

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TEMPE TERHADAP KANDUNGAN TOTAL
SENYAWA FENOLIK DAN ISOFLAVON GENISTEIN**

***THE EFFECT OF TEMPE FERMENTATION TIME ON THE TOTAL PHENOLIC
AND ISOFLAVONE GENISTEIN CONTENTS***

Kiki Fransiska Suharto*, Hartati Soetjipto, Yohanes Martono

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana

Jl. Diponegoro, no 52-60, Salatiga 50711 telp. (0298) 321212

* email: 652013043@student.uksw.edu

DOI : 10.20961/alchemy.v13i2.5094

Received 26 January 2017, Accepted 06 June 2017, Published online 1 September 2017

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kandungan senyawa fenolik total dan kandungan isoflavon genistein selama fermentasi tempe hari ke-0 - 9. Ekstrak isoflavon diperoleh dengan metode maserasi dan fraksinasi. Kandungan total senyawa fenolik diukur dengan metode Folin ciocalteau dan kandungan isoflavon genistein ditentukan dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Rendemen ekstrak isoflavon dan kandungan total senyawa fenolik dianalisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dan purata antar perlakuan dibandingkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5 %. Kandungan senyawa fenolik total tertinggi selama proses fermentasi tempe diperoleh pada lama fermentasi hari ke-4 sebesar $232,05 \pm 7,71 \mu\text{g/g}$, sedangkan kandungan isoflavon genistein tertinggi diperoleh pada lama fermentasi tempe hari ke- 5 sebesar $100,48 \mu\text{g/g}$. Penelitian ini menunjukkan proses fermentasi tempe menyebabkan kandungan senyawa fenolik total dan produksi isoflavon genistein bersifat fluktuatif.

Kata Kunci : genistein, senyawa fenolik, tempe, waktu fermentasi.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate total phenolic compounds and isoflavone genistein contents during 0 - 9 days of fermentation time. Isoflavone extract were obtained by maceration and fractionation. Total phenolic compounds were measured by Folin ciocalteau method, meanwhile, the isoflavone genistein contents were analyzed by a High Performance Liquid Chromatography. The yield of isoflavone extract and the total phenolic compounds were analyzed using a randomized completely block design and the mean between treatments was compared by the Honestly Significant Difference (HSD) test using significance level of 5 %. The highest amount of total phenolic compounds during the incubation time was obtained on 4 days of fermentation time, i.e., $232.05n \pm 7.71 \mu\text{g/g}$, while the highest content of isoflavone genistein was obtained on 5 days of fermentation time, i.e., $100.48 \mu\text{g/g}$. This research showed that the fermentation process of

tempe induces the total phenolic contents and the production of isoflavone genistein is fluctuating.

Keywords: fenolic compounds, fermentation time, genistein, tempe.

PENDAHULUAN

Senyawa fenolik merupakan senyawa kimia yang diketahui memiliki berbagai bioaktivitas. Senyawa fenolik meliputi fenol sederhana, asam fenolik, kumarin, flavonoid, tanin, lignan, dan lignin (Kamboj *et al.*, 2015). Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat secara melimpah pada tanaman. Senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas biokimia seperti antioksidan, antimutagen, dan antikanker (John *et al.*, 2014).

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang terbuat dari fermentasi kedelai dan diketahui memiliki berbagai manfaat seperti menurunkan kadar kolesterol, mencegah osteoporosis, anti infeksi, mencegah jantung koroner, dan antikanker (Meghwal *and* Sahu, 2015). Melihat berbagai bioaktivitas yang dihasilkan, penelitian mengenai senyawa fenolik tempe semakin diminati.

Winarsi *and* Purwanto (2010) melaporkan bahwa kandungan total fenol dalam ekstrak isoflavon kedelai adalah 135,6 $\mu\text{g/g}$, sedangkan pada ekstrak isoflavon tempe terdapat kandungan total fenol sebesar 153,9 $\mu\text{g/g}$ berat kering. Penelitian mengenai senyawa fenolik dalam tempe masih terbatas pada tempe yang difermentasi selama 48 jam. Adapun penelitian mengenai senyawa fenolik tempe yang difermentasi lebih dari 48 jam belum pernah dilakukan.

Salah satu senyawa utama dari tempe kedelai adalah isoflavon genistein yang berpotensi besar sebagai agen pencegah dan penghambat kanker (Atun, 2009). Lewidharti *et al.* (2015) melaporkan bahwa kandungan genistein tempe hasil fermentasi 0 - 9 hari menggunakan sampel kering bersifat fluktuatif dengan konsentrasi genistein tertinggi didapatkan pada hari ke-4, 7, dan 9.

Pola pembentukan genistein selama masa fermentasi tersebut menarik untuk diteliti lebih lanjut. Isoflavon relatif rentan terhadap panas tinggi sehingga diduga isoflavon dapat mengalami kerusakan atau terdekomposisi pada saat pengeringan sampel (Utari *et al.*, 2010). Penelitian mengenai kandungan isoflavon genistein tempe hasil fermentasi 0 - 9 hari umumnya masih menggunakan sampel yang telah dikeringkan, sedangkan penggunaan sampel segar (yang tidak dikeringkan) belum pernah dilakukan.

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kandungan senyawa fenolik total dan produksi isoflavon genistein dari ekstrak tempe yang difermentasi selama 0 - 9 hari. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai lama fermentasi tempe kedelai yang tepat untuk memperoleh kandungan senyawa fenolik total dan produksi isoflavon genistein tertinggi sehingga didapatkan bioaktivitas yang maksimal.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel tempe yang diambil dari pengrajin tempe "X" di Bugel, Salatiga, Jawa Tengah. Senyawa standar yang digunakan adalah genistein dan asam galat. Senyawa standar yang digunakan memiliki kemurnian $\geq 98\%$ (Sigma Chemical Co., Amerika Serikat). Bahan kimia yang digunakan antara lain : metanol, kloroform, *n*-heksana, reagen Folin-Ciocalteu, dan Na_2CO_3 . Semua bahan kimia yang digunakan memiliki derajat pro analisa (E-Merck, *Germany*).

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitis dengan ketelitian 0,0001 g (OHAUS PA214), neraca dengan ketelitian 0,01 g (OHAUS TAJ602), Moisture Analyzer (OHAUS MB 25), Spektrofotometer UV-VIS (Optizen), High Performance Liquid Chromatography (Knauer Smartline 5000, smartline pump 1000, smartline UV Detector 2500), dan Rotary Evaporator (BUCHI R-114).

Pengukuran kadar air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara sebanyak kurang lebih 1,00 g sampel dimasukkan ke dalam alat *moisture analyzer*. Kadar air sampel dihitung sebagai prosentase air yang terhilang saat proses pemanasan sampel.

Ekstraksi Isoflavon Aglikon (Lewidharti *et al.* (2015) yang dimodifikasi)

Sampel tempe yang digunakan adalah hasil fermentasi hari ke-0, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 9. Sebanyak 150 g tempe dipotong kecil-kecil kemudian dimaserasi dalam metanol 80 % selama 9 jam. Setelah disaring, filtrat dievaporasi hingga menjadi ekstrak pekat. Tahap selanjutnya ekstrak dipartisi dengan *n*-heksana (1:2, v/v) untuk menghilangkan lemak. Fase *aqueous* dipartisi kembali menggunakan kloroform (1:1, v/v). Fraksi kloroform kemudian dievaporasi kembali. Ekstrak pekat dari fraksi kloroform yang diperoleh ditimbang kemudian dihitung rendemen ekstrak dengan persamaan (1) :

$$\% \text{ Rendemen} : \frac{\text{Berat Ekstrak}}{(\text{Berat Sampel} - (\text{Berat Sampel} \times \% \text{ Kadar Air}))} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Analisis Kandungan Senyawa Fenolik Total Metode Folin-Ciocalteu (Hosu *et al.* (2014) yang dimodifikasi)

Sebanyak 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 0,2 M ditambahkan kedalam 0,3 mL ekstrak sampel. Campuran didiamkan selama 5 menit. Setelah itu campuran ditambahkan 1,2 mL Na₂CO₃ 0,7M kemudian diinkubasikan pada suhu ruang dalam tempat gelap selama 120 menit.

Absorbansi sampel diukur menggunakan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 745 nm. Kurva baku untuk penentuan kandungan senyawa fenolik total dibuat menggunakan asam galat pada rentang konsentrasi 0 - 100 µg/mL. Kandungan senyawa fenolik total diukur sebagai mg *Gallic Acid Equivalent* (GAE)/g sampel.

Analisis Kandungan Isoflavon Genistein (Lewidharti *et al.* (2015) yang dimodifikasi)

Identifikasi isoflavon dengan menggunakan metode HPLC dilakukan dengan pengkondisian instrumen HPLC dan pembuatan larutan sampel. Larutan sampel dibuat dengan melarutkan ekstrak dalam metanol 10 mL. Sebanyak 20 µL sampel diinjeksikan ke dalam HPLC setelah pengkondisian HPLC selesai. Kromatogram HPLC dianalisis dengan menggunakan pembanding kromatogram Isoflavon genistein standar.

Kondisi operasional instrumentasi meliputi fase diam menggunakan Euroshper RP C-18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) Knauer GmbH-Jerman dan fase gerak menggunakan campuran metanol : asam asetat 0,1N (48:52, v/v). Kecepatan alir yang digunakan yaitu 1,2 mL/min dengan volume injeksi sebesar 20 µL dan menggunakan detektor UV 254 nm. Analisis kuantitatif genistein dilakukan dengan menghitung luas area kromatogram. Kadar genistein dalam tempe ditentukan berdasarkan persamaan garis kurva standar antara konsentrasi genistein (µg/g sampel) terhadap area kromatogram.

Analisis Data (Sumantri, 1991)

Data rendemen ekstrak isoflavon dan senyawa fenolik total dianalisis menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan dan 3 kali ulangan. Sebagai variasi perlakuan berupa lama fermentasi tempe yaitu 0, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 hari, dengan pengelompokan berdasarkan waktu analisis. Pengujian antar rata-rata perlakuan dilakukan dengan menggunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5 %.

PEMBAHASAN

Hasil purata rendemen ekstrak isoflavon, purata kandungan senyawa fenolik total dan kandungan isoflavon genistein selama proses fermentasi tempe 0 - 9 hari disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Purata Rendemen Ekstrak Isoflavon (% , b/b \pm SE), Purata Kandungan Senyawa Fenolik Total ($\mu\text{g/g}$ sampel kering) dan Kandungan Isoflavon Genistein ($\mu\text{g/g}$) selama Proses Fermentasi Tempe.

Lama Fermentasi	Rendemen Ekstrak (% , b/b \pm SE)	Kandungan Senyawa Fenolik Total ($\mu\text{g/g}$)	Isoflavon Genistein ($\mu\text{g/g}$)
0	0,32 \pm 0,24 ^a	204,94 \pm 4,96 ^e	130,26
2	0,16 \pm 0,11 ^a	85,43 \pm 4,81 ^c	56,93
3	0,16 \pm 0,11 ^a	101,97 \pm 7,85 ^d	31,94
4	0,20 \pm 0,14 ^a	232,05 \pm 7,71 ^f	96,04
5	0,38 \pm 0,11 ^a	115,79 \pm 7,96 ^d	100,48
6	0,36 \pm 0,16 ^a	79,38 \pm 7,98 ^{bc}	74,45
7	0,44 \pm 0,37 ^{ab}	63,59 \pm 4,24 ^b	26,86
8	0,49 \pm 0,37 ^{ab}	41,44 \pm 7,82 ^a	19,21
9	1,01 \pm 0,31 ^b	77,88 \pm 5,19 ^{bc}	26,02

Keterangan :

* SE = Simpangan Baku Taksiran.

* Hasil telah diuji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5 % dengan $W_1 = 0,571$ dan $W_2 = 16,121$.

* Angka yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan sedangkan angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata antar perlakuan.

Rendemen Ekstrak Isoflavon

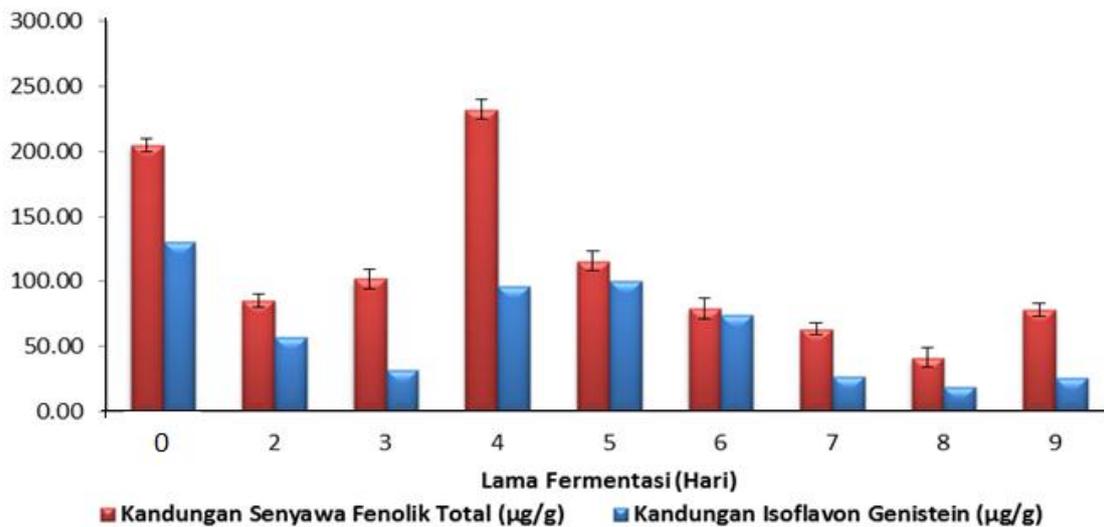
Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak isoflavon hari ke-0 hingga hari ke-6 relatif sama, lalu mulai hari ke-7 hingga hari ke-8 rendemen isoflavon cenderung meningkat. Rendemen ekstrak isoflavon mengalami peningkatan pada hari ke-9. Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Lewidharti *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa rendemen ekstrak isoflavon dalam tempe dengan lama fermentasi 0 - 9 hari dengan sampel yang dikeringkan pada suhu 40 - 50 °C, bersifat fluktuatif dengan kandungan tertinggi diperoleh pada hari ke-6.

Rendemen ekstrak isoflavon dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain varietas kedelai, tahap kematangan kedelai, iklim dan suhu tempat tumbuh kedelai, cara bertanam, dan prosedur pemeriksaan isoflavon (Wang *and* Murphy, 1994). Selain itu, perbedaan yang terjadi juga disebabkan karena adanya perbedaan perlakuan sampel dimana pada penelitian ini menggunakan sampel tempe segar.

Kandungan Senyawa Fenolik Total

Kandungan senyawa fenolik total pada sampel ditentukan oleh kemampuan sampel untuk mereduksi reagen Folin-Ciocalteu yang mengandung senyawa asam fosfomolibdat-fosfotungstat yang berwarna kuning menjadi senyawa kompleks baru yang berwarna biru. Metode ini efektif untuk mendeteksi semua senyawa golongan fenolik yang terkandung dalam sampel (Prior *et al.*, 2005).

Tabel 1 menunjukkan bahwa purata kandungan senyawa fenolik total tempe selama fermentasi bersifat fluktuatif. Diawali dengan hari ke-0 dimana sampel berupa kedelai yang telah dimasak dan diberi ragi memiliki kandungan senyawa fenolik total sebesar $204,94 \pm 4,96 \mu\text{g/g}$. Selanjutnya terjadi penurunan dan peningkatan kadar senyawa fenolik selama proses fermentasi berlangsung. Purata kandungan senyawa fenolik total tempe selama proses fermentasi sampai dengan terjadi pembusukan pada hari ke-9 dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Histogram purata kandungan senyawa fenolik total dan kandungan isoflavon genistein selama proses fermentasi tempe.

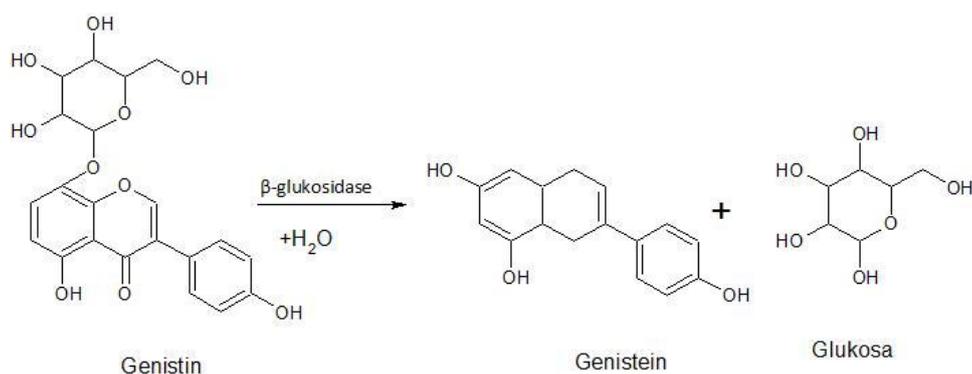
Berdasarkan **Gambar 1** dapat terlihat pola kandungan senyawa fenolik total tempe selama masa fermentasi bersifat fluktuatif. Kandungan senyawa fenolik total tertinggi diperoleh pada lama fermentasi hari ke-4 sebesar $232,05 \pm 7,71 \mu\text{g/g}$, sedangkan kandungan senyawa fenolik total terendah diperoleh pada lama fermentasi hari ke-8 sebesar $41,44 \pm 7,82 \mu\text{g/g}$.

Fluktuasi nyata yang terlihat pada pola konsentrasi senyawa fenolik total selama masa fermentasi tempe diduga karena adanya senyawa-senyawa yang mengalami transformasi. Pada proses transformasi tersebut konsentrasi senyawa fenolik total tempe akan mengalami penurunan. Saat senyawa baru yang terbentuk merupakan golongan fenolik maka konsentrasi fenolik kembali mengalami peningkatan seperti terlihat pada pola konsentrasi senyawa fenolik total lama fermentasi hari ke-2 – 4. Salah satu senyawa fenolik yang diduga dapat mengalami transformasi selama masa fermentasi adalah genistein dan daidzein (Agustina, 2005).

Kandungan Isoflavon Genistein

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa kandungan isoflavon genistein hari ke-0 dimana sampel berupa kedelai yang telah dimasak dan diberi ragi memiliki kandungan genistein sebesar 130,26 $\mu\text{g/g}$ kemudian mengalami penurunan dan peningkatan selama masa fermentasi. Produksi genistein selama proses fermentasi dari hari ke-0 – 9 mengalami fluktuasi. Genistein tertinggi diperoleh pada fermentasi hari ke-5, selanjutnya terus mengalami penurunan, hingga pada hari ke-9 mulai meningkat lagi namun pada saat itu tempe sudah benar-benar busuk.

Pada **Gambar 1** menunjukkan bahwa selama proses fermentasi tempe kandungan isoflavon genistein bersifat fluktuatif. Peningkatan kandungan isoflavon genistein pada lama fermentasi tempe hari ke-4 dan 5 diduga karena terjadinya perubahan isoflavon terikat (genistin) menjadi isoflavon aglikon (genistein). Reaksi hidrolisis genistin menjadi genistein disajikan pada **Gambar 2**.



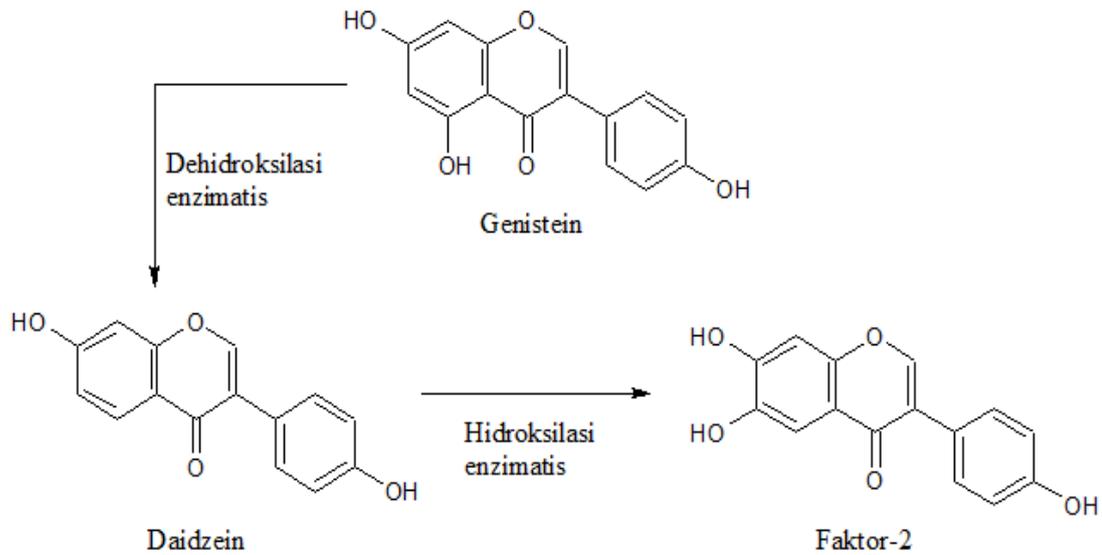
Gambar 2. Reaksi hidrolisis genistin menjadi genistein (Ariani, 2003).

Selama proses fermentasi berlangsung, kandungan isoflavon genistein mengalami beberapa kali fluktuasi dimana jumlah genistein yang sudah terbentuk kemudian mengalami penurunan. Penurunan kandungan genistein terlihat pada lama fermentasi tempe hari ke-2 - 3 dan hari ke-6 - 8. Hal ini dapat terjadi karena genistein yang telah terbentuk mengalami biokonversi menjadi senyawa baru yang disebut 6,7,4 trihidroksi isoflavon.

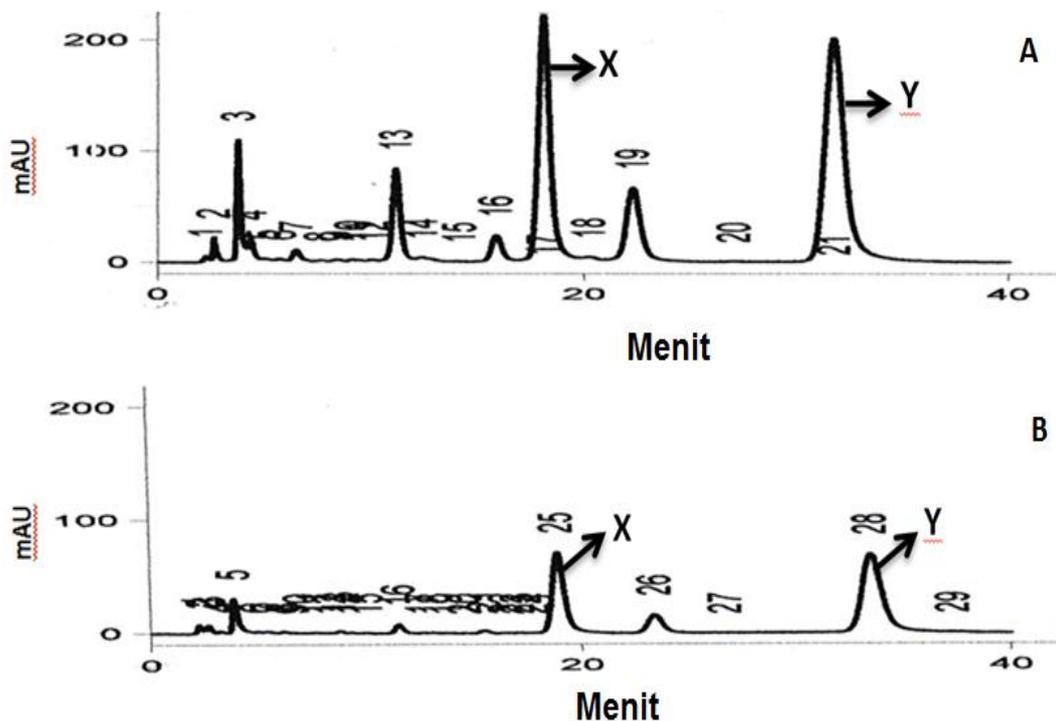
Menurut Agustina (2005), selama proses fermentasi juga terjadi biokonversi genistein menjadi daidzein, yang selanjutnya diikuti dengan konversi daidzein menjadi 6,7,4 trihidroksi isoflavon. Reaksi biokonversi genistein-daidzein-6,7,4 trihidroksi isoflavon disajikan pada **Gambar 3**.

Kandungan isoflavon tertinggi didapatkan pada hari ke-0 dan 5. Berdasarkan kromatogram HPLC hari ke-0 dan 5 seperti yang disajikan pada **Gambar 4** terlihat bahwa

terdapat beberapa senyawa lain yang terdeteksi. Dua senyawa yang mendominasi dalam kromatogram tersebut yaitu genistein dan senyawa x.



Gambar 3. Reaksi biokonversi genistein-daidzein-6,7,4 trihidroksi isoflavon (Agustina, 2005)

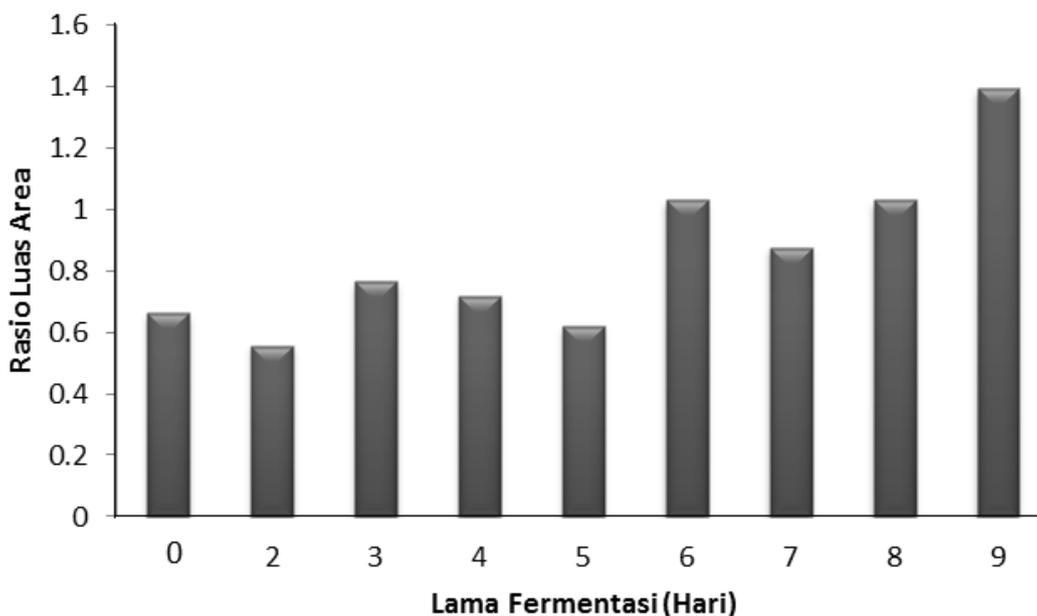


Gambar 4. Kromatogram isoflavon (A) hari ke-0 (B) hari ke-5. X : senyawa X dengan tR : 18,117 – 18,933 menit dan Y : genistein dengan tR : 31,767 – 33,533 menit.

Berdasarkan **Gambar 5** dapat terlihat bahwa rasio luas area senyawa x dan genistein mengalami fluktuasi. Rasio luas area senyawa x dan genistein tertinggi diperoleh pada hari ke-6 dan hari ke-9. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-6 dan ke-9, senyawa x mengalami peningkatan dan genistein mengalami penurunan. Rasio luas area

senyawa x dan genistein membuktikan bahwa pada saat tertentu dapat terjadi transformasi antara senyawa isoflavon sehingga konsentrasi genistein selama masa fermentasi mengalami fluktuasi.

Pola pembentukan genistein yang fluktuatif pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Lewidharti *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa kandungan genistein hasil fermentasi 0 - 9 hari dengan sampel yang dikeringkan pada suhu 40 – 50 °C bersifat fluktuatif. Namun demikian terdapat perbedaan pokok antara penelitian ini dengan penelitian Lewidharti *et al.* (2015) yaitu pada penelitian ini digunakan sampel tempe segar sedangkan pada penelitian Lewidharti *et al.* (2015) menggunakan sampel yang telah dikeringkan. Hal ini diduga menyebabkan kandungan genistein tertinggi selama masa fermentasi mengalami pergeseran dimana pada penelitian ini diperoleh kandungan genistein tertinggi yaitu pada hari ke-5 sebesar 100,48 µg/g. Adapun pada hasil penelitian Lewidharti *et al.* (2015) menunjukkan bahwa kandungan tertinggi yaitu pada hari ke-9 sebesar 324,27µg/g. Selain perbedaan perlakuan sampel, kandungan isoflavon pada kacang-kacangan juga dapat dipengaruhi oleh varietas, waktu panen, dan lokasi (Nakajima *et al.*, 2005).



Gambar 5. Histogram rasio luas area senyawa X dan genistein terhadap lama fermentasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa fenolik total dan produksi isoflavon genistein selama masa fermentasi tempe menggunakan sampel tempe segar bersifat fluktuatif. Kandungan senyawa fenolik

total tertinggi diperoleh pada lama fermentasi hari ke 4 sebesar $232,05 \pm 7,71 \mu\text{g/g}$, sedangkan kandungan senyawa fenolik total terendah diperoleh pada lama fermentasi hari ke-8 sebesar $41,44 \pm 7,82 \mu\text{g/g}$. Kandungan genistein tertinggi diperoleh pada lama fermentasi tempe hari ke-5 sebesar $100,48 \mu\text{g/g}$ dan kandungan genistein terendah diperoleh pada lama fermentasi tempe hari ke-8 yaitu $19,21 \mu\text{g/g}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., 2005. *Profil Kandungan Daidzein dan Genistein Pada Tempe Gembus Selama Proses Fermentasi*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Ariani, S.R.D., 2003. Pembuatan Keju Kedelai yang Mengandung Senyawa Faktor-2 Hasil Biokonversi Isoflavon pada Tahu Oleh *Rhizopus oligosporus* (L.41). *BioSMART* 5(1), 8 – 12.
- Atun, S., 2009. Potensi Senyawa Isoflavon dan Derivatnya dari Kedelai (*Glycine max. L*) serta Manfaatnya untuk Kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. 16 Mei 2009*. Fakultas MIPA. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Hosu, A., Vasile, M.C., and Claudia, C., 2014. Analysis of Total Phenolic, Flavonoids, Anthocyanins and Tannins Content in Romanian Red Wines : Prediction of Antioxidant Activities and Classification of Wines using Artificial Neural Networks. *Food Chemistry* 150, 113–118, DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.153.
- John, B., Sulaiman, C.T., Satheesh, G., and Reddy, V.R.K., 2014. Total Phenolics and Flavonoids in Selected Medicinal Plants From Kerala. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6(1).
- Kamboj, A., Ritika, G., Ankita, R., and Ripanjot, K., 2015. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content From Extracts of *Terminalia bellerica*. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2(3), 201-215.
- Lewidharti, R.S., Hartati, S., and Silvia, A., 2015. Dinamika Konsentrasi Genistein dalam Proses Pembusukan Tempe Kedelai. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia UNS 2015*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Meghwal, M., and Sahu, C.K., 2015. Soy Isoflavonoids as Nutraceutical for Human Health: An Update. *Journal of Cell Science & Therapy* 6, 1.
- Nakajima, N., Nozaki, N., and Ishihara, K., 2005. Analysis of Isoflavone Content in Tempeh, a Fermented Soybean and Preparation of a New Isoflavone-Enriched Tempeh. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 100(6), 685–687.
- Prior, R.L., Wu, X., and Schaich, K., 2005. Standarized Methods of Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic in Food and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10), 4290-4302. DOI: 10.1021/jf0502698.
- Sumantri, B., 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Terjemahan Steel, R.G.D., and Torrie, J.H., 1960. *Principles and Procedures of Statistics*. McGraw-Hill Book Company. New York.

- Utari, D.M., Rimbawan, R., Riyadi, H., Muhilal, and Purwastyastusi, 2010. Pengaruh Pengolahan Kedelai Menjadi Tempe dan Pemasakan Tempe Terhadap Kadar Isoflavon. *Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan* 33(2), 148-153.
- Wang, H., and Murphy, PA., 1994. Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(8), 1666-1673. DOI: 10.1021/jf00044a016.
- Winarsi and Purwanto, 2010. Kandungan Protein dan Isoflavon pada Kedelai dan Kecambah Kedelai. *Jurnal Biota* 15, 186-193.