

KAJIAN PRA-KLINIS PEMBERIAN ORAL BUBUK KERING-BEKU SUSU KEDELAI YANG DIFERMENTASI OLEH *Lactobacillus plantarum* AP1 DAN *Sphingobacterium* SP. TB17 PADA TIKUS

Achmad Dinoto*, Rita Dwi Rahayu, dan Sri Purwaningsih
Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
Jl Raya Jakarta-Bogor Km 46 Cibinong 16911 Indonesia.
Telp. +62-21-8765066 Fax. +62-21-8765062.
*E-mail: achmaddinoto@yahoo.com

ABSTRACT

To investigate the effects of oral administration of freeze-dried soymilks fermented by *Lactobacillus plantarum* AP1 and *Sphingobacterium* sp. TB17, in preclinical study groups of male Sprague Dawley rats were fed for 3 weeks with four different test diets: basal diet (CD), basal diet supplemented with 3% (w/w feed) freeze-dried unfermented soymilk (CN), basal diet supplemented with 3% (w/w feed) freeze-dried soymilk fermented by *L. plantarum* AP1 (CL), and basal diet supplemented with 3% (w/w feed) freeze-dried soymilk fermented by *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK). Our result showed a reduction of serum cholesterol level up to 15% in rats CB after three weeks consuming soymilk fermented by *L. plantarum* AP1. This yield was relatively higher than that of rats CK consuming soymilk fermented by *Sphingobacterium* sp. TB17 to reduce serum cholesterol only up to 5%. Although unfermented soymilk (CN) also showed the hypocholesterolemic effect to rats, the reduction of cholesterol serum level was lower than that of rat CL. There were no significant increased in blood glucose and body weight of rats as impact of freeze-dried fermented soymilk. Interestingly, although feed intake tends to increase during fermented soymilk consumption, the body weight of rats did not increase. In general, this study indicated that *L. plantarum* AP1 soymilk is a promising beneficial food product for the health.

Key words: cholesterol, fermented soymilk, *Lactobacillus plantarum*, pre-clinical study, *Sphingobacterium*

PENGANTAR

Kedelai mengandung isoflavon atau fitoestrogen yang mempunyai struktur mirip dengan estrogen pada manusia dan potensi kedelai telah dilaporkan berperan dalam pencegahan kanker (Kritchevsky 1995, Sirtori *et al.*, 1995), penyakit jantung (Porter, 1995), gejala-gejala menopause yang mengganggu (Sirtori, 2001) dan osteoporosis (Chiechi *et al.*, 2002; Kurzer and Xu, 1997). Ada hubungan antara konsumsi kedelai dengan resiko kanker. Masyarakat Jepang dan Cina yang mengonsumsi makanan mengandung kedelai lebih banyak dibandingkan yang dikonsumsi masyarakat di Amerika dan Eropa memiliki angka kematian karena kanker payudara, kanker usus besar dan kanker prostat serta penyakit jantung yang lebih kecil (Atkinson *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2004; Keinan-Boker *et al.*, 2002, Yamamoto *et al.*, 2003).

Bentuk utama isoflavon pada makanan berbasis kedelai adalah glikosida dan sebagian besar merupakan glikosida dari genistein dan daidzein yang masing-masing dikenal dengan nama genistin dan daidzin. Isoflavon glikosida sulit sekali diserap di dalam usus kecil dibandingkan bentuk aglikonnya karena berat molekulnya yang lebih besar dan sifat isoflavon glikosida yang hidrofilik. Selain itu,

sifat bioaktif dari isoflavon glikosida dadzin dan genistin diketahui lebih kecil dibandingkan dengan aglikon daidzein dan genistein. Bioavailabilitas isoflavon pada manusia tergantung dari kemampuan mikroba di dalam usus dalam mendegradasi senyawa isoflavon glikosida. Beberapa mikroorganisme yang memiliki enzim β -glukosidase dengan kemampuan menghidrolisis isoflavon glikosida menjadi bentuk isoflavon aglikon telah banyak dilaporkan, diantaranya *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Chien *et al.*, 2006; Hou *et al.*, 2000).

Pada penelitian sebelumnya, kami telah melaporkan kemampuan galur bakteri *Lactobacillus plantarum* AP1 dalam menghidrolisis isoflavon glikosida asal kedelai (Dinoto *et al.*, 2009a). Selain itu, *Sphingobacterium* sp. TB17 yang diisolasi dari produk pangan susu kuda asal Sumbawa telah dikonfirmasi memiliki aktivitas hidrolisis senyawa isoflavon glikosida kedelai (Dinoto *et al.*, 2009b). Kemampuan memfermentasi kedelai dari kedua galur bakteri *L. plantarum* AP1 dan *Sphingobacterium* sp. TB17 membuka peluang pemanfaatannya untuk pengembangan produk pangan suplemen alternatif berbasis kedelai seperti dalam bentuk susu kedelai cair (Hou *et al.*, 2000) atau dalam bentuk kering-bekunya (*freeze-dried*) (Chen *et al.*,

2004). Baru-baru ini, Rahayu *et al.* (2010) telah mengkaji manfaat fungsional susu kedelai yang difermentasi *L. plantarum* AP1 dan *Sphingobacterium* sp. TB17 secara *in vitro*. Selanjutnya, pada penelitian ini uji pra-klinis akan dilakukan untuk mengkaji efek pemberian secara oral bubuk-kering susu kedelai fermentasi oleh galur bakteri *L. plantarum* AP1 dan *Sphingobacterium* sp. TB17 terhadap penurunan total kolesterol serum darah, glukosa darah dan keamanan pengonsumsiannya menggunakan tikus *Sprague Dawley* sebagai hewan uji.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Preparasinya

Kedelai (*Glycine max*) kultivar Wilis yang digunakan dalam percobaan diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian RI Cimanggu, Bogor. Susu kedelai dibuat dengan cara menghancurkan kedelai sebanyak 250 g yang telah direbus selama 60 menit dengan penambahan 2 liter akuades. Hasil perasan kedelai yang telah ditambahkan dengan 2% (b/v) glukosa dan disterilisasi dengan autoklaf. Sebanyak 5% (v/v) kultur *Lactobacillus plantarum* AP1 dan *Sphingobacterium* sp. TB17 ($OD_{600} = 0,8$) ditambahkan ke susu kedelai steril dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam. Setelah fermentasi, susu kedelai dikering-bekukan sampai menjadi bubuk dengan alat *freeze-dryer* (Eyela) dan disimpan secara aseptis pada suhu -20° C sampai digunakan dalam uji selanjutnya.

Percobaan Hewan

Tikus *Sprague Dawley* jantan berusia 10 minggu dengan bobot badan sekitar 75 g diperoleh dari Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Indonesia. Tikus diperlakukan mengikuti panduan pemeliharaan hewan uji di Fakultas Kedokteran Hewan-IPB yaitu dipelihara dalam kandang secara individual pada suhu ruangan dengan siklus terang-gelap 12 jam dan mendapatkan pakan dasar mengandung 17% protein, 4% lemak, 7% serat, 2% kalsium, 2% fosfor, 15% abu dan 10% air (dipersiapkan oleh PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk, Cirebon) dengan 2,5 g kolin bitartrat (Sigma, St. Louis, USA) per kg pakan dasar. Tikus dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 individu meliputi kelompok tikus yang mengonsumsi pakan dasar saja (CD), kelompok tikus yang mengonsumsi pakan dengan suplementasi 3% (b/b) bubuk susu kedelai tanpa fermentasi (CN), kelompok tikus yang

mengonsumsi pakan dengan suplementasi 3% (b/b) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* AP1 (CL) dan kelompok tikus yang mengonsumsi pakan berkolesterol tinggi dengan suplementasi 3% (b/b) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh bakteri *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK). Semua tikus percobaan (CD, CN, CL, dan CK) diadaptasikan selama satu minggu dengan pakan dasar dan dilanjutkan dengan perlakuan suplementasi bubuk kering-beku susu kedelai selama tiga minggu. Pengamatan terhadap bobot badan hewan dan sisa pakan dilakukan setiap hari. Pada akhir percobaan, tikus dibius dengan dietil eter, diambil sampel darahnya dan dibedah untuk pengamatan patofisiologi serta organ-organ meliputi hati, jantung, ginjal, pankreas, limpa, paru-paru serta dilakukan pengoleksian cecum. Setelah pengukuran bobot organ, pengamatan histopatologi organ-organ tersebut dilakukan setelah fiksasi menggunakan paraformaldehid. Nilai pH isi cecum diukur menggunakan pH meter.

Pengambilan dan Preparasi Sampel Darah

Pengambilan darah tikus secara intrakardial sebanyak 3 ml dilakukan setelah dilakukan pembiusan. Darah yang terkumpul dalam tabung reaksi didiamkan pada suhu ruangan ($\pm 25^{\circ} C$) dalam keadaan miring sekitar 5 menit, kemudian fraksi serum darah diambil dan disentrifus pada kecepatan 2500 rpm selama 15 menit untuk pemurnian. Serum darah dikumpulkan di dalam *microtube* untuk pengukuran kadar total kolesterol serum dan kadar glukosa darah.

Pengukuran Total Kolesterol Serum

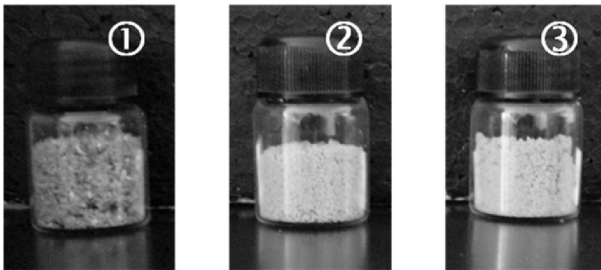
Total kolesterol serum dilakukan dengan menggunakan *kit Cholesterol liquicolor (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesben, Germany)* berdasarkan uji kolorimetri sesuai petunjuk yang tertera pada *kit* tersebut. Kolesterol ditentukan berdasarkan absorbansi dari senyawa indikator kuinoinimin sebagai produk reaksi senyawa 4-aminofenazon, fenol, dan senyawa intermedier hidrogen peroksida yang dihasilkan setelah rangkaian reaksi oksidasi enzimatis kolesterol oleh enzim kolesterol oksidase dan reaksi hidrolisis senyawa kolesterolester oleh enzim kolesterolesterase. Campuran 10 μ l serum dan 1000 μ l reagen RGT diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Hitachi U-2001 (Hitachi High-Corporation, Tokyo, Japan) pada panjang gelombang 500 nm. Reagen STD digunakan sebagai standar pengujian dan blanko menggunakan reagen RGT. Kadar kolesterol dihitung dengan berdasarkan kurva standar Reagen STD.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa serum darah tikus dilakukan dengan menggunakan *kit Glucose liquicolor (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesben, Germany)* berdasarkan uji kolorimetri sesuai petunjuk yang tertera pada *kit* tersebut. Kadar glukosa ditentukan berdasarkan absorbansi dari senyawa indikator kuinoneimin sebagai produk reaksi senyawa 4-aminofenazon, fenol, dan senyawa intermedier hidrogen peroksida yang dihasilkan setelah oksidasi enzimatis senyawa glukosa melibatkan enzim glukosa oksidase. Campuran 10 µl serum dan 1000 µl reagen RGT diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Hitachi U-2001 (Hitachi High-Corporation, Tokyo, Japan) pada panjang gelombang 500 nm. Reagen STD digunakan sebagai standar pengujian dan blanko menggunakan reagen RGT. Kadar glukosa serum darah dihitung dengan berdasarkan kurva standar Reagen STD.

HASIL

Kondisi Tikus Percobaan



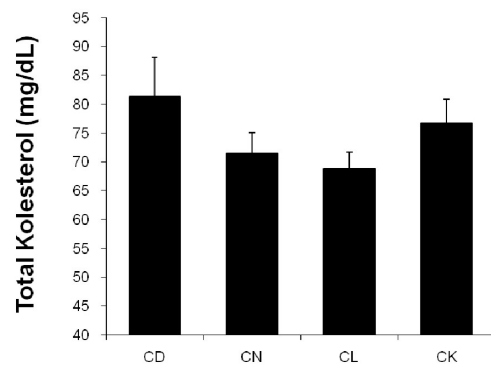
Gambar 1. Bentuk bubuk kering-beku susu kedelai non-fermentasi (1), susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 (2), dan susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (3).

Tikus berada dalam kondisi sehat selama satu minggu masa adaptasi dan tiga minggu masa percobaan dengan mengonsumsi bubuk kering-beku susu kedelai yang tidak difermentasi, susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 dan susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (Gambar 1).

Kadar Kolesterol Serum

Hasil analisis serum darah tikus yang mengonsumsi pakan mengandung 2,5 g kolin bitartrat per kg pakan (CD) selama 3 minggu menunjukkan bahwa kadar total kolesterol serum darahnya lebih tinggi 1,3 kali dibandingkan tikus yang hanya mengonsumsi pakan dasar saja tanpa kolin bitartrat. Kadar kolesterol serum darah tikus dengan pakan

dasar diketahui sebesar $46,9 \pm 6,8$ mg/dL, sedangkan tikus yang mendapatkan tambahan kolin bitartrat pada pakan mencapai $81,3 \pm 3,6$ mg/dL. Kadar kolesterol serum darah tikus yang lebih rendah ($68,8 \pm 4,1$ mg/dL) dijumpai pada kelompok CL, yaitu tikus yang mengonsumsi pakan berkolesterol tinggi dengan suplementasi bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh bakteri *L. plantarum* AP1. Kadar kolesterol serum darah tikus CL yang 15,0% lebih rendah dibandingkan tikus CD. Seperti halnya tikus CL, tikus CK yang mendapatkan suplementasi bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh bakteri *Sphingobacterium* sp. TB17 juga menunjukkan fenomena penurunan kadar kolesterol meskipun hanya sebesar 5,7% dibandingkan tikus CD atau lebih rendah aktivitas hipokolesterolemiknya dibandingkan dengan tikus yang mengonsumsi pakan dengan suplementasi bubuk susu kedelai non-fermentasi (CN) yang kadar kolesterol serumnya sebesar $71,9 \pm 2,5$ mg/dL (Gambar 2).

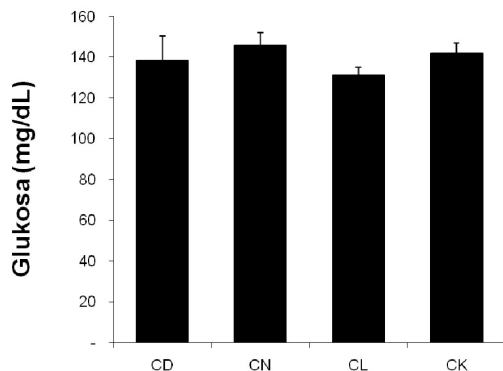


Gambar 2. Kadar kolesterol serum darah tikus setelah 3 minggu mengonsumsi pakan dasar (CD), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai non-fermentasi (CN), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 (CL), dan pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK). Tanda *error bar* menunjukkan nilai *standard error means* (SEM, n = 6).

Kadar Glukosa Darah

Penentuan kadar glukosa darah dilakukan dengan mengukur konsentrasi glukosa yang terdapat dalam serum darah tikus sebelum dilakukan pembedahan pada akhir percobaan. Hasil menunjukkan bahwa ada kecenderungan peningkatan kadar gula darah pada tikus yang mendapatkan bubuk kering-beku susu kedelai tanpa fermentasi (CN) ($146,2 \pm 3,9$ mg/dL) dibandingkan dengan tikus CD ($138,5 \pm 5,9$ mg/dL) yang mengonsumsi pakan tanpa suplementasi bubuk kering-beku susu kedelai. Tikus yang mengonsumsi pakan dengan suplementasi bubuk kering-beku susu

kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 cenderung lebih rendah ($142,1 \pm 3,9$ mg/dL), meskipun tidak serendah susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 ($131,4 \pm 4,9$ mg/dL) (Gambar 3).



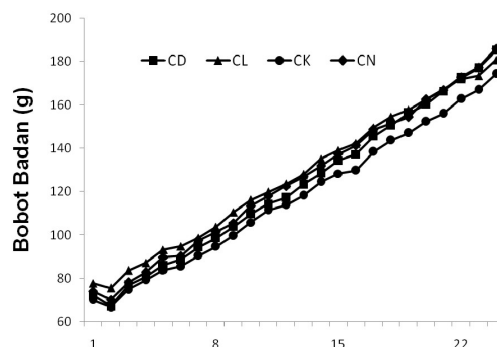
Gambar 3. Kadar glukosa serum darah tikus setelah 3 minggu mengonsumsi pakan dasar (CD), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai non-fermentasi (CN), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 (CL), dan pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK). Tanda *error bar* menunjukkan nilai *standard error means* (SEM, $n = 6$).

Peningkatan Bobot Badan dan Asupan Pakan

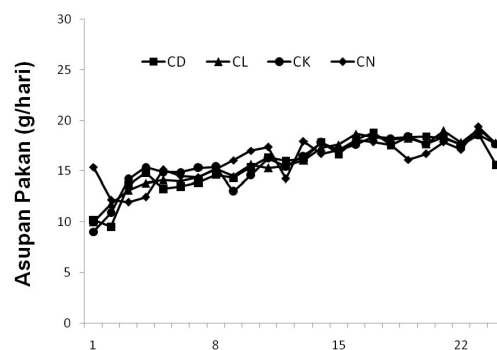
Tikus dengan bobot badan awal sebelum pemberian perlakuan pakan berkisar 75 g per individu mengalami peningkatan menjadi sekitar 179 g per individu pada akhir percobaan (Gambar 4). Asupan pakan meningkat seiring dengan pertambahan bobot badan mencit dari sekitar 11 g/hari pada awal masa percobaan menjadi sekitar 17 g/hari per individu setelah melewati minggu ketiga (Gambar 5). Dengan demikian diketahui bahwa asupan pakan per individu tikus berkisar antara 9-15% dari bobot tubuhnya (proporsi berat pakan per bobot badan mencit). Peningkatan bobot badan hewan uji yang mengonsumsi pakan berkolesterol selama 3 minggu diketahui tidak jauh berbeda pada tikus CD maupun dengan suplementasi bubuk kering-beku susu kedelai baik yang difermentasi oleh kedua galur bakteri (tikus CL dan CK) maupun bubuk susu kedelai non-fermentasi (tikus CN) (Tabel 1).

Tabel 1. Peningkatan bobot badan dan asupan pakan selama 3 minggu percobaan.

	CD	CN	CL	CK
Peningkatan bobot badan (g)	112,7	111,8	102,9	104,3
Asupan pakan (g)	377,7	385,9	383,2	383,1



Gambar 4. Bobot badan tikus selama 3 minggu masa pemeliharaan dengan pemberian pakan dasar (CD), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai non-fermentasi (CN), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 (CL) dan pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK).



Gambar 5. Asupan pakan tikus per hari selama 3 minggu masa pemeliharaan dengan pemberian pakan dasar (CD), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai non-fermentasi (CN), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 (CL), dan pakan berkolesterol tinggi dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK). Tanda *error bar* menunjukkan nilai *standard error means* (SEM, $n = 6$).

Organ Vital dan Nilai pH Cecum Tikus

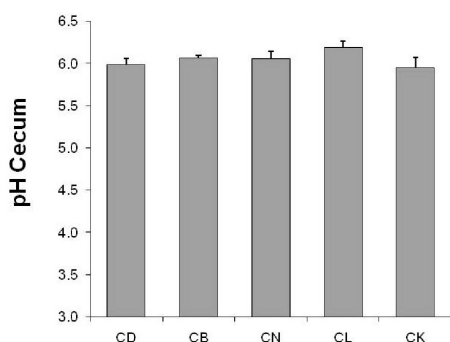
Organ-organ vital tikus dikoleksi dan ditimbang setelah pembedahan dilakukan untuk mengetahui efek pemberian bubuk susu kedelai pada tikus yang mengonsumsi pakan berkolesterol tinggi terhadap bobot organ organ hati, jantung, ginjal dan testis. Cecum termasuk isi cecum juga diamati perubahan beratnya sebagai efek dari pemberian bubuk kering-beku susu kedelai fermentasi. Secara keseluruhan, tidak terlihat adanya perubahan berat organ-organ vital pada tikus setelah perlakuan pakan selama tiga minggu. Berat cecum tidak terlihat berbeda secara signifikan di antara

Tabel 2. Bobot organ tikus pada ujicoba pra-klinis suplementasi bubuk susu kedelai.

Organ	CD	CN	CL	CK
Hati	10,23 ±* 0,36	10,10 ± 0,47	9,19 ± 0,52	9,46 ± 0,57
Jantung	0,88 ± 0,04	0,83 ± 0,05	0,79 ± 0,02	0,68 ± 0,04
Ginjal	1,64 ± 0,07	1,59 ± 0,13	1,55 ± 0,09	1,65 ± 0,11
Pankreas	0,59 ± 0,04	0,60 ± 0,03	0,58 ± 0,06	0,51 ± 0,04
Duodenum	0,67 ± 0,11	0,75 ± 0,05	0,73 ± 0,08	0,65 ± 0,04
Testis	3,12 ± 0,10	3,02 ± 0,13	3,63 ± 0,15	3,20 ± 0,13
Total cecum	4,32 ± 0,44	4,67 ± 0,26	4,57 ± 0,35	4,00 ± 0,30
Isi cecum	2,92 ± 0,37	3,11 ± 0,25	3,03 ± 0,30	2,50 ± 0,21
Kulit Cecum	1,40 ± 0,11	1,56 ± 0,08	1,54 ± 0,11	1,50 ± 0,11

* *standard error means* (SEM, n = 6).

tikus percobaan (Tabel 2). Begitupun dengan nilai pH isi cecum yang tidak terlalu berbeda antar perlakuan setelah selama tiga minggu percobaan dengan kisaran pH antara 5,9 sampai 6,2 (Gambar 6).



Gambar 6. Nilai pH isi cecum tikus setelah 3 minggu mengonsumsi pakan dasar (CD), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai non-fermentasi (CN), pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 (CL), dan pakan dengan suplementasi 3% (b/b pakan) bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *Sphingobacterium* sp. TB17 (CK). Tanda *error bar* menunjukkan nilai *standard error means* (SEM, n = 6).

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bubuk-kering susu kedelai fermentasi diberikan ke tikus sebanyak 3% per kg pakan telah menunjukkan rendahnya kadar total kolesterol (Gambar 2). Suplementasi bubuk susu kedelai fermentasi yang lebih banyak (15% per kg pakan) ke tikus telah dilaporkan oleh Chen *et al.* (2004) untuk melihat pengaruhnya pada metabolisme lipid. Meskipun kajian-kajian tentang efek proteksi penyakit kardiovaskular oleh kedelai telah dilakukan sejak tahun 1940an, namun mekanismenya sampai saat ini masih belum jelas. Penurunan lipid yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh diperkirakan berhubungan dengan isoflavon kedelai

(Anderson *et al.*, 1995; Ren *et al.*, 2001). Namun begitu, Nestel *et al.* (1998) melaporkan bahwa pemberian genistein (45 mg per hari) tidak menunjukkan perubahan konsentrasi lipid darah setelah 5 sampai 10 minggu pengonsumsiannya. Senyawa dalam konsentrasi (minor) pada kedelai seperti oligosakarida (raffinosa dan stakiosa), fitosterol, saponin, dan fitat mungkin mempengaruhi metabolisme lipid. Serat pangan (*dietary fiber*) telah dilaporkan mampu menurunkan kolesterol melalui pengikatan asam empedu sehingga menurunkan proses daur ulang asam empedu dalam siklus enterohepatik. Selain itu, serat pangan tertentu juga dapat memperlambat proses pemecahan dan penyerapan lemak (Chen *et al.*, 2004).

Secara umum tidak dijumpainya indikasi perubahan organ-organ vital secara signifikan pada tikus mengindikasikan tidak adanya resiko negatif pengonsumsiannya bubuk kering-beku susu kedelai fermentasi. Fakta ini mendukung keamanan penggunaan bubuk susu kedelai sebagai bahan pelengkap produk makanan dan minuman dengan kualitas pangan fungsional. Pengumpulan fakta-fakta atas efek pemberian bubuk susu kedelai fermentasi ini sedang berlangsung saat ini melalui pengamatan ekofisiologi dan dinamika populasi mikrobiota saluran cerna. Secara keseluruhan, penelitian ini tidak hanya menunjukkan kemampuan bubuk susu kedelai fermentasi sebagai penurun kolesterol, namun juga memberikan peluang pengembangan produk-produk pangan fungsional berbasis kacang-kacangan yang melimpah di Indonesia.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian bubuk susu kedelai sebanyak 30g per kg pakan selama tiga minggu menurunkan kadar total kolesterol serum pada tikus baik dalam berupa susu kedelai non-fermentasi maupun yang difermentasi. Tikus yang mengonsumsi pakan berkolesterol tinggi dengan suplementasi bubuk susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* AP1 menunjukkan penurunan kadar total kolesterol sekitar 15%.

Tidak adanya pengaruh terhadap morfologi organ-organ vital dan peningkatan kadar glukosa darah pasca konsumsi mengindikasikan bahwa bubuk susu kedelai fermentasi aman dikonsumsi dan dapat digunakan sebagai bahan pangan fungsional.

KEPUSTAKAAN

- Anderson JW, Johnstone BM, and Cook-Newell ME, 1995. Meta-analysis of effects of soy protein intake on serum lipids in humans. *North England Journal of Medicine* 333: 2–76.
- Atkinson C, Skor HE, Fitzgibbons ED, Scholes D, Chen C, Wähälä K, Schwartz SM, Lampe JW, 2002. Overnight urinary isoflavone excretion in a population of women living in the United States, and its relationship to isoflavone intake. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention* 11: 253–260.
- Chen JR, Liu SM, Yang SC, and Suetsuna K, 2004. Soymilk Intake is Associated with Plasma and Liver Lipid Profiles in Rats Fed a High-Cholesterol Diet. *Nutrition* 20: 929–933.
- Chiechi LM, Secreto G, D'Amore M, Fanelli M, Venturelli E, Cantatore F, 2002. Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial. *Maturitas* 42: 295.
- Chien HL, Huang HY, and Chou CC, 2006. Transformation of Isoflavone Phytoestrogens during the Fermentation of Soymilk with Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Food Microbiology* 23: 772–778.
- Dinoto A, Rahayu RD, dan Hanoum A, 2009a. Hidrolisis Isoflavon Glikosida Kedelai (*Glycine max*) oleh *Sphingobacterium* sp. TB17. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres Perhimpunan Biologi Indonesia XIV*. Perhimpunan Biologi Indonesia. Malang, 24–25 Juli 2009.
- Dinoto A, Rahayu RD, dan Sulisty J, 2009b. Kapasitas *Lactobacillus plantarum* AP1 dalam Menghidrolisis Isoflavon Glikosida Kedelai (*Glycine max*). *Berkala Penelitian Hayati* 3C: 62–65.
- Hou JW, Yu RC, and Chou CC, 2000. Changes in Some Components of Soymilk during Fermentation with Bifidobacteria. *Food Research International* 33: 393–397.
- Keinan-Boker L, Peeters PH, Mulligan AA, Navarro C, Slimani N, Mattisson I, Lundin E, McTaggart A, Allen NE, Overvad K, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Linseisen J, Haftenberger M, Lagiou P, Kalapothaki V, Evangelista A, Frasca G, Bueno-de-Mesquita HB, van der Schouw YT, Engeset D, Skeie G, Tormo MJ, Ardanaz E, Charrondiere UR, Riboli E, 2002. Soy product consumption in 10 European countries: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Public Health Nutrition* 5: 1217–1226.
- Kritchevsky D, 1995. Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis: a review of the early history. *Journal of Nutrition* 125: 589.
- Kurzer MS, and Xu X. 1997. Dietary phytoestrogen. *Annual Review of Nutrition* 17: 353–381.
- Liu Z, Li W, Sun J, Liu C, Zeng Q, Huang J, Yu B, Huo J, 2004. Intake of soy foods and soy isoflavones by rural adult women in China. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 13: 204–209.
- Potter SM, 1995. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *Journal of Nutrition* 125: 606–611.
- Rahayu RD, Dinoto A, Sulisty J, dan Sri Purwaningsih, 2010. Aktivitas proteolitik dan anti-hipertensi susu kedelai yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* AP1 dan *Sphingobacterium* sp. TB17. *In Press*.
- Ren MQ, Kuhn G, Wegner J, and Chen J, 2001. Isoflavones, substances with multibiological and clinical properties. *European Journal of Nutrition* 40: 135.
- Sirtori CR. 2001. Risks and benefits of soy phytoestrogens in cardiovascular diseases, cancer, climacteric symptoms and osteoporosis. *Drug Saf* 24: 665
- Sirtori CR, Lovati MR, Manzoni C, Gianazza E, Bondioli A, Staels B, Auwerx J. 1998. Reduction of serum cholesterol by soy protein. *Metabolism and Cardiovascular Disease* 8: 334.
- Sirtori CR, Lovati MR, Manzoni C, Monetti M, Pazzucconi F, and Gatti E.----. Soy and cholesterol reduction: clinical experience. *Journal of Nutrition* 125: 598.
- Yamamoto S, Sobue T, Kobayashi M, Sasaki S, Tsugane S. 2003. Soy, isoflavones, and breast cancer risk in Japan. *Journal of National Cancer Inst* 95: 906–913.

Reviewer: **Tim Reviewer**