

# Uji Daya Antioksidan Ekstrak Air Biji Kedelai Kuning (*Glycine max* (L) Merrill) Dibandingkan Vitamin E pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>

Eka Yuliana<sup>1</sup>, Isnatin Miladiyah<sup>2</sup>

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

isnatin@fk.uii.ac.id

## Abstract

The production of free radicals (oxidants) that are not in balance with antioxidant activity can cause cell damage. The need for antioxidant is absolutely necessary not only endogenous but also exogenous. Yellow soybean is one of the plants that have antioxidant activity, which can reduce the effects of free radicals while vitamin E is a powerful antioxidant which is used. This study aims to determine antioxidant activity of water extract in the soybean seed yellow (*Glycine max* (L) Merrill) compared the decreased content of vitamin E on malondialdehyde (MDA) in the rat (*Rattus norvegicus*) male induced by CCl<sub>4</sub>. This study is an experimental research laboratory with a pretest-posttest control group. 25 male rats (*Rattus norvegicus*) were divided into 5 treatment groups. Group I (positive control vitamin E), group II, III, and IV were given water extract of yellow soybean (*Glycine max* (L) Merrill) with a concentration of 2.5%, respectively, 10%, and 40%. Group V is a negative control distilled water. Treatment was given for 5 days. On 6<sup>th</sup> day, all groups treated with CCl<sub>4</sub> 0.2 ml/200 g BB. Antioxidant activity measured by the decrease in serum MDA levels before and after treatment. Statistical analysis using One Way ANOVA. In One Way Anova test  $p$  value = 0.196 ( $p > 0.05$ ), which showed no significant difference (not significant) toward the mean decrease in rat blood serum MDA in all groups. Water extract of yellow soybean (*Glycine max* (L) Merrill) a difference between the antioxidant activity compared vitamin E as an antioxidant in white rats (*Rattus norvegicus*) male Wistar strain which has been induced CCl<sub>4</sub> but this difference was not statistically significantly.

**Keywords** : water extract of yellow soya beans (*Glycine max* (L) Merrill), serum MDA, antioxidants

## PENDAHULUAN

Radikal bebas dan antioksidan merupakan bahasan yang sedang banyak dibicarakan saat ini. Berbagai macam penyakit seperti penyakit jantung koroner, katarak, penyakit ginjal, dermatitis, kanker, dan infertilitas pada pria disebabkan oleh efek radikal bebas ini<sup>1</sup>. Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih-elektron tidak berpasangan pada orbit tertularnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Berbagai perbincangan mengenai antioksidan tidak dapat dilepaskan dari reaksi oksidasi berlebihan dalam tubuh. Dilihat dari hal tersebut, tampaknya oksigen mempunyai sifat baik dan juga buruk. Bersifat baik karena molekul ini sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk proses

metabolisme dan juga respirasi. Namun efek buruk ditimbulkan jika jumlah yang diserap tubuh terlalu banyak, karena menyebabkan senyawa menjadi aktif dan tidak stabil. Oksigen yang tidak stabil inilah yang merupakan salah satu sumber radikal bebas<sup>2</sup>.

Ilmuwan percaya bahwa 10.000 serangan radikal bebas terdapat setiap harinya. Setiap serangan ini dapat membentuk suatu rantai reaksi yang bisa membunuh sebuah sel. Radikal bebas ini tidak dapat dihindari tetapi ada banyak hal yang dapat dilakukan untuk mengurangi produksinya dalam tubuh dan memastikan bahwa sebagian besar radikal yang diproduksi akan dinetralkan sebelum menimbulkan efek yang berbahaya<sup>3</sup>.

Berdasarkan sumbernya, sebenarnya radikal bebas dapat berasal dari dalam dan juga dari luar tubuh. Radikal bebas tersebut dapat

terbentuk melalui metabolisme sel normal, proses peradangan, malnutrisi, respons terhadap sinar gamma, polusi, penggunaan obat-obatan, sinar UV, asap rokok, kelelahan, stres, olahraga berlebih, penggunaan rontgen, pestisida, dan bahan pengawet lainnya<sup>1</sup>. Radikal bebas yang terbentuk tidak sepenuhnya berefek negatif pada tubuh. Contoh penggunaan radikal bebas yang bermanfaat untuk tubuh adalah saat tubuh mendapat serangan infeksi, maka tubuh akan menggunakan radikal bebas yang berasal dari oksigen (Senyawa Oksigen Reaktif) yang disintesis oleh sel fagosit melalui jalur NADP oksidase yang menghasilkan senyawa radikal berupa O<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang berperan sebagai bakterisidal untuk membunuh senyawa penyebab infeksi<sup>4</sup>. Namun jika pembentukan radikal bebas tersebut terlalu berlebih dan tidak sesuai dengan keseimbangan tubuh maka akan berakibat berbahaya terhadap tubuh<sup>5</sup>. Oleh sebab itu keberadaannya harus dikendalikan oleh senyawa antioksidan<sup>6</sup>.

Senyawa antioksidan mempunyai mekanisme kerja dengan memberikan elektron, mengikat, dan mengakhiri reaksi radikal bebas yang berbahaya<sup>5</sup>. Antioksidan ini dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) dan luar tubuh (eksogen). Antioksidan endogen meliputi SOD, katalase, dan GSHPrx. Sedangkan antioksidan eksogen terdiri dari vitamin C dan E, karoten, saponin, polifenolm dan flavonoid<sup>3,7</sup>.

Salah satu komponen flavonoid yang sering digunakan dalam suplementasi makanan adalah senyawa fitoestrogen. Senyawa ini tersusun dari 3 komponen, yaitu isofalvon, lignin, dan kumestran<sup>8</sup>. Isoflavon ditemukan pada berbagai tanaman yang dikonsumsi manusia, termasuk biji-bijian dan padi-padian<sup>6</sup>. Isoflavon mempunyai banyak sifat yang bermanfaat seperti antioksidatif, estrogenik. Hiperkolesterolemik, dan juga antikanker<sup>9</sup>. Dari berbagai tanaman biji-bijian dan padi-padian tersebut, kandungan isoflavon paling yang

cukup banyak terdapat dalam kedelai dan produk olahannya seperti tempe<sup>6</sup>.

Kedelai merupakan bahan baku makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Asia terutama di Indonesia. Makanan yang dibuat dari bahan baku kedelai, tempe, kecap, tahu, kembang tahu, tauco. Kedelai mempunyai 2 jenis yaitu kedelai kuning dan kedelai hitam. Tetapi pemanfaatan pembuatan bahan pangan sebagian besar menggunakan kedelai kuning (seperti susu kedelai, tahu, tempe, tauco, dan kembang tahu) daripada kedelai hitam. Penggunaan kedelai hitam dimasyarakat biasanya banyak digunakan dalam pembuatan kecap. Kandungan gizi dalam kedelai mempunyai banyak manfaat seperti menurunkan kadar kolesterol dalam darah serta mencegah timbulnya penyakit jantung. Selain itu kedelai kuning juga memiliki efek sebagai antioksidan<sup>10</sup>.

Efek antioksidan yang terdapat dalam kedelai kuning inilah yang mendasari dilakukannya penelitian terhadap kedelai kuning sebagai salah satu alternatif antioksidan eksogen yang dapat mencegah terjadinya reaksi radikal bebas. Selain itu alasan penggunaan kedelai kuning sebagai bahan penelitian karena produksi kedelai kuning banyak terdapat di Indonesia dan merupakan salah satu bahan baku makanan utama yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia.

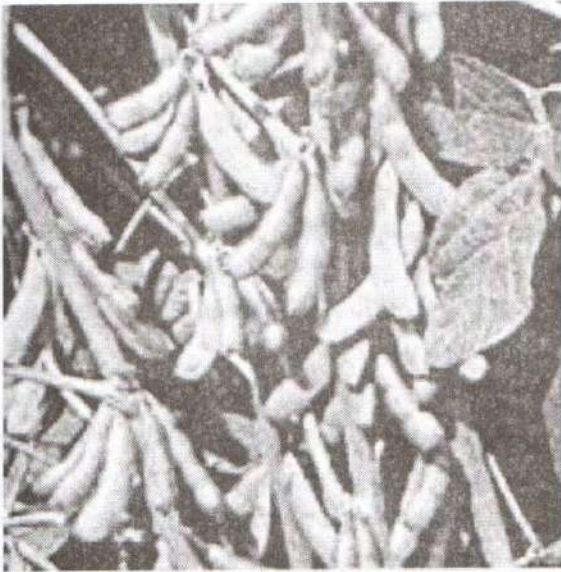
Kemampuan antioksidan ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merrill*) dibandingkan vitamin E diukur berdasarkan rerata kadar MDA sebelum dan sesudah perlakuan pada masing kelompok perlakuan.

### Kedelai kuning

Klasifikasi tumbuhan menurut Hadley & Hymowitz (1973)<sup>11</sup> adalah sebagai berikut :

Ordo	: Polypetales
Famili	: Leguminosae
Sub famili	: Papilionoideae
Genus	: <i>Glycine</i>

Sub genus : *Soja*  
 Species : *Max*  
 Nama Ilmiah : *Glycine max (L) Merill*



Gambar 1. Kedelai Kuning

#### Kedelai sebagai Antioksidan

Suatu senyawa dikatakan bersifat antioksidatif bila senyawa tersebut mampu mendonasikan satu atau lebih elektron, kepada senyawa prooksidan, kemudian mengubah senyawa oksidan menjadi senyawa yang lebih stabil. Sifat antioksidatif isoflavon kedelai. Sifat antioksidatif isoflavon merupakan suatu sifat yang banyak mendorong peneliti untuk menelusuri manfaatnya. Sebagai antioksidan, senyawa isoflavon dalam kedelai mampu meredam aktivitas radikal bebas dengan cara mengikat dan mencegah reaksi berantainya<sup>12,13</sup>.

Peneliti lain juga mengakui bahwa adanya potensi besar dari isoflavon dalam kedelai pada kesehatan manusia, karena kemampuannya sebagai *scavenger* (penangkap) radikal, yaitu dengan mengubah O<sub>2</sub> (ion superoksida) yang merupakan metabolit tereduksi yang dikatalis oleh dismutase<sup>14</sup>. Demikian pula Swain *et al.*,<sup>15</sup> yang melaporkan bahwa suplementasi isoflavon dalam bentuk kedelai sebanyak 40 gram/hari selama 24 minggu mampu melindungi wanita

perimenopause dari stres oksidatif, yang ditunjukkan oleh meningkatnya status antioksidan plasma. Sementara Chen *et al.*,<sup>16</sup> berpendapat bahwa suplementasi isoflavon dengan kadar genistein tinggi, pada tikus yang dilatih berlari, sebanyak 598 mg per kg pakan tikus selama 4 minggu, meningkatkan aktivitas SOD dari 0,08 U/mg protein *Red Blood Cells* (RBC) menjadi 0,091 U/mg protein RBC tikus.

#### Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah Ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merill*) mempunyai aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan vitamin E sebagai antioksidan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) anatan yang diinduksi CCl<sub>4</sub>.

#### METODE DAN CARA PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental murni dengan rancangan penelitian *pretest-posttest* dengan kelompok kontrol (*pretest-posttest with control group*) yaitu dengan dilakukan randomisasi pada kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Dilakukan pengukuran awal pada semua kelompok, diikuti intervensi pada semua kelompok kemudian dilakukan pengukuran akhir pada kedua kelompok tersebut.

Subjek penelitian yang digunakan adalah tikus yang diteliti oleh tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram, yang diperoleh dari fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia. Tikus putih yang digunakan dalam kondisi sehat. Jumlah hewan uji 25 ekor.

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merill*) yang dibuat dengan metode Infundasi dengan 3 tingkatan konsentrasi yaitu 2,5%, 10%, dan 40%. Pembuatan ekstrak air biji kedelai kuning dilakukan di Laboratorium Biologi Jurusan farmasi, Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia dan vitamin E sebagai kontrol positif

didapat dari Laboratorium Farmakologi jurusan Farmasi, FMIPA Universitas Islam Indonesia.

Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merrill*) dalam 3 konsentrasi. Sedangkan sebagai variabel terikat adalah kadar MDA serum darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebelum dan sesudah perlakuan.

Kadar malondialdehid (MDA) adalah kadar malondialdehid yang terukur dalam serum darah sebagai parameter terjadinya stres oksidatif atau peroksidasi lipid dalam tubuh pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, yang dinyatakan dalam satuan mMolar/L (miliMolar/Liter).

Kadar MDA awal adalah kadar MDA plasma darah tikus yang diukur sebelum perlakuan yaitu pada hari ke-0 dan pada hari ke-6 adalah hari saat dilakukan induksi  $CCl_4$  pada semua kelompok perlakuan. Kadar MDA akhir adalah kadar MDA yang terukur 1 hari setelah induksi  $CCl_4$ .

Daya antioksidan adalah kemampuan menurunkan kadar MDA serum darah awal dan akhir.

Analisis data menggunakan uji SPSS berupa *One-Sample Kolmogorov Smirnov Test* dan *One Way Anova*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini berupa eksperimental murni dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *pretest-posttest* dengan kelompok kontrol (*pretest-posttest with control group*). Dilakukan pengukuran kadar malondialdehid (MDA) sebelum perlakuan (hari ke-0) dan setelah perlakuan (hari ke-7). Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode *Thiobarbituric Acid (TBA)* secara spektrofotometri.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 25 ekor. Pemilihan hewan coba berupa tikus putih jantan, dimaksudkan agar dalam penelitian ini tidak terganggu oleh faktor hormonal. Tikus

dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing berjumlah 5 ekor.

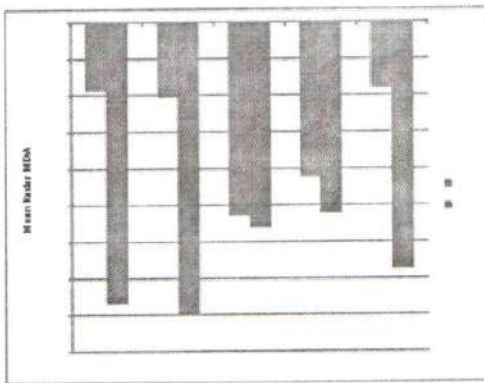
Kelompok I merupakan kontrol positif berupa vitamin E, kelompok II, kelompok III, dan kelompok IV adalah tikus yang diberi ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merrill*) dengan konsentrasi berturut-turut 2,5%, 10%, dan 40%. Kelompok V adalah kontrol negatif akuades 2 ml/200g BB.

Pada penelitian ini semua kelompok perlakuan diberi induksi  $CCl_4$  0,2 ml/200g BB pada hari ke-6. Induksi  $CCl_4$  dilakukan pada hari ke-6 yaitu 1 hari sebelum pengukuran kadar MDA akhir karena puncak kadar MDA terjadi 6-24 jam setelah induksi  $CCl_4$ <sup>17</sup>. Hal ini dilakukan untuk melihat apakah pemberian perlakuan pada masing-masing kelompok efektif sebagai pencegahan terhadap peroksidasi lipid yang terukur dalam MDA plasma darah tikus sesudah diinduksi oleh  $CCl_4$ . Karbon tetraklorida ( $CCl_4$ ) merupakan bahan kimia beracun yang setelah masuk dalam tubuh akan bereaksi dengan sitokrom P450 monooksigenase yang akan menghasilkan  $CCl_3^*$  (triklorometil) dan  $CCl_3O_2^*$  (triklorometil-peroksil)<sup>6</sup>.  $CCl_3^*$  merupakan ikatan kovalen dengan protein, lemak dan DNA, serta dapat memicu kerusakan hepatosit. Selain itu juga  $CCl_3^*$  dapat mengaktifasi sel kupfer yang jika teraktivasi akan meningkatkan mediator inflamasi yang semula dapat memerangi infeksi tetapi apabila jumlahnya berlebih akan dapat menyebabkan kerusakan sel-sel hati yang bertambah parah<sup>18</sup>.

Sampel darah tikus diambil dari pembuluh darah tikus di daerah mata yaitu pada sinus orbitalis. Darah tersebut kemudian disentrifus dan untuk melihat aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan pengukuran MDA dengan metode TBA. Pengukuran MDA dengan metode TBA dilakukan pada hari ke-7 (1 hari setelah induksi  $CCl_4$  pada semua kelompok). Adapun penggunaan pengukuran MDA dengan metode TBA karena pengukuran MDA secara luas banyak digunakan sebagai indikator stres

oksidatif, yang ditentukan secara spesifik maupun non-spesifik dalam suatu pengukuran menggunakan asam tiobarbiturat. Metode pengukuran ini disebut *TBA-reactant substansi* TBARs merupakan salah satu indikator peroksidasi lipid yang awal digunakan dalam penelitian hewan awal digunakan dalam penelitian hewan coba dan manusia. Sebagai kontrol positif antioksidan digunakan berupa vitamin E. Vitamin E merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara memutuskan rantai peroksida lipid yang banyak muncul karena adanya reaksi antara lipid dan radikal bebas dengan menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak<sup>20</sup>.

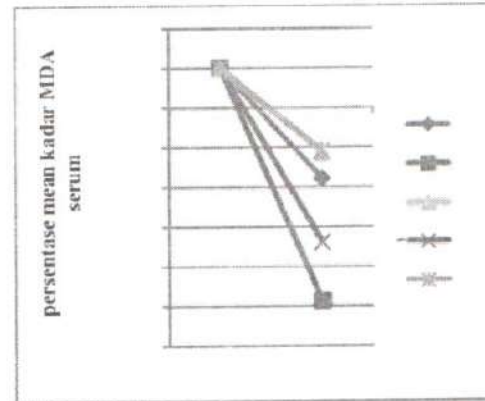
Dari data hasil pengukuran dapat dibuat kurva hubungan antara rerata kadar MDA dengan waktu pengambilan darah sebagaimana ditunjukkan oleh Gambar 2 berikut ini :



Gambar 2. Diagram perbandingan Rerata Kadar MDA Serum Darah Tikus Awal dan Akhir (mMolar/l)

Keterangan : I. Kontrol Positif, II, Ekstrak air biji kedelai kuning konsentrasi 2,5%, III. Ekstrak air biji kedelai kuning konsentrasi 10%, IV. Ekstrak air biji kedelai kuning konsentrasi 40%, V. Kontrol negatif.

Rerata persentase penurunan kadar MDA pada seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini :



Gambar 3. Kurva Rerata Persentase Penurunan Kadar MDA Serum Darah Tikus

Keterangan : I. Kontrol Positif, II, Ekstrak air biji kedelai kuning konsentrasi 2,5%, III. Ekstrak air biji kedelai kuning konsentrasi 10%, IV. Ekstrak air biji kedelai kuning konsentrasi 40%, V. Kontrol negatif.

Dari kurva rerata penurunan kadar MDA pada setiap kelompok yang tersaji dalam gambar 3 terlihat bahwa penurunan kadar MDA terjadi pada semua kelompok. Penurunan kadar MDA terjadi pada semua kelompok. Penurunan kadar MDA terbesar terdapat pada kelompok II (ekstrak konsentrasi 2,5%), diikuti berturut-turut kelompok IV (ekstrak konsentrasi 40%), dan kelompok I (kontrol positif). Pada kelompok II (ekstrak konsentrasi 10%) dan kelompok V (kontrol negatif) sedikit menunjukkan penurunan.

Sebelum melakukan uji *Anova*, maka dilakukan uji normalitas dengan *One Sample Kolmogorov Smirnov Test* untuk mengetahui sebaran data rata-rata penurunan kadar MDA plasma darah tikus. Uji normalitas didapatkan nilai *Sig. (2-tailed) p= 0,779 (p>0,05)* yang menunjukkan bahwa distribusi data awal homogen dan memiliki sebaran data dengan *variance* yang sama sehingga dapat dilakukan *One Way Anova*.

Penurunan kadar MDA serum darah tikus dibandingkan antar kelompok perlakuan yang tersaji pada tabel 2 diuji dengan menggunakan *One Way Anova*. Hasilnya

menunjukkan nilai *Sig. p*=0,196 ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna (tidak signifikan) terhadap rerata penurunan kadar MDA plasma darah tikus antara kelompok satu dengan kelompok lainnya.

Dari kurva rerata penurunan kadar MDA pada setiap kelompok yang tersaji dalam gambar 2 terlihat bahwa penurunan kadar MDA terjadi pada semua kelompok. Dengan penurunan kadar MDA terbesar yaitu pada kelompok II (ekstrak konsentrasi 2,5%), kelompok IV (ekstrak konsentrasi 40%), dan kelompok I (kontrol positif). Sedangkan pada kelompok III (ekstrak konsentrasi 10%) dan kelompok V (kontrol negatif) sedikit menunjukkan penurunan yang berarti. Hal ini berarti sebagai antioksidan, senyawa isoflavon dalam kedelai mampu meredam aktivitas radikal bebas dengan cara mengikat dan mencegah reaksi berantainya<sup>12,13</sup>. Peneliti lain juga mengakui bahwa adanya potensi besar dari isoflavon dalam kedelai pada kesehatan manusia, karena kemampuannya sebagai *scavenger* (penangkap) radikal, yaitu dengan mengubah  $O_2$  (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalis oleh dismutase<sup>14</sup>. Demikian pula Swain *et al.*, (2002)<sup>15</sup> yang melaporkan bahwa suplementasi isoflavon dalam bentuk kedelai sebanyak 40 gram/hari selama 24 minggu mampu melindungi wanita perimenopause dari stres oksidatif, yang ditunjukkan oleh meningkatnya status antioksidan plasma. Sementara Chen *et al.*, (2002)<sup>16</sup> berpendapat bahwa suplementasi isoflavon dengan kadar genistein tinggi, pada tikus yang dilatih berlari, sebanyak 598 mg per kg pakan tikus selama 4 minggu, meningkatkan aktivitas SOD dari 0,08 U/mg protein *Red Blood Cells* (RBC) menjadi 0,091 U/mg protein RBC tikus. Namun dalam penelitian ini setelah dilakukan uji statistik *One Way Anova*, hasilnya menunjukkan nilai *Sig. p*=0,196 ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak ada perbedaan bermakna (tidak signifikan) terhadap rerata penurunan kadar

MDA serum darah tikus antar satu kelompok dengan kelompok lainnya.

Hasil diatas menunjukkan bahwa penelitian ini tidak sesuai dengan teori-teori yang telah dikemukakan sebelumnya yang menyebutkan bahwa kedelai mempunyai aktivitas antioksidan jika terlihat berdasarkan hasil uji statistik *One Way Anova* yang telah dilakukan. Kemungkinan penyebab hasil tidak signifikan pada penelitian ini kemungkinan karena keterbatasan penelitian yang meliputi :

1. Penelitian tidak melakukan uji kandungan kimia yaitu uji total senyawa antioksidan isoflavon untuk mengetahui konsentrasi senyawa antioksidan dengan tepat dalam ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merrill*).
2. Waktu yang digunakan dalam penelitian hanya 1 minggu.
3. Pembuatan larutan vitamin E yang hanya 1 kali pembuatan untuk 5 hari, mempengaruhi hasil penelitian karena mempengaruhi kelarutan walaupun telah ditambah CMC Na 1% yang berfungsi mencegah endapan.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Hasil penelitian ditunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara aktivitas antioksidan ekstrak air biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merrill*) dibandingkan vitamin E sebagai antioksidan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi  $CCl_4$  tetapi perbedaan secara statistik tidak nyata.

### Saran

Yang perlu diperhatikan dalam penelitian selanjutnya adalah:

1. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai biji kedelai kuning (*Glycine max (L) Merrill*) sebagai antioksidan dengan metode, ekstraksi, rentang waktu, pelarut dan konsentrasi yang berbeda.

2. Perlu dilakukan penelitian dengan rentang waktu yang lebih lama (>1 minggu)
3. Pembuatan vitamin E sebaiknya dibuat per hari untuk menghindari endapan yang terbentuk yang dapat mempengaruhi efektivitas antioksidan vitamin E.
4. Perlakuan yang homogen dalam pelaksanaan penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Stewart R.J., Askew E.W., McDonald C.M., Antioxidant status of young children response to an antioxidant supplement, *Journal of America* 2002;8(102): 1652-1657. 2.
2. Hayashi, H., 2008. Oksigen yang tidak stabil adalah penyebab sakitnya kita, <http://id.shvoong.com/exact-sciences/1820047-oksigen-yang-tidak-stabil-adalah/>.diakses 19 juni 2010.
3. Youngson, R., 2005. Antioksidan: Manfaat Vitamin C & E bagi Kesehatan. Arcan, Jakarta. Penangkalan. CFNS-IPB dan Kedutaan Besar Perancis-Jakarta. 5.
4. Rohdiana, D., 2001. Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun The, *Majalah Jurnal Indonesia*, 12:1, 53-58.
5. Winarsi, H., 2007. Antioksidan Alami & Radikal Bebas, KANISIUS, Yogyakarta
6. Lampe, J.W., 1999. Health Effects of Vegetables and Fruit; Assessing Mechanisms of Action in Human Experimental Studies, *The American Journal of Clinical nutrition*, 70(Suppl), 475S-490S.
7. Ruggiero R.J., Pharm D., Frances E.L., Estrogen;physiology, pharmacology, and formulations for replecement therapy, *Journal of Miidwifery and Women's Health* 2002;47:130-138.
8. Winarsi, H., 2005. *Isoflvon*, Gadjah Mada University, Yogyakarta, 35-44.
9. Cahyadi, W., 2009. *Kedelai : khasiat dan Teknologi* (Edisi 1). Bumi Aksara, Jakarta, 2-14.
10. Hadley, H.H., Hymowitz, T., 1973. *Spesication and Cytogenetics in, Soybean: Improvement, Production and Uses*, Madison Wisconsin
11. Kameoka S., leavit P., Chang C., Kuo S.M., Expression of antioxidant proyeins in human intestinal caco-2 sells trated with dietary flavonoids, *Cancer Lett* 1999; 146:161-167.
12. Kopiotis S., Hermann M., Held I., Seelos C., Ehringer H., Gmeiner B. M., Genitein, the dietary-derived angiogenesis, inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL, *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1997;17:2268-2874.
13. Vedevanam K., Srijayanta S., O'Reilly J., Antioxidants action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytocechemical extract (SPE), *Phytoter Res* 1994;13:601-608
14. Swain J.H., Alekel D.I., Dent S.B., Peterson C.T., Reddy M.B., Iron indexes and total antioxidants status in response to soy protein intake perimenopausal women, *The American Journal of Clinical Nutrition* 2002;76:165-171.
15. Chen C.Y., Holtzman G.I., Bakhit R.M., High-genistein isoflavone supplementation modulated erythrocyte antioxidant enzymes and increased running endurance in rats undergoing one session of exhausting exercise-a pilot study, *Pakistan J Nurt* 2002;1:1-7.
16. Panjaitan R.G.P., Handharyani E., Zakiah Z., Manalu W., Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus, *Makara Kesehatan* 2007;11(1):11-16.
17. Nurhidayati, 2007, Efek Protektif Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Hepatotoksisitas yang diInduksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>), *Skripsi*, Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga.

18. Favier, A.E. 1982. *Biological Indicators of Oxidative Stress in Humans. Trace Elements and Free Radicals in Oxidative Disease*. Champaign Illionois.
19. Hariyatmi, 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lenjut Usia, *Jurnal MIPA*, 14:1