

SIFAT HIPOGLISEMIK PAKAN TINGGI PROTEIN KEDELAI PADA MODEL DIABETIK INDUKSI ALLOXAN

[Hypoglycemic Property of a High-Protein Soybean Based feed in Model Alloxan Induced Diabetic]

C. Retnaningsih¹⁾, Zuheid Noor²⁾, dan Y. Marsono²⁾

¹⁾ Staf Pengajar PS Teknologi Pangan, Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang

²⁾ Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Hypoglycemic properties of soybean protein were evaluated in alloxan-induced diabetic rats. Twenty eight mature male Sprague Dawley (SD) rats (250-300g) were used and divided into four groups of seven rats. They were: 1) Placebo Standard (PS); 2) Alloxan injection-Standard (AS); 3) Alloxan injection-soybean protein 250% (APK 250) dan 4) Alloxan injection-soybean protein 100% (APK 100). One group was injected with aquabidest (Placebo) and three groups were diabetic induced by alloxan injection (80 mg/Kg of body weight by intramuscular injection).

Placebo-Standard (PS) and Alloxan injection-Standard (AS) groups were fed standard diet whereas APK 250 and APK 100 were fed soybean protein diet for 42 days. Concentration of serum glucose was determined before injection (0 day) and 1,7, 14, 21, 28, 35 and 42, days after injection.

The result showed that alloxan injection increased the level of serum glucose. Bioassay experiment demonstrated that diet on high concentration of soybean protein (250%) decreased the level of serum glucose from 351,44 mg/dl to 230,62 mg/dl (34,37%) while soy protein 100% decreased the level of serum glucose from 404,56 mg/dl to 175,08 mg/dl (56,72%). On the other hand, standard diet were failed to decreased the level of serum glucose.

Key words : hypoglycemic, soybean, diabetic and glucose

PENDAHULUAN

Di Indonesia tingkat kejangkitan diabetes sekitar 1,5% penduduk (Marwani-Bratasaputra, 2000) dan diperkirakan akan terjadi peningkatan diwaktu mendatang, maka perlu penanganan serius dan terpadu agar tidak menjadi masalah kesehatan nasional di kemudian hari.

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik karbohidrat akibat kekurangan insulin baik relatif maupun absolut yang akan menimbulkan hiperglisemia, glikosuria dan kemudian diikuti dengan gangguan metabolisme lemak, protein, elektrolit dan air (Ganong, 1993). Gejala klasik yang menyertai penderita diabetes antara lain meliputi poliuria (banyak kencing), polidipsia (banyak minum) dan polifagia (banyak makan) namun badan cenderung mengurus.

Secara klinis DM dapat dikelompokkan menjadi 2 tipe yaitu Insulin Dependent Diabetes Mellitus /IDDM (tipe 1) dan Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus /NIDDM (tipe 2). Penderita IDDM memerlukan pasokan insulin dari luar (insulin eksogen) karena produksi insulin endogen sangat kurang. Pada kelompok tersebut umumnya penderita berusia muda (anak-anak) sehingga disebut *juvenil onset*. Sebaliknya penderita NIDDM biasanya telah berusia dewasa (*adult onset*) dan prevalensinya jauh lebih tinggi dibandingkan IDDM. Dalam kategori ini terdapat

insulin tidak efektif atau tidak mencukupi dan biasanya dapat dikelola melalui terapi diet.

Tetapi DM dengan pengaturan diet tidak memerlukan biaya mahal, mudah dilakukan namun perlu kedisiplinan yang tinggi. Salah satu bahan makanan yang dapat dipertimbangkan sebagai pilihan dalam menu diet yaitu bahan makanan berbasis kedelai. Kedelai merupakan salah satu komoditi pertanian yang sudah digunakan secara luas khususnya di Indonesia. Hal ini bukan saja karena alasan ekonomi namun kedelai juga memiliki kandungan nutrisi dan senyawa-senyawa bioaktif yang sangat baik untuk kesehatan. Kedelai mengandung protein yang tinggi (sekitar 40% db) dengan asam amino yang lengkap yang dapat menggantikan protein hewani dan mempunyai peran penting untuk pencegahan berbagai macam penyakit.

Protein kedelai termasuk protein yang berkualitas karena selain kandungan asam aminonya yang lengkap juga memiliki nilai kecemasan yang tinggi sehingga dapat memberikan bioavailabilitas nutrisi yang baik bagi tubuh. Dalam kaitannya dengan penyakit DM, protein kedelai pada studi *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan pengaruh hipoglisemik (Zuheid-Noor, 1998; Hurley et al., 1995), memperbaiki resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas insulin pada model binatang diabetik (Iritani et al., 1997; Iritani et al., 1996). Namun demikian sifat

hipoglisemik dari protein kedelai itu perlu diketahui seberapa besar efektivitasnya untuk penderita DM bila dikonsumsi dalam jumlah banyak.

METODOLOGI

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kedelai varietas Slamet yang diperoleh dari Balai Benih Gading-Gunung Kidul (DIY). Bahan-bahan lain untuk pakan tikus mengacu America Institut of Nutrition /AIN 1993 (Reeves, et al., 1993). Untuk analisa kimia (proksimat tepung kedelai dan fraksi protein kedelai digunakan beberapa bahan kimia seperti H₂SO₄, NaOH, HCl, asam borat, Na₂SO₄ dan petroleum eter diperoleh dari Sigma Chemical Company (Amerika Serikat). Bahan kimia untuk analisa kadar glukosa serum digunakan glukosa kit (Bavaria Diagnostic, Germany) dan untuk induksi diabetes digunakan alloxan monohidrat (Sigma Chemical Company, Amerika Serikat).

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan jenis Sprague Dawley berumur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan antara 250-300 g, diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan percobaan (UPHP), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain sentrifuse besar (Beckman tipe J-68), sentrifuse kecil (Hettich EBA III), pH meter (HM-205), kandang tikus individual beserta perlengkapannya, spektrofotometer (UV-120-01, Shimadzu) dan beberapa alat gelas lainnya .

Metode Penelitian

A. Persiapan Komponen Utama Penyusun Pakan

1. Pembuatan tepung kedelai
Kedelai (varietas Slamet) dengan kadar air ± 13% db digiling kemudian diayak dengan ayakan lolos 60 mesh.
2. Fraksi protein kedelai
Tepung kedelai diekstraksi pada pH 9 selama 60 menit pada suhu 50°C kemudian disentrifugasi (4000 rpm, 15 menit). Supernatan diatur pada pH 4 selama 30 menit pada suhu 60°C lalu disentrifugasi (4000 rpm, 15 menit). Endapan dikeringkan dalam kabinet pengeringan pada suhu 50°C selama 10-12 jam, selanjutnya digiling dan diayak dengan ayakan lolos 6 mesh.
3. Pembuatan pakan perlakuan
Komposisi bahan pakan perlakuan dibuat secara isokalori dan isonitrogen. Protein kasein dalam pakan standar (Reeves, et al., 1993) diganti dengan protein kedelai (250% dan 100 %). Komposisi bahan pakan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi bahan pakan (g/kg)

Bahan	Pakan standar (AIN 1993) ^{a)}	Protein kedelai 250% (PK-250)	Protein kedelai 100% (PK-100)
Pati jagung	620,69	208,94	555,48
Kasein	140,00	-	-
Protein kedelai	-	551,63	220,65
Sukrosa	100,00	100,00	100,00
Minyak kedelai	40,00	-	20,12
Serat	50,00	50,00	50,00
Camp. Mineral	35,00	21,43	29,57
Camp. Vitamin	10,00	10,00	10,00
Kholin bitartrat	2,50	2,50	2,50
L-sistin	1,80	1,80	1,80
Total (g)	998,38	944,68	988,51
Total (kal)	3346,40	3400,00	3384,70

^{a)} American Institut of Nutrition 1993 (Reeves, et al. 1993).

B. Bioassay

Tikus putih jantan jenis Sprague Dawley sebanyak 28 ekor dibagi secara acak menjadi 4 kelompok yaitu : 1). Kelompok placebo (injeksi aquabidest) dengan pakan standar (PS); 2). Kelompok injeksi alloxan dengan pakan protein kedelai 250% (APK 250); dan 4). Kelompok injeksi alloxan dengan pakan protein kedelai 100% (APK 100). Penginjeksian (alloxan maupun aquabidest) dilakukan

secara intra muskular dengan dosis 80 mg/kg berat badan tikus. Sebelum diinjeksi, tikus mengalami periode adaptasi selama 3 hari dengan pakan standar kemudian dipuaskan selama 12 jam (minum *ad libitum*) dan setelah injeksi tikus mendapat pakan perlakuan selama 42 hari. Analisa kadar glukosa serum dilakukan sebelum injeksi, 1 hari setelah injeksi, 7 hari setelah injeksi dan berikutnya setiap minggu. Penimbangan berat badan dilakukan setiap minggu

sedangkan jumlah pakan yang dikonsumsi dihitung harian. Tikus diperlihara dalam kandang individual dalam ruangan yang berventilasi cukup. Setiap hari pakan dan minum tikus diganti dan kandang tikus dibersihkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisa Proksimat Tepung Kedelai dan Fraksi Protein Kedelai.

Hasil analisa kandungan tepung kedelai dan fraksi protein kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi gizi tepung kedelai dan fraksi protein kedelai varietas Slamet

Komposisi	Tepung kedelai (% db)	Fraksi protein kedelai (%db)
Protein	34,4	56,8
Karbohidrat	26,7	25,8
Lemak	21,0	9,5
Abu	11,5	5,3
Air	6,4	2,5

Fraksi protein kedelai adalah bahan utama pakan sebagai sumber protein pengganti kasein (pakan standar) pada penelitian dengan hewan coba *in vivo*. Kandungan protein kedelai varietas Slamet hanya 34%. Nilai tersebut

lebih rendah bila dibandingkan dengan varietas lain misalnya kedelai varietas Malabar (42,38% db.; Dwianna-Amrita-Dewi, 2000). Hal itu sesuai dengan pernyataan Liu (1999) bahwa kadar protein kedelai bervariasi karena adanya perbedaan varietas, kondisi pertumbuhan dan lingkungan. Namun dengan proses ekstraksi yang dilakukan pada pembuatan fraksi protein kedelai terjadi peningkatan kandungan protein sebesar 65,1% karena selama ekstraksi terjadi pemisahan bahan-bahan penyusun yang lain seperti lemak, karbohidrat dan abu.

2. Bioassay

Penelitian secara *in vivo* (bioassay) dilakukan untuk menguji pengaruh pakan yang mengandung fraksi protein kedelai dengan konsentrasi yang berbeda terhadap penurunan kadar glukosa serum tikus. Dalam penelitian ini dianalisa pula jumlah konsumsi pakan harian dan perubahan berat badan tikus setiap minggunya.

A. Konsentrasi Pakan dan Berat Badan Tikus

Jumlah pakan yang dikonsumsi diketahui dari selisih antara jumlah pakan yang diberikan dengan sisa pakan masing-masing tikus setiap hari dan penimbangan tikus dilakukan setiap minggu. Hasil rata-rata konsumsi pakan berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata konsumsi pakan dan berat badan tikus pada berbagai perlakuan.

Perlakuan	Pengamatan hari ke	Konsumsi pakan (g)	Berat badan (g)
Placebo-standar (PS)	0	15,23	273,30
	7	13,30	271,19
	14	15,59	284,79
	21	16,04	295,36
	28	17,57	307,70
	35	17,94	309,30
	42	18,03	331,10
Alloxan -standar	0	15,66	262,94
	7	12,00	222,23
	14	12,40	198,62
	21	12,60	189,30
	28	13,72	184,75
	35	13,98	186,32
	42	14,36	181,08
Alloxan-Protein Kedelai 250% (APK 250))	0	15,47	280,44
	7	13,03	246,81
	14	12,98	252,12
	21	13,17	246,15
	28	14,43	246,72
	35	14,55	245,22
	42	14,75	246,18
Alloxan-Protein Kedelai 100% (APK 100))	0	15,57	260,67
	7	12,66	234,56
	14	13,17	228,40
	21	13,40	230,58
	28	13,92	231,30
	35	14,05	238,72
	42	14,30	243,67

Dari Tabel 3 terlihat bahwa minggu pertama setelah injeksi terjadi penurunan jumlah pakan yang dikonsumsi pada semua kelompok tikus. Injeksi nampaknya dapat menimbulkan stress yang dapat mempengaruhi selera makan. Pada kelompok PS (Placebo-pakan standar) stress akibat injeksi hanya bersifat sementara, terbukti mulai minggu ke 2 (hari ke 14 hari) jumlah pakan yang dikonsumsi sudah meningkat dan terus meningkat hingga akhir penelitian (peningkatan sebesar 35,56%). Sedangkan pada kelompok tikus yang diinduksi dengan alloxan (AS, APK 250 dan APK 100) peningkatan masing-masing hanya sebesar 19,67%, 13,20% dan 13,30%. Meskipun pada kelompok AS, APK 250 dan APK 100 itu terjadi peningkatan jumlah pakan yang dikonsumsi namun dibandingkan dengan saat kondisi normal (hari 0) mengalami penurunan. Alloxan menyebabkan nekrosis pada pulau-pulau langerhans pankreas dan secara selektif merupakan toksin sel beta (β) pankreas (Lenzen, et al., 1996), sehingga tikus yang diinduksi dengan alloxan tersebut akan mengalami DM yang tentu saja membuat tikus menjadi tidak nyaman dan sakit. Adanya peningkatan jumlah pakan yang dikonsumsi mulai minggu ke 2 ini menunjukkan bahwa pada kelompok AS, APK 250 dan APK 100 telah terjadi polifagia serta podipsia (pengamatan visual).

Berat badan tikus pada kelompok PS pada minggu pertama mengalami penurunan, hal itu sesuai dengan jumlah pakan yang dikonsumsi, namun mulai minggu ke 2 hingga akhir penelitian terjadi peningkatan berat badan

sebesar 21,15%. Pada kelompok tikus yang diinduksi dengan alloxan terutama kelompok AS berat badannya menurun tajam (31,13%), meskipun mulai minggu ke 2 hingga akhir penelitian terjadi peningkatan jumlah pakan yang dikonsumsi. Protein kasein pada pakan standar tersebut nampaknya tidak memberi efek positif pada kondisi DM sehingga terus terjadi proteolisis, dan liposis. Penurunan berat badan pada kelompok APK 250 hingga akhir penelitian sebesar 12,22%. Kondisi ini jauh lebih baik dibandingkan kelompok AS namun lebih buruk bila dibandingkan kelompok APK 100. Dari indikasi peningkatan jumlah pakan yang dikonsumsi dan penurunan berat badan ini diduga pakan tinggi protein kedelai kurang memberikan dampak positif pada penderita DM. Hal itu mungkin karena dalam protein tersebut terdapat banyak asam amino yang bersifat glukogenik sehingga memperbesar peluang terjadinya glukoneogenesis. Pada kelompok APK 100 penurunan berat badan hanya sebesar 6,52%. Kenyataan ini menunjukkan bahwa protein kedelai yang dikonsumsi dalam jumlah seimbang (sesuai dengan kebutuhan tubuh) dengan nutrisi yang lain dapat memberikan efektivitas yang lebih tinggi dari pada dikonsumsi berlebihan.

B. Kadar Glukosa Serum

Pengaruh pemberian pakan perlakuan dan injeksi (aquabidest maupun alloxan) terhadap kadar glukosa serum tersaji pada Tabel 4.

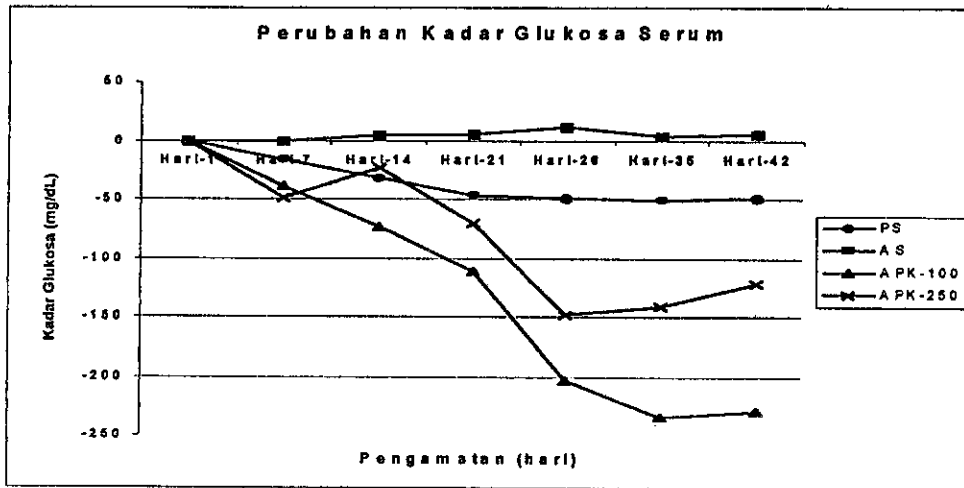
Tabel 4. Rata-rata kadar glukosa serum tikus (mg/dl).

Pertakuan	hari 0	hari 1	hari 7	hari 14	hari 21	hari 28	hari 35	hari 42
Placebo-Standar (PS)	66,89	130,66	113,65	97,89	83,43	81,33	78,76	81,31
Aloxan-standar (AS)	67,32	408,86	405,84	411,55	412,06	418,4	409,84	412,13
Aloxan Protein Kedelai 250% (APK 250)	66,89	351,44	301,99	328,17	280,90	203,60	210,44	230,62
Alloxan Protein kedelai 100% (APK 100)	65,97	404,56	365,11	330,51	293,27	200,8	170,61	175,08

Dari Tabel 4 terlihat bahwa satu hari setelah injeksi menunjukkan peningkatan kadar glukosa serum pada semua kelompok tikus. Pada kelompok PS (injeksi aquabidest) peningkatan kadar glukosa serum tersebut hanya karena stress oleh injeksi. Lain halnya dengan kelompok AS, APK 250 dan APK 100 yang diinduksi dengan alloxan terjadi peningkatan kadar glukosa serum yang sangat tajam. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok AS, APK 250 dan APK 100 telah mengalami diabetes. Kondisi tersebut sejalan dengan pendapat Ganong (1993) yang menyatakan bahwa alloxan adalah salah satu senyawa yang dapat menghambat sekresi insulin yang kemudian menyebabkan terjadinya hiperglisemia. Pakan perlakuan pada masing-masing

kelompok diberikan setelah tikus diinjeksi dan untuk melihat seberapa besar pengaruh pakan terhadap perubahan kadar glukosa serum, dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada kelompok APK 250 dan APK 100 mulai dari hari ke 7 hingga akhir penelitian secara umum terjadi penurunan kadar glukosa serum, masing-masing sebesar 34,37% dan 56,72%. Hal ini menunjukkan bahwa protein kedelai mempunyai sifat hipoglisemik. Kenyataan ini didukung oleh hasil penelitian Iritani et al (1997) dan Dwianna-Amrita-Dewi (2000) yang menyebutkan bahwa protein kedelai mampu bersifat hipoglisemik pada tikus diabetik induksi alloxan, memperbaiki resistensi insulin dan meningkatkan sentivitas insulin pada binatang diabeik (Iritani et al., 1997)



Gambar 1. Perubahan glukosa serum (mg/dl) dengan perlakuan Placebo Pakan Standar (PS), Alloxan-Pakan Standar (AS), Alloxan-Pakan Protein Kedelai 250% (APK 250), Alloxan-Pakan Protein Kedelai 100% (APK 100) selama 42 hari.

Protein kedelai memiliki kandungan arginin yang lebih banyak dibandingkan kasein. Irianti et al (1997) menyebutkan secara *in vivo* pada tikus dimana terjadi peningkatan konsentrasi insulin plasma secara signifikan setelah melakukan penambahan 0,5% arginin dari protein kedelai pada pakan yang mengandung kasein.

Ada perbedaan sifat hipoglisemik antara APK 250 dan APK 100. Pada kelompok APK 250 slope penurunan kadar glukosa serum tidak setajam kelompok APK 100 bahkan pada hari ke 35 dan 42 terjadi peningkatan kadar glukosa serum. Ada beberapa kemungkinan yang menyebabkan kondisi tersebut antara lain seperti diungkapkan oleh Woelever et al. (1997) bahwa diet tinggi protein (pada penelitiannya menggunakan 20%) dapat meningkatkan hiperinsulinemia dan resistensi insulin. Diet protein dapat memacu sekresi insulin. Bersamaan dengan sekresi insulin diskresikan pula amyloid (sejenis protein) sehingga sekresi insulin yang tinggi berkaitan pula dengan kenaikan laju sekresi dan akumulasi amyloid. Akumulasi amyloid pada pulau langerhans diketahui dapat merusak sel beta. Kerusakan sel beta menyebabkan kegagalan sekresi insulin dan memperparah diabetes (Woelever et al., 1997). Selain itu diduga pada protein yang dikonsumsi dalam jumlah banyak tersebut juga terkandung banyak asam amino yang bersifat glukogenik. Asam amino glukogenik tersebut juga terkandung banyak asam amino yang bersifat glukogenik. Asam amino glukogenik tersebut melalui siklus asam sitrat diubah menjadi glukosa, akibatnya terjadi hiperglisemia (Ganong, 1993). Menurut Ramachandran dan Viswanathan (1997) diet tinggi protein pada penderita diabetes tidak dianjurkan karena akan mempercepat munculnya komplikasi seperti diabetik

nefropati. Penurunan kadar glukosa serum pada kelompok APK 100 hingga akhir penelitian mencapai 56,72% (dari 404,56 mg/dl menjadi 175,08 mg/dl). Hal ini memberi gambaran bahwa *intake* protein kedelai dengan dosis normal ternyata memberi efek yang lebih baik untuk penderita diabetes, bahkan menurut WHO (Mann dan Lewis Bamed, 1997) diet protein ± 15 % dari total energi dapat menurunkan albuminurium dan memperbaiki haemodinamik renal pada penderita diabetes. Dilain pihak pada kelompok AS tidak terjadi penurunan kadar glukosa serum bahkan terjadi sedikit peningkatan (0,80%). Hal ini mungkin disebabkan pada protein kasein lebih banyak terkandung asam amino essensial dibandingkan protein kedelai.

KESIMPULAN

Protein kedelai mempunyai sifat hipoglisemik namun kadar konsumsinya perlu diperhatikan. Asupan (*intake*) protein kedelai yang berlebihan (250%) memberikan efek hipoglisemik yang lebih rendah (34,37%) dibandingkan asupan normal (56,72%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Zuheid Noor, MSc, yang telah memberi kesempatan ikut terlibat dalam penelitian Hibah Tim Pasca Sarjana Batch IV No. 049/HPPP/Des IV/URGE/1999 tanggal 9 Maret 1999 addendum No. 049/ADD. 1/HPPP/Des IV/URGE/1999 tanggal 15 April 1999.

DAFTAR PUSTAKA

- Dwianna-Amrita-Dewi 2000.** Efek Hipoglisemik Diet Protein Kedele dan Asam Fitat pada Tikus Diabetes. Tesis. FTP-UGM. Yogyakarta.
- Ganong, WF., 1993.** Review of Medical Physiology. 16^{ed}. Lange Medical Publication. San Fransisco, California.
- Hurley, C., I., Galibois and H. Jacques. 1995.** Fasting and Postprandial Lipid and Glucose Metabolisms are Modulated by Dietary Proteins and Carbohydrates : Role of Plasma Insulin Concentration. J. Nurt. Biochem. 6 : 540-546.
- Iritani, N.,H. Hosomi, H. Fukuda, K. Teda and H. Ikeda. 1996.** Soybean Protein Supresses Hepatic Lipogenic Enzyme Gen Expression in Wistar Fatty Rats. J. Ntr. 126 ; 380-388
- Iritani, N., T. Susimoto, H. Fukuda, M. Komiya and H. Ikeda 1997.** Dietary Soybean Protein Increases Insulin Receptor Gen Expresion in Wistar Fatty Rats When Dietary Polyunsaturated Fatty Acid Level is Low. J. Nutr. 126: 1077-1083
- Lenzen T. M. Tiedge, A. Jorns and R. Munday. 1996.** Alloxan derivatives as a tool for elucidation of the mechanism of he diabetogenic action of alloxan. Lesson from Animal Diabetes VI. Ed. E. Shaffir. USA.
- Liu, K. 1999.** Soybeans Chemistry, Technology and Utilization. An. Aspen Publication. Aspen Publishers,Inc. Gaithersbug, Marylan.
- Mann, J. I. and N.J. Lewis-Barned 1997.** Dietary Management of Diabetes Mellitus in Europe and North America In : International Textbook of Diabetes Mellitus. Vol. 1,2^{ed} edition (Alberti, K.G.M.M., P. Zimmet., R.A. De Fronzo and H. Keen). Jon Wiley and Sons. Chichester, England.
- Marwani-Bratasaputra, M. 2000.** Penatalaksanaan Diabetes Terpadu dan Peran Persadia. Derap Bethesda, Edisi Sebelas, Agustus , p. 7
- Ramachandran, A. And M. Viswanathan, 1997.** Dietary Management of Diabetes Mellitus in India and South East Asia. In: International Texbook of Diabetes Mellitus Vol. 1,2^{ed} edition (Alberti, K.G. M.M., P. Zimmet, R.A. De Fronzo and H. Keen). John Wiley and Sons. Chichester, England.
- Reeves, P.G., F.H. Nielsen and G.. Fahey. 1993.** AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad. Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. J. Nurt. 123: 1939-1951.
- Wolever, T.M.S., S. Hamad, J. Gittelsohn, J. Gao, A.J. G. Hanley, S.B. Haris, B. Zinman, 1997.** Low dietary fiber and high protein intakes associated with newly diagnosed diabetes in a remote Aboriginal community. Am. J. Cillin Nutr., 66 : 1470-1474.
- Zuheid-Noor 1998.** Pejajagan Kemungkinan Penggunaan Kedele sebagai Komponen Makanan Fungsional. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi, Yogyakarta.