjukkan bahwa isoflavon dapat menurunkan kerusakan DNA, protein dan lipid akibat proses oksidasi oleh radikal, sehingga mengurangi resiko penyakit jantung dan kanker.

Sebagai senyawa antioksidan, isoflavon juga dapat bereaksi dengan radikal dan singlet oksigen sebelum senyawa-senyawa reaktif ini menyerang sel target (Fran, *et al.*, 2000). Aktivitas antioksidan ini disebabkan kemampuan isoflavon untuk mendonorkan atom hidrogen pada radikal. Selain itu, isoflavon mampu mendeteksi lokasi keberadaan radikal sehingga bisa bereaksi dengan radikal tersebut dengan cepat.

Salah satu data penelitian yang menunjukkan aktivitas antioksidan isoflavon pada tikus disajikan dalam Tabel 3, dengan parameter pengamatannya adalah TBARS (*thiobarbituric acid-reactive substances*) dan GST (*glutathione S-transferase*) pada plasma, hati, otak, testes, dan ginjal (Yousef, *et al.*, 2004).

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan isoflavon

Parameter	Isoflavon		
	Kontrol	2,5 mg/kg	5 mg/kg
<i>Plasma</i>			
TBARS (nmol/mL)	1,82 ± 0,06	1,16 ± 0,07	1,15 ± 0,08
GST (µmol/h)	0,53 ± 0,007	0,53 ± 0,006	0,53 ± 0,005
<i>Hati</i>			
TBARS (nmol/mL)	14,06 ± 0,99	11,5 ± 0,15	10,3 ± 1,78
GST (µmol/h)	1,04 ± 0,007	1,05 ± 0,032	1,04 ± 0,02
<i>Testes</i>			
TBARS (nmol/mL)	12,01 ± 0,31	7,25 ± 0,16	9,45 ± 0,46
GST (µmol/h)	0,51 ± 0,09	0,51 ± 0,011	0,49 ± 0,004
<i>Otak</i>			
TBARS (nmol/mL)	36,1 ± 2,67	31,9 ± 4,18	24,3 ± 1,6
GST (µmol/h)	0,49 ± 0,004	0,49 ± 0,003	0,49 ± 0,003
<i>Ginjal</i>			
TBARS (nmol/mL)	11,8 ± 5,78	7,3 ± 4,05	9,5 ± 3,75
GST (µmol/h)	0,56 ± 0,006	0,54 ± 0,013	0,57 ± 0,008
TBARS	: thiobarbituric acid-reactive substances		
GST	: glutathione S-transferase		

Diet isoflavon dengan dosis 2,5 dan 5 mg/kg BB menyebabkan penurunan pembentukan TBARS dalam plasma sebesar 36,3% dan 36,8%; sedangkan di hati sebesar 18,2% dan 26,7%. Dosis 2,5 mg/kg isoflavon dapat menurunkan konsentrasi TBARS pada testes dan ginjal sebesar 39,6% dan 38,1%; sedangkan dosis 5 mg/kg isoflavon tidak memberikan efek yang signifikan pada kedua jaringan tersebut. Pada otak, level TBARS menurun secara signifikan dengan dosis isoflavon sebesar 5 mg/kg BB. Berbeda dengan TBARS, aktivitas GST tidak mengalami perubahan dengan diet isoflavon.

GST (Glutathione S-transferase) adalah suatu protein yang berfungsi sebagai enzim yang mengkatalisis konjugasi glutathion dan binding protein intraselular pada beberapa senyawa xenobiotik. Hasil penelitian Yousef, *et al.* (2004) menunjukkan bahwa isoflavon tidak memiliki efek yang signifikan terhadap aktivitas GST dalam plasma dan jaringan (Tabel 3). Namun demikian, Cai dan Wei (1996) mengemukakan bahwa diet genistein dapat meningkatkan aktivitas enzim-enzim antioksidan seperti katalase, superoksida dismutase,

glutation peroksidase dan glutation reduktase pada berbagai organ melalui aktivitas genistein sebagai *chemopreventive*. Selain itu, pada penelitian Yousef, *et al.* (2004) ditunjukkan bahwa mekanisme aktivitas antioksidan dari isoflavon tidak hanya melalui induksi aktivitas GST, tetapi juga disebabkan isoflavon dapat mengurangi pembentukan radikal, dekomposisi hidrogen peroksida, serta memiliki kemampuan untuk menangkap singlet oksigen dan radikal lain.

- **Menurunkan kolesterol**

Mekanisme penurunan kolesterol tidak hanya disebabkan oleh diet isoflavon, tetapi juga oleh kandungan protein yang terdapat dalam kedelai. Peptida yang dihasilkan dari pencernaan protein kedelai dapat meningkatkan kemampuan reseptor kolesterol pada hati (Manzoni, *et al.*, 2003). Isoflavon membuat hati bekerja lebih efisien untuk menurunkan kolesterol jahat dari dalam darah dengan cara meningkatkan aktivitas reseptor LDL pada hati. Ditinjau dari metabolisme kolesterolnya, konsumsi isoflavon kedelai dapat meningkatkan aktivitas kolesterol 7 β -hidroksilase, sehingga pengeluaran LDL dan sintesis asam empedu dapat ditingkatkan.

Kemampuan isoflavon dalam menurunkan kolesterol, salah satunya juga dibuktikan oleh penelitian Yousef, *et al.* (2004). Yousef, *et al.* melihat efek diet isoflavon kedelai terhadap profil plasma lipid dan lipoprotein pada tikus dengan dosis isoflavon 2,5 dan 5 mg/kg BB. Adapun hasil penelitiannya dirangkum dalam Tabel 4.

Tabel 4. Efek diet isoflavon kedelai terhadap profil plasma lipid dan lipoprotein pada tikus dengan dosis isoflavon 2,5 dan 5 mg/kg BB.

Lipid (mg/dl)	Isoflavon		
	Kontrol	2,5 mg/kg	5 mg/kg
Total lipid (TL)	557 \pm 38,7	459 \pm 15,4	440 \pm 17,9
Kolesterol	152 \pm 2,1	122 \pm 1,9	121 \pm 2,3
Trigliserida	168,6 \pm 7,8	139,1 \pm 4,8	129,7 \pm 2,7
HDL	34,9 \pm 0,33	44,4 \pm 0,67	45,5 \pm 0,89
LDL	108 \pm 2,4	87 \pm 2,0	84 \pm 2,2
VLDL	33,7 \pm 1,56	27,8 \pm 0,97	25,9 \pm 0,53
Rasio LDL:HDL	3,1 \pm 0,08	2,0 \pm 0,06	1,9 \pm 0,08
Kolesterol (% TL)	30,1 \pm 2,79	28,8 \pm 1,01	29,2 \pm 1,13

Tabel 4 menunjukkan konsentrasi total lipid, kolesterol, trigliserida, LDL dan VLDL, serta LDL:HDL dalam plasma turun secara signifikan pada kedua dosis isoflavon (2,5 dan 5 mg/kg), dengan persentase penurunan sebesar 17,5% dan 21,0% pada total lipid; 19,7% dan 20,4% pada kolesterol; 17,5% dan 23,1% pada trigliserida; 20,6% dan 22,2% pada LDL; 17,5% dan 23,1% pada VLDL; serta 35,5% dan 38,7% pada rasio LDL:HDL, sedangkan kadar HDL meningkat sebesar 27,2% dan 30,4%. Penurunan LDL yang disertai naiknya kadar HDL disebabkan pengeluaran kolesterol dari jaringan periphera ke dalam hati untuk dimetabolisme dan diekskresikan. Kadar HDL yang tinggi dapat melindungi LDL terhadap oksidasi.

- ***Mengurangi gejala menopause***

Kemampuan binding isoflavon terhadap reseptor estrogen dapat mengurangi gejala menopause. Menopause merupakan proses penuaan yang alami akibat turunnya kandungan estrogen, dan terjadi pada wanita ketika berhenti menstruasi. Defisiensi hormon estrogen pada wanita menopause dapat mengakibatkan timbulnya gejala-gejala yang menyebabkan ketidaknyamanan, seperti *hot flashes* dan pengeringan alat kelamin, yang selanjutnya akan menyebabkan penurunan massa tulang.

Terdapat beberapa resiko dalam pemberian estrogen secara oral pada wanita menopause, diantaranya adalah hipertrigliseridemia, endometrial hyperplasia, tumorigenesis dan hiperkoagulasi. Fitoestrogen yang secara struktur kimia mirip dengan estrogen memiliki aktivitas yang menguntungkan dalam mencegah penyakit kardiovaskular, osteoporosis, kanker payudara, dan mengurangi gejala menopause. Dibandingkan diet estrogen, asupan fitoestrogen dapat menurunkan kadar kolesterol LDL tanpa menyebabkan hipertrigliseridemia, mengurangi gejala menopause tanpa meningkatkan resiko neoplasia pada payudara, dan meningkatkan fungsi vaskular tanpa menstimulasi angiogenesis. Oleh karena itu, diet fitoestrogen merupakan terapi yang sangat dibutuhkan oleh wanita yang mengalami menopause (Lissin dan Cooke, 2000). Dengan adanya asupan isoflavon terutama genistein, peran estrogen dapat digantikan oleh isoflavon. Pada saat kadar hormon estrogen menurun, akan terdapat banyak

kelebihan reseptor estrogen yang tidak terikat. Walaupun afinitasnya tidak sebesar estrogen, isoflavon yang merupakan fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor tersebut menghasilkan suatu reaksi biokimia yang menguntungkan bagi tubuh, sehingga dapat mengurangi gejala menopause.

- ***Mencegah penyakit kardiovaskular***

Kirk, *et al.* (1998) menguji pengaruh isoflavon terhadap penyakit kardiovaskular pada tikus. Ketika tikus dengan kadar kolesterol tinggi diberi diet rendah isoflavon, tikus tersebut tetap mengalami hiperlipidemia. Akan tetapi, pada tikus dengan diet tinggi isoflavon, terjadi penurunan total kolesterol dan VLDL. Penelitian lebih lanjut menunjukkan diet isoflavon kedelai yang tinggi pada tikus dengan kadar LDL yang tinggi, penurunan lipid terjadi akibat meningkatnya aktivitas reseptor LDL. Mekanisme aktivitas isoflavon ini dapat mencegah terjadinya penyakit kardiovaskular.

Selain melalui mekanisme yang sudah dijelaskan diatas, isoflavon juga dapat mencegah oksidasi LDL. Kapiotis, *et al.* (1997) mengamati pembentukan produk oksidasi LDL yaitu TBARS (*Thiobarbituric Acid-Reactive Substances*) dapat dicegah dengan baik oleh genistein, tetapi tidak oleh genistin (konjugasi genistein dengan glukosa). Genistein dan daidzein melindungi LDL dari oksidasi dengan cara menstimulasi pengeluaran laktat dehidrogenase oleh sel endotelial. Pada diet dengan 36 mg genistein dan 21 mg daidzein per hari selama 2 minggu menunjukkan adanya perpanjangan waktu yang signifikan terhadap terjadinya oksidasi LDL. Dengan dihambatnya oksidasi LDL, maka pembentukan plak yang menyebabkan penyumbatan pembuluh darah akibat oksidasi LDL dapat dihindari. Pembentukan plak pada pembuluh darah adalah awal dari penyakit kardiovaskular.

- ***Mencegah osteoporosis***

Fitoestrogen dapat mencegah osteoporosis. Namun, proteksi terhadap osteoporosis tidak hanya disebabkan oleh fitoestrogen, tetapi juga merupakan efek yang diberikan oleh protein kedelai. Pada umumnya, osteoporosis merupakan akibat dari gejala menopause. Konsumsi protein kedelai dengan isoflavon telah terbukti dapat mencegah kerapuhan tulang pada tikus yang digunakan sebagai

model untuk penelitian osteoporosis. Hal ini disebabkan kedelai mengandung kadar asam amino bersulfur yang rendah. Asam amino bersulfur dapat meningkatkan resorpsi kalsium oleh ginjal. Sebaliknya, protein hewani diketahui mempunyai kandungan fosfor dan fosfat yang tinggi, dan tingginya kandungan fosfor dan fosfat tersebut menyebabkan kehilangan kalsium dari tubuh. Oleh karena itu, penggantian protein hewani dengan protein kedelai dapat mengurangi demineralisasi kalsium. Penelitian pemberian diet isoflavon pada wanita menopause menunjukkan gejala post-menopause berkurang sampai 3 kali lipat. Jika dibandingkan, isoflavon daidzein memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibanding isoflavon genistein dalam mencegah penurunan massa tulang (Dixon dan Ferreira, 2002).

Penelitian lain menunjukkan bahwa genistein dan daidzein berperan sebagai perantara dalam metabolisme pembentukan tulang baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Genistein dan daidzein membantu memasukkan kalsium ke dalam tulang. Namun demikian, hasil metabolisme daidzein, yaitu equol, memiliki aktivitas yang lebih tinggi dalam mempertahankan massa tulang. Selain fitosterol, komponen lain yang terlibat dalam mekanisme pembentukan tulang adalah osteokalsin dan osteopontin. Osteopontin disekresi oleh osteoblast, dan berperan dalam perbaikan tulang serta bertanggung jawab dalam pengaturan mineral pada tulang (Hertrampf, *et al.*, 2009).

Bukti epidemiologi lain yang mendukung peran isoflavon dalam mencegah osteoporosis terlihat di negara-negara Asia. Hasil penelitian pertama menunjukkan bahwa konsumsi 100 mg isoflavon per hari (dua gelas susu kedelai) mencegah penurunan densitas tulang belakang lumbar, dan 90 wanita post-menopause yang mengkonsumsi 54 mg/hari prekursor isoflavon genistein murni, menunjukkan terjadi peningkatan massa tulangnya, dan tidak ada efek buruk yang teramati (Lydeking, *et al.*, 2001).

E. Proses Absorpsi Isoflavon

Dari total konsentrasi isoflavon dalam susu kedelai, lebih dari 90% isoflavon berada dalam bentuk glukosidanya. Namun diusus halus, bentuk aglikon diserap lebih cepat dalam jumlah yang lebih besar daripada bentuk glukosidanya.

Penyerapan aglikon pada usus halus terjadi akibat proses hidrolisis oleh enzim β -glukosidase (Izumi, *et al.*, 2000). Hal ini menunjukkan bahwa mengonsumsi produk kedelai dengan kandungan aglikon yang tinggi mungkin lebih efektif dalam mencegah penyakit kronis.

Bakteri *Bifidobacterium* merupakan salah satu mikroflora alami yang ada dalam saluran usus manusia. Enzim glukosidase yang dihasilkan oleh *Bifidobacterium animalis* Bb-12 dapat menghidrolisis isoflavon dalam bentuk glukosida menjadi aglikonnya ketika ditanam pada sari kedelai dan dapat meningkatkan konsentrasi aglikon dari 8% sampai 50% (Tsangalis, *et al.*, 2002).

Sebagian kecil aglikon diserap di dalam lambung, tetapi penyerapan utama aglikon terjadi di dalam usus halus (Piskula, *et al.*, 1999). Beberapa peneliti menyebutkan bahwa proses hidrolisis glukosida isoflavon ini sangat penting, karena hanya bentuk aglikon yang dapat diserap oleh tubuh (Setchell, *et al.*, 2002). Tetapi, pada penelitian yang dilakukan oleh Andlauer, *et al.* (2000) terlihat bahwa terdapat sebagian genistin yang dapat diserap di usus halus. Penyerapan ini diduga terjadi melalui transport aktif dengan bantuan transporter SGLT1.

F. Review Teknologi Peningkatan Aglikon Isoflavon

Hidrolisis glukosida isoflavon terjadi karena adanya aktivitas β -glukosidase. Pada dasarnya, β -glukosidase terdapat pada kedelai. Hsieh dan Graham (2001) melakukan purifikasi dan karakterisasi enzim β -glukosidase dari bagian akar tanaman kedelai dengan tiga metode yang berbeda. Pada metode pertama, enzim β -glukosidase diisolasi dengan menggunakan 0,2 M buffer fosfat pH 6 yang mengandung 200-500 μ M NaCl, yang selanjutnya disentrifuse. Enzim yang terekstrak dilarutkan dengan buffer fosfat 0,2 M pH 6 yang mengandung 0,5 M NaCl, lalu difraksinasi dengan 40-60% ammonium sulfat jenuh. Metode kedua, digunakan kolom DEAE-Sephadex G-50 pH 6 dan larutan gliserol 10%. Enzim yang diisolasi dengan kolom ini kemudian ditambah sodium askorbat. Pada metode ketiga, digunakan kolom CM-Sephadex C-50. Ekstrak yang dilewatkan ke dalam kolom tersebut dielusi dengan menggunakan buffer yang berbeda (buffer F dan buffer E). Enzim dari masing-masing metode diuji aktivitasnya

menggunakan HPLC dengan glukosida isoflavon sebagai substratnya. Adapun hasil pengujiannya disajikan dalam Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Aktivitas enzim β -glukosidase yang diisolasi dari akar tanaman kedelai

Metode	Aktivitas total (mU)	Total Protein (mg)	Aktivitas Spesifik (mU/mg protein)	Hasil (%)	Kemurnian (kali)
Ekstrak	8750	124	70	100	1
Amonium sulfat (40-60%)	10.540	50	220	120	3
DEAE-Sephadex	2960	12	240	34	3,4
CM-Sephadex	1740	1,3	1340	20	20

Dari tabel di atas terlihat bahwa aktivitas enzim yang paling tinggi terjadi pada fraksi yang diperoleh dengan menggunakan kolom CM-Sephadex.

Enzim β -glukosidase memiliki pH optimum 6 pada suhu 30°C. Enzim ini juga stabil pada suhu tinggi dan tetap aktif (87%) setelah 45 menit pada suhu 50°C. Aktivitas enzim β -glukosidase dapat dihambat oleh 1 mM ion Ag dan Hg, dan diduga gugus sulfidril pada enzim ini memiliki peranan penting dalam aktivitasnya. Namun, inhibisi dari ion Ag dapat diatasi dengan adanya β -markaptoetanol.

Pentingnya aglikon dalam proses penyerapan isoflavon di dalam usus, membuat penelitian tentang isolasi enzim β -glukosidase terus dikembangkan. Hal ini bertujuan agar isoflavon dalam produk makanan sudah ada dalam bentuk aglikonnya, sehingga dapat diserap oleh tubuh dengan maksimal. Sejumlah β -glukosidase telah diisolasi dari beberapa sumber untuk meningkatkan kandungan aglikon isoflavon didalam produk kedelai, diantaranya adalah dari kacang-kacangan seperti *Dalbergia cochinchinensis* dan *Dalbergia nigrescens*, serta dari bakteri seperti *Saccharopolyspora erythraea*, *lactic acid bacteria*, *Bifidobacteria*, *basidiomycetes* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian terbaru dari Yang *et al.* (2009) melaporkan bahwa β -glukosidase juga dapat diisolasi dari *Paecilomyces thermophila* yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis glukosida isoflavon. Dalam penelitiannya, Yang *et al.* menggunakan enzim β -glukosidase dari almond sebagai pembanding, dengan isoflavon dari tepung dan susu kedelai sebagai substratnya.

Tepung kedelai disuspensikan dalam 400 μ L asam 2-(N-morpholino)etana sulfonat 50 mM pH 6,2. Kemudian larutan dihidrolisis dengan 0,02 U/mL enzim β -glukosidase. Larutan diinkubasi pada suhu 50 $^{\circ}$ C (untuk β -glukosidase dari *Paecilomyces thermophila*) dan 37 $^{\circ}$ C (untuk β -glukosidase dari almond), masing-masing selama 10 menit dan 2 jam. Setelah diinkubasi, larutan dididihkan selama 5 menit. Larutan yang sudah dihidrolisis, disentrifuse selama 15 menit, dan supernatan yang dihasilkan dipisahkan, sedangkan residunya diekstrak dengan metanol 80%. Ekstrak metanol disentrifuse, dan supernatannya dipisahkan. Kedua supernatan yang diperoleh dari kedua tahap disatukan lalu ditambah larutan 0,1% asam asetat-15% asetonitril, yang selanjutnya dianalisis dengan HPLC.

Susu kedelai dibuat dengan cara merendam kedelai terlebih dahulu selama semalam. Kemudian kedelai digiling dengan perbandingan kedelai-air 1:10 (b/v) dan disaring. Filtrat (susu kedelai) dididihkan selama 10 menit. Setelah dingin, susu kedelai dihidrolisis oleh 0,01 U/mL enzim β -glukosidase, lalu diinkubasi pada suhu 50 $^{\circ}$ C (untuk β -glukosidase dari *Paecilomyces thermophila*) dan 37 $^{\circ}$ C (untuk β -glukosidase dari almond), masing-masing selama 10 menit dan 4 jam. Susu yang sudah dihidrolisis dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya susu diambil sebanyak 2 μ L dan ditambah asam asetat-asetonitril. Larutan dianalisis dengan HPLC untuk mengetahui kandungan isoflavonnya.

Untuk kontrol, isoflavon diekstrak dari kacang kedelai dengan dietil eter menggunakan metode Soxhletasi. Filtrat diekstrasi lebih lanjut dengan 20 mL metanol 80%, kemudian hasil ekstraksi distirrer selama 12 jam pada suhu kamar. Setelah itu, larutan disentrifuse selama 15 menit dan dianalisis dengan HPLC.

Dari analisis HPLC diperoleh suatu kromatogram yang menunjukkan persen konsentrasi aglikon isoflavon yang dihasilkan oleh aktivitas β -glukosidase selama inkubasi. Besarnya konsentrasi aglikon isoflavon yang ada di dalam sampel mengindikasikan tingginya aktivitas enzim β -glukosidase (Tabel 6).

Tabel 6. Persen aktivitas hidrolisis enzim β -glukosidase dari *Paecilomyces thermophila* dan almond

Glukosida isoflavon	Aktivitas Hidrolisis (%)					
	Kontrol		β -glukosidase dari <i>Paecilomyces thermophila</i>		β -glukosidase dari almond	
	10 min	4 jam	10 min	4 jam	10 min	4 jam
<i>Ekstrak isoflavon (kontrol)</i>						
Daidzin	0,0	2,1	63,8	98,0	34,4	39,5
Glisitin	0,0	0,0	12,3	95,8	38,0	50,4
Genistin	0,0	0,4	63,9	99,3	34,1	41,5
<i>Ekstrak isoflavon dari tepung kedelai</i>						
Daidzin	0,0	1,0	74,2	84,0	17,2	48,7
Glisitin	0,0	0,0	70,6	80,0	31,5	57,5
Genistin	0,0	0,4	74,8	92,6	25,2	37,8
<i>Ekstrak isoflavon dari susu kedelai</i>						
Daidzin	0,0	1,4	88,4	95,4	29,5	45,4
Glisitin	0,0	0,0	93,7	100	34,6	40,4
Genistin	0,0	1,1	89,4	94,6	32,9	44,4

Data pada Tabel 6 menunjukkan enzim β -glukosidase dapat menghidrolisis glukosida isoflavon dengan baik. Hal ini terlihat dari tingginya jumlah glukosida isoflavon yang terhidrolisis baik glukosida daidzin, glisitin maupun genistin. Jika kedua sumber enzim dibandingkan, β -glukosidase dari *Paecilomyces thermophila* memiliki aktivitas yang lebih tinggi daripada aktivitas enzim dari almond.

Berbeda dengan Hsieh dan Graham (2001) serta Yang *et al.* (2009), Prabhakaran dan Perera (2006) meningkatkan konsentrasi isoflavon pada susu kedelai melalui modifikasi teknologi proses. Dalam penelitiannya, Prabhakaran dan Perera mengeliminasi proses perendaman kedelai yang biasa dilakukan pada pembuatan susu kedelai, tetapi kedelai langsung digiling menggunakan air panas dan air dingin. Hal ini dilakukan untuk meminimalisasi kehilangan isoflavon pada air rendaman. Selain itu, dicoba juga proses UHT secara langsung dan UHT tidak langsung. Penelitian ini dilakukan dalam skala pilot.

Pada tahap pertama, 70 kg kacang kedelai dibersihkan, kemudian digiling menggunakan 300 L air panas (95°C) dan air dingin (45°C). Kedelai halus dimasukkan kedalam *colloid mill* dan dialirkan ke pipa yang memakai *heat exchanger* dengan suhu 85°C untuk meninaktivasi enzim lipoksigenase (EC 1.13.11.12), yaitu suatu enzim dioksigenase yang mengandung besi yang dapat menyebabkan off-flavor. Selanjutnya, kedelai disaring. Filtrat (susu kedelai)

dipanaskan pada suhu 120°C selama 80 detik untuk menginaktivasi Kunitz-tripsin inhibitor, lalu didinginkan. Susu kedelai ditreatment dengan dua perlakuan, yaitu UHT langsung (pada suhu 143°C selama 10 detik) dan UHT tidak langsung (pada suhu 140 selama 4 detik). Pada proses UHT langsung, uap air langsung dialirkan kedalam produk, sedangkan pada proses UHT tidak langsung, panas dialirkan melalui *heat exchanger*. Penelitian dilanjutkan dengan analisis isoflavon menggunakan HPLC. Untuk keperluan analisis HPLC, larutan susu kedelai diekstraksi dengan metanol 80%, selanjutnya disaponifikasi untuk mengkonversi ester glukosida isoflavon menjadi glukosida atau aglikon isoflavon.

Hasil penelitian Prabhakaran dan Perera (2006) menunjukkan bahwa susu kedelai yang digiling dengan air panas memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibanding kedelai yang digiling dengan air dingin, sedangkan proses UHT langsung dan tidak langsung tidak mempengaruhi konsentrasi isoflavon di dalam susu kedelai (Tabel 7).

Tabel 7. Konsentrasi isoflavon pada susu kedelai dengan proses penggilingan panas dan dingin yang ditreatment dengan UHT langsung dan UHT tidak langsung.

Sampel	Glukosida			Aglikon			Total (µmol/g)	
	Din	Gln	Gin	Dein	Glen	Gein	Glukosida	Aglikon
<i>Penggilingan dingin</i>								
Susu kedelai dengan UHT langsung	2,88	0,47	2,80	0,27	0,03	0,17	6,16	0,47
Susu kedelai dengan UHT tidak langsung	2,93	0,52	2,76	0,29	0,03	0,20	6,21	0,51
<i>Penggilingan panas</i>								
Susu kedelai dengan UHT langsung	3,16	0,56	3,06	0,04	TD	0,03	6,78	0,08
Susu kedelai dengan UHT tidak langsung	3,05	0,62	3,06	0,03	TD	0,04	6,74	0,06

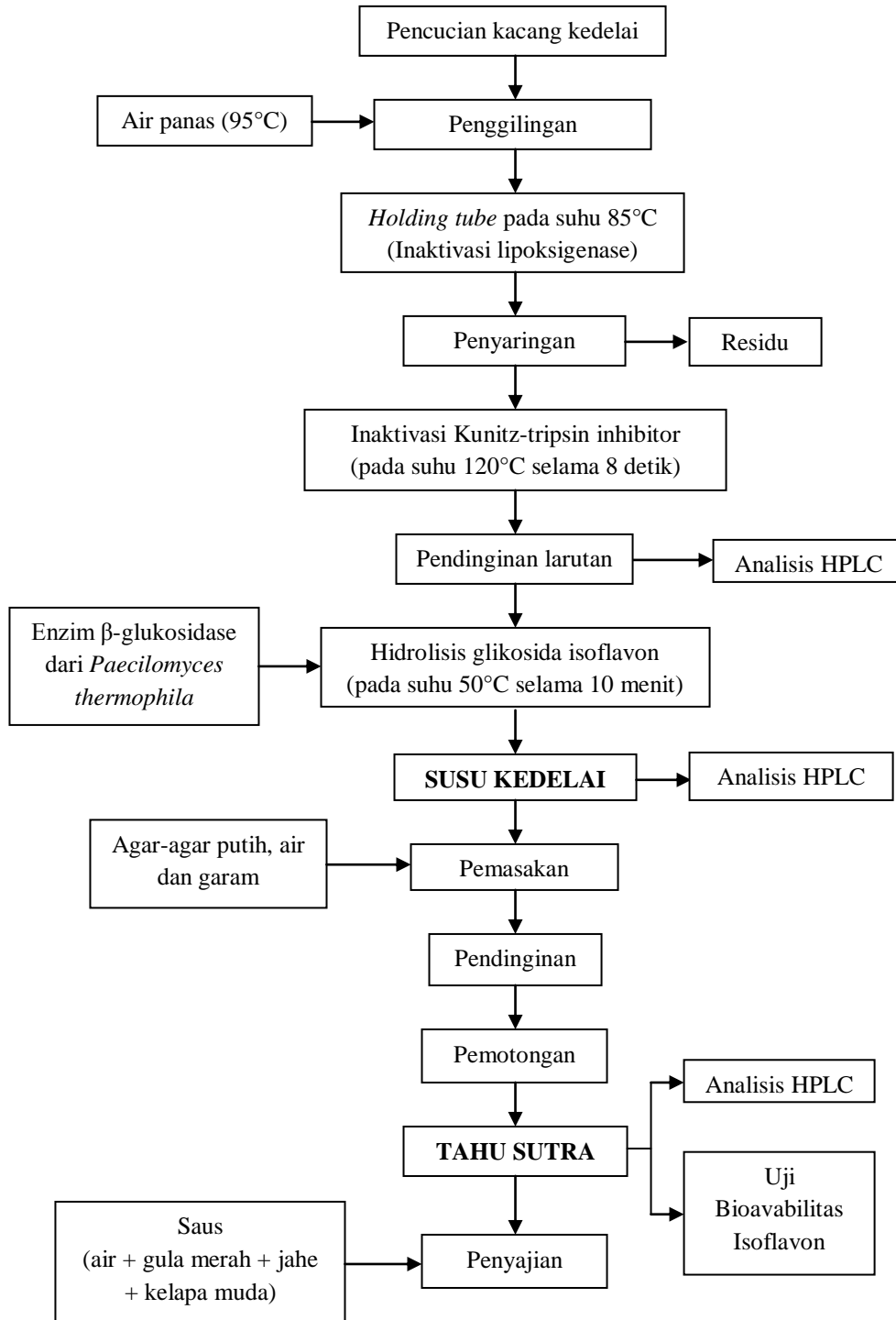
Din: daidzin; Gln: glisitin; Gin: genistin; Dein: daidzin; Glen: glisitein; Gein: genistein; TD: tidak terdeteksi.

Dari data pada Tabel 7 terlihat bahwa proses UHT langsung dan tidak langsung tidak merubah konsentrasi glukosida maupun aglikon secara signifikan. Secara keseluruhan, konsentrasi total glukosida yang terekstrak ke dalam susu kedelai dengan penggilingan panas lebih tinggi dibanding konsentrasi glukosida pada kedelai yang digiling dengan air dingin. Hal ini disebabkan, terjadinya peningkatan kelarutan glukosida isoflavon dalam air panas, sehingga isoflavon

yang terekstrak menjadi lebih banyak. Namun demikian, konsentrasi aglikon pada susu kedelai dengan penggilingan panas lebih sedikit. Hal tersebut terjadi karena enzim β -glukosidase menjadi tidak aktif pada suhu yang terlalu tinggi, sehingga hidrolisis glukosida isoflavon menjadi aglikonnya tidak berjalan dengan baik.

BAB III METODOLOGI

Desain Penelitian



Gambar 7. Desain penelitian

Parameter dan Metoda Analisis

Parameter yang akan diteliti adalah konsentrasi isoflavon pada susu kedelai yang dihasilkan pada penggilingan langsung, setelah dihidrolisis oleh enzim β -glukosidase, dan konsentrasi isoflavon setelah dicampur dengan agar-agar dan garam. Analisis dilakukan dengan menggunakan HPLC. Selain itu, juga akan diuji bioavailabilitas isoflavon sebagai parameter yang dapat menunjukkan seberapa besar aglikon isoflavon yang dihasilkan dapat diserap oleh tubuh.

Indikator Capaian Yang Terukur

Parameter keberhasilan dari pengembangan produk “Tahu Sutra” yang akan dikerjakan dapat dilihat dari perubahan kandungan isoflavonnya. Adapun jenis-jenis isoflavon yang akan diamati pada penelitian ini antara lain:

1. Glikosida isoflavon yang meliputi genistin, daidzin, dan glisitin, maupun esternya. Pada tahap pertama, yaitu tahap penggilingan kacang kedelai dengan menggunakan air panas, diharapkan glikosida isoflavon kacang kedelai dapat terekstrak dengan maksimal, sehingga konsentrasi glikosida isoflavon yang terdeteksi pada analisis HPLC tinggi.
2. Aglikon isoflavon yang meliputi genistein, daidzein, dan glisitein. Setelah dihidrolisis dengan enzim β -glukosidase pada tahap kedua, konsentrasi genistein, daidzein, dan glisitein yang ditunjukkan pada kromatogram hasil analisis HPLC diharapkan menjadi meningkat, sedangkan konsentrasi glikosida isoflavonnya menurun. Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis berlangsung dengan baik. Selain itu, konsentrasi aglikon isoflavon juga akan dianalisis pada produk akhir. Diharapkan konsentrasi aglikon isoflavon pada susu kedelai yang sudah dicampur dengan agar-agar dan garam tidak berubah.
3. Bioavailabilitas. Pengujian bioavailabilitas dilakukan dengan menggunakan urin yang diambil dari sukarelawan yang mengkonsumsi tahu sutra. Semakin rendah konsentrasi aglikon isoflavon di dalam urin, mengindikasikan semakin tinggi tingkat bioavailabilitasnya.

BAB IV PEMBAHASAN

Pengembangan tahu sutra dilakukan berdasarkan pada banyak penelitian yang menunjukkan bahwa isoflavon kedelai terbukti dapat memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh, sedangkan pemilihan susu kedelai sebagai bahan dasar tahu sutra merupakan suatu usaha agar isoflavon yang terkandung dalam kedelai dapat terekstrak dengan maksimal sehingga pemanfaatannya menjadi lebih optimal. Pada pengembangan produk “Tahu Sutra” ini, metode yang akan dilakukan merupakan gabungan dari tiga penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, yaitu penelitian Yang, *et al.* (2009), penelitian Prabhakaran dan Perera (2006), serta penelitian Kuno, *et al.* (2006).

Yang, *et al.* (2009) menunjukkan bahwa penggilingan langsung dengan menggunakan air panas akan mengekstrak isoflavon kedelai lebih banyak. Selama ini, masyarakat membuat susu kedelai dengan proses perendaman terlebih dahulu selama semalam. Pada saat proses perendaman ini, sebagian isoflavon akan terekstrak ke dalam air rendaman tersebut, karena isoflavon merupakan suatu senyawa yang larut air. Tahap ini akan mengurangi konsentrasi isoflavon pada produk akhir, karena air rendaman kacang kedelainya akan dibuang. Dengan adanya hasil penelitian Yang, *et al.* (2009), proses perendaman dapat dieliminasi dan diganti dengan penggilingan langsung menggunakan air panas (95°C), sehingga kehilangan isoflavon dapat diminimalisir.

Setelah kacang kedelai digiling, campuran dialirkan de dalam *holding tube* pada suhu 85°C yang bertujuan untuk menginaktivasi enzim lipoksigenase. Enzim ini merupakan suatu enzim yang mengandung Fe yang dapat menyebabkan timbulnya *off-flavor* akibat proses oksidasi asam lemak. Kemudian penelitian dilanjutkan dengan penyaringan dan inaktivasi Kunitz-trypsin inhibitor. Kunitz adalah suatu protein yang tahan panas. Dengan adanya proses inaktivasi Kunitz-trypsin inhibitor, maka pencernaan protein kedelai menjadi lebih mudah. Susu kedelai yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan HPLC untuk melihat keefektifan proses penggilingan langsung terhadap ekstraksi isoflavon. Pada kromatogram analisis HPLC yang dihasilkan, konsentrasi glukosida isoflavon

yang terdeteksi (genistin, daidzin, dan glisitin, maupun esternya) diharapkan tinggi.

Pada tahap selanjutnya, susu kedelai dihidrolisis menggunakan enzim β -glukosidase dengan proses mengacu pada penelitian Prabhakaran dan Perera (2006). Tujuan dari tahap ini adalah untuk menghasilkan aglikon isoflavon yang tinggi dalam produk akhir. Di dalam usus, isoflavon diserap dalam bentuk aglikonnya, sehingga dengan proses hidrolisis diharapkan isoflavon susu kedelai dapat diserap di dalam tubuh secara maksimal. Keberhasilan proses hidrolisis yang dilakukan dapat diamati dengan analisis HPLC. Hidrolisis yang sempurna akan memberikan konsentrasi aglikon isoflavon (genistein, daidzein dan glisitein) yang tinggi pada kromatogram HPLC, sedangkan konsentrasi glikosida isoflavonnya menurun. Setelah susu kedelai dihidrolisis, susu dipanaskan dan ditambah dengan agar-agar, garam serta air secukupnya. Untuk melihat pengaruh proses pemanasan dan penambahan bahan lain terhadap konsentrasi aglikon isoflavon, perlu dilakukan analisis dengan HPLC lagi dengan cara mengekstrak isoflavon dari produk akhir yang dihasilkan.

Selain analisis konsentrasi aglikon isoflavon dalam tahu sutra, uji bioavailabilitas isoflavon juga menjadi sangat penting untuk mengetahui seberapa besar isoflavon yang dapat diserap oleh tubuh. Jika bioavailabilitas isoflavonnya rendah, maka enzim yang diisolasi dari *Paecilomyces thermophila* tidak cocok untuk digunakan pada proses hidrolisis glukosida isoflavon susu kedelai. Untuk menguji bioavailabilitas ini, penelitian akan dilakukan dengan metode Kano, *et al.* (2006). Berdasarkan metode Kano, *et al.* (2006) tersebut, isoflavon akan dianalisis pada urin yang diambil dari sukarelawan setelah mengkonsumsi tahu sutra.

Pengujian bioavailabilitas dilakukan terhadap 12 sukarelawan (9 pria dan 3 wanita) dengan umur 25-51 tahun dan *body mass index* antara 19-26. Lima puluh μ L urin dari sukarelawan yang telah mengkonsumsi tahu sutra diambil, kemudian ditambah dengan 50 μ L buffer asetat (0,2 M dan pH 5) yang mengandung 100 unit glukuronidase. Larutan diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C. Tahap ini bertujuan untuk melepaskan aglikon isoflavon dari konjugat glukuronida atau sulfat. Setelah itu, larutan ditambah 400 μ L methanol lalu diaduk dengan menggunakan vortex dan sonikasi, selanjutnya disentrifuse pada 5000 rpm dan

suhu 4°C selama 5 menit. Supernatan disaring menggunakan Ultrafree-MC 0.45-mm filter unit (Millipore), kemudian dianalisis dengan HPLC. Jika hasil analisis HPLC menunjukkan konsentrasi aglikon isoflavon yang rendah, berarti isoflavon yang dihidrolisis oleh enzim β -glukosidase dari *Paecilomyces thermophila* memiliki bioavailabilitas yang tinggi. Sebaliknya, jika konsentrasinya tinggi, maka bioavailabilitas isoflavon hasil hidrolisis enzim β -glukosidase dari *Paecilomyces thermophila* rendah.

Tahu sutra yang merupakan produk akhir dari penelitian ini dapat disajikan dengan saus yang terbuat jahe, gula merah, air dan kelapa muda. Jika diamati lebih lanjut, selain protein dan isoflavon kedelai, produk ini juga memiliki nilai tambah dari senyawa-senyawa bioaktif lain yang berasal dari jahe yang sudah terbukti dapat memberikan efek kesehatan tertentu bagi tubuh. Oleh karena itu, tahu sutra sangat baik dikonsumsi oleh semua kalangan masyarakat, baik anak-anak maupun orang tua.

BAB V

KESIMPULAN

Desain proses pembuatan susu kedelai yang dimodifikasi dengan metode yang diambil dari beberapa jurnal ilmiah diharapkan dapat meningkatkan konsentrasi isoflavon dalam produk akhir yang dihasilkan, yaitu tahu sutra. Namun demikian, desain proses yang diuraikan dalam makalah ini masih merupakan suatu gagasan dari hasil review jurnal sehingga masih memerlukan suatu pembuktian, salah satunya adalah dengan metode analisis HPLC. Jika rancangan metode yang termodifikasi ini telah terbukti efektif dalam meningkatkan konsentrasi isoflavon dalam produk dengan bioavailabilitas yang tinggi, maka metode yang diusulkan dapat diaplikasikan untuk membuat tahu sutra yang merupakan suatu produk berbasis susu kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- Andlauer, W., Kolb, J., dan Furst, P. 2000. Absorption and metabolism of genistin in the isolated rat small intestine. *FEBS Letters*. 475 (2): 127-130.
- Cai, Q., dan Wei, H. 1996. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Journal of Nutrition and Cancer*. 25: 1-7.
- Coward, L., Barnes, N. C., Setchell, K. D. R., dan Barnes, S. 1993. Genistein, daidzein and their b-glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from american and asian diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41(11): 1961-1967.
- Devi, G.S., Prasad, M.H., Saraswathi, I., Raghu, D., Rao, D.N., dan Reddy, P.P. 2000. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Journal of Clinical Chemica Acta*. 293: 53-62.
- Dixon, R. A., dan Ferreira, D. 2002. Molecules of Interest Genistein. *Journal of Phytochemistry*. 60: 205-211.
- Fran, K., Donald, E., dan James, G. 2000. Research trends in healthful foods. *Journal of Food Technology*. 54 (10): 45-52.
- Giray, B., Gurbay, A., dan Hincal, F. 2001. Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol. *Toxicology Letter*. 118: 139-146.
- Hertrampf, F., Schleipen, B., Offermanns, C., Velders, M., Laudenbach, U., dan Diel, P. 2009. Comparison of the bone protective effects of an isoflavone-rich diet with dietary and subcutaneous administrations of genistein in ovariectomized rats. *Toxicology Letters*. 184: 198-203.
- Kaldas, R., dan Hugh, C.L. 1989. Reproductive and general metabolic effect of phytoestrogen in mammals. *Journal of Reproductive Toxicology*. 21: 81-89.
- *Kano, M., Takayanagi, T., Harada, K., Sawada, S. dan Ishikawa, F. 2006. Bioavailability of isoflavones after ingestion of soy beverages in healthy adults. *J Nutr*. 136(9):2291-6.**
- Kapiotis, S., Hermann, M., dan Held, I. 1997. Genistein, the dietary derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Journal of Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 17: 2868 -74.
- Kirk, E.A., Sutherland, P., dan Wang, S.A. 1998. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *J Nutr*. 128: 954 -9.
- *Hsieh, M.C. dan Graham, T.L. 2001. Partial purification and characterization of a soybean b-glucosidase with high specific activity towards isoflavone conjugates. *Journal of Phytochemistry*. 58: 995-1005.**
- Izumi, T., Piskula, M. K., Osawa, S., Obata, A., Tobe, K., Saito, M., Kataoka, S., Kubota, Y., dan Kikuchi, M. 2000. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *Journal of Nutrition*. 130: 1695-1699.

- Lissin, L. W., dan Cooke, J. 2000. Phytoestrogens and Cardiovascular Health. *Journal of the American College of Cardiology*. 35: 6.
- Lydeking-Olsen, E., Jensen, J. E. B., Setchell, K. D. R., Damhus, M., dan Jensen, T. H. 2001. Isoflavone-rich soy milk prevents bone-loss in the lumbar spine of postmenopausal women. A 2-year study. Paper presented at *Fourth International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease*, San Diego, USA. Page 4–7.
- Manzoni, C., Duranti, M., Eberini, I., Scharnag, H., Marz, W., Castiglioni, S., dan Lovati, M.R. 2003. Subcellular localization of soybean 7S globulin in HepG2 cells and LDL receptor upregulation by its alpha' constituent subunit. *Journal of Nutrition*. 133: 2149–2155.
- Martucci, C.P., dan Fishman, J. 1993. P450 enzymes of estrogen metabolism. *Pharmacol Ther*. 57: 237–57.
- Naim, M., Gestetner, B., dan Zilkah, S. 1974. Soybean isoflavones characterization, determination, and antifungal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 22(5): 806–810.
- Penalvo, J. L., Nurmi, T., dan Adlercreutz, H. 2004. Analytical, Nutritional and Clinical Methods: A simplified HPLC method for total isoflavones in soy products. *Journal of Food Chemistry*. 87: 297–305.
- Piskula, M. K., Yamakoshi, J., dan Iwai, Y. 1999. Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. *FEBS Letters*. 447: 287–291.
- Potter, S.M. 1998. Soy protein and cardiovascular disease: the impact of bioactive components in soy. *Nutritional Review*. 56: 231–235.
- *Prabhakaran, M.P. dan Perera, C.O. 2006. Effect of extraction methods and UHT treatment conditions on the level of isoflavones during soymilk manufacture. *Food Chemistry*. 99: 231–237.**
- Safford, B., Dickens, A., Halleron, N., Briggs, D., Carthew, P., dan Baker, V. 2003. A model to estimate the oestrogen receptor mediated effects from exposure to soy isoflavones in food. *Journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 38: 196–209.
- Setchell, D. R. K., Brown, N. M., Zimmer-Nechemias, L., Brashear, W. T., Wolfe, B. E., Kirschner, A. S., dan Heubi, J. E. 2002. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 76: 447–453.
- Sierens, J., Hartley, J.A., Campbell, M.J., Leathem, A.J., dan Woodside, J.V. 2002. In vitro isoflavone supplementation reduces hydrogen peroxide-induced DNA damage in sperm. *Journal of Teratogen Carcinogens and Mutagens*. 22: 227–234.
- Tsangalis, D., Ashton, J. F., McGill, A. E. J., dan Shah, N. P. 2002. Enzymic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by b-glucosidase-producing bifidobacteria. *Journal of Food Science*. 67: 3104–3113.
- Wang, H. J., dan Murphy, P. A. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 42(8): 1666–1673.
- *Yang, S., Wang, L., Yan, Q., Jiang, Z. dan Li, L. 2009. Hydrolysis of soybean isoflavone glycosides by a thermostable b-glucosidase from *Paecilomyces thermophila*. *Food Chemistry*. 115: 1247–1252.**

***Yousef, M. I., Kamel, K. I., Esmail, A. M., dan Baghdadi, H. H. 2004. Antioxidant activities and lipid lowering effects of isoflavone in male rabbits. *Journal of Food and Chemical Toxicology*. 42: 1497–1503.**

Keterangan: pustaka yang diberi tanda * dan di-**bold** adalah jurnal utama yang direview.