

**UJI PRA-KLINIK:
EFEK FORTIFIKASI Fe DAN Zn PADA BISKUIT TEMPE-BEKATUL
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN ALBUMIN MENCIT
YANG KURANG GIZI DAN ANEMIA**

**PRE-CLINICAL STUDY:
EFFECTS OF Fe AND Zn FORTIFICATION IN BISCUET TEMPEH-RICE
BRAN ON HAEMOGLOBIN AND ALBUMIN LEVEL
OF UNDERNUTRITION AND ANAEMIA MICE**

Setyaningrum Rahmawaty dan Dwi Sarbini

Program Studi Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A.Yani Tromol Pos 1 Pabelan, Surakarta 57102
Telp. (0271) 717417, Fax. (0271) 715448

ABSTRAK

Tempe dan bekatul merupakan makanan tradisional Indonesia yang memiliki kandungan gizi yang tinggi dan dapat dikembangkan sebagai pangan fungsional, khususnya untuk anak kurang gizi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian biskuit Tempe Bekatul yang difortifikasi dengan Fe dan Zn terhadap kadar hemoglobin (Hb) dan albumin pada hewan coba (mencit) yang kurang gizi dan anemi. Penelitian dimulai dari sebuah eksperimental murni dengan desain random non faktorial. Intervensi pada mencit dibagi menjadi 3 kelompok (A, B, C). Setiap kelompok mendapat biskuit Tempe Bekatul yang difortifikasi Fe dan Zn, perbandingan tempe dan biskuit untuk masing-masing kelompok adalah 1:1 (A), 3:1 (B) dan 7:3 (C). Kelompok kontrol mendapat pakan standar untuk mencit berupa Comfeed. Kadar Hb dan albumin diukur menggunakan spektrofotometri, menggunakan darah orbital. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan berat badan, kadar Hb dan albumin baik pada minggu ke-4 dan ke-8 setelah intervensi ($p < 0.05$). Peningkatan berat badan, Hb dan albumin tertinggi tampak pada kelompok intervensi C, dimana pada minggu ke-4 rerata untuk masing-masing adalah 74.31 ± 15.9 g, 5.08 ± 0.19 g/dL dan 2.57 ± 0.11 g/dL, sedangkan pada minggu ke-8 adalah 121 ± 24.45 g, 5.54 ± 0.15 g/dL dan 2.97 ± 0.12 g/dL. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa biskuit C paling efektif meningkatkan kadar Hb dan albumin pada mencit yang kurang gizi dan anemia.

Kata Kunci: Albumin, bekatul, hemoglobin, dan tempe.

ABSTRACT

Both tempeh and rice bran contain many nutritional value and they have opportunity developed as a functional food for undernutrition subjects. Eventhought research on it only little being known. The aim of the study is to obtain the effect of ingested biscuit tempeh-rice bran with Fe and Zn fortification on haemoglobin (Hb) and albumin level of mice that suffering from undernutrition and anaemia. In this research firstly it is done by a true experimental with non factorial randomized design. Intervention on mice divided into 3 groups (A, B, and C). Each grou given Fe and Zn fortification biscuit with ratio of tempeh and rice bran are 1:1 (group A), 3:1 (group B), and 7:3 (group C). Measument of Hb and albumin level on mice were conducted using Spectrofotometry, with orbital blood. The result of research indicate there are many significant differences on weight, Hb and albumin level in mice, both in the 4th and the 8th weeks, after get intervention ($p = < 0.05$). The highest improvement of weight, Hb and albumin level is C intervention group, which is in the 4th week; 74.31 ± 15.9 g, 5.08 ± 0.19 g/dL and 2.57 ± 0.11 g/dL, while the 8th week; 121 ± 24.45 g, $5,54 \pm 0.15$ g/dL and 2.97 ± 0.12 g/dL. Result of research have as conclusion that biscuit C is the most effective on the improving of Hb and albumin level in mice that suffering from undernutrition and anaemia.

Keywords: Albumin, haemoglobin, rice bran, and tempeh.

PENDAHULUAN

Beberapa survei terakhir yang dilakukan di Indonesia menunjukkan prevalensi KEP, anemia defisiensi Fe, dan defisiensi Zn pada anak usia di bawah 5 tahun (balita) masih cukup tinggi, masing-masing berkisar 40%; 48,1%; dan 60% (Atmarita, 2005).

Terdapat hubungan timbal balik antara KEP dan defisiensi Fe serta Zn. Adanya KEP mengakibatkan peningkatan glukoneogenesis untuk memenuhi kebutuhan energi serta meningkatkan proteolisis dan lipolisis. Defisiensi zat-zat gizi makro ini biasanya akan diikuti dengan defisiensi beberapa zat gizi mikro seperti Fe dan Zn, sehingga memperburuk pertahanan tubuh terhadap penyakit infeksi.

Zat besi atau Fe diperlukan tubuh untuk pembentukan hemoglobin darah, yang prosesnya dikatalis oleh suatu enzim yang berisi Zn, yaitu ALA dehidratase.

Enzim ALA dehidratase inilah yang memegang kunci biosintesis hemoglobin (Hb). Defisiensi Zn akan mempengaruhi pembentukan Hb, menurunkan pengambilan (*uptake*) Fe ke dalam eritrosit, menurunkan produksi eritrosit, dan mempengaruhi absorpsi Fe di mukosa usus (Murray & Robert, 2000). Disisi lain defisiensi Fe dan Zn secara umum menyebabkan gangguan pertumbuhan, gangguan fungsi otak, penurunan sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan morbiditas (Kralik *et al.*, 1996; Whittaker, 1998; Oppenheimer, 2001; Gibson *et al.*, 2002).

Karakteristik KEP selain terjadi defisiensi zat-zat gizi makro dan mikro, juga mengalami gangguan saluran cerna akibat menurunnya sistem kekebalan di usus. Pada sebagian besar penderita KEP berat, vili-vili ususnya mengalami atropi, sehingga pemberian *refeeding* yang tinggi energi dan protein, justru menimbulkan masalah baru

bagi penderita. Untuk itulah pemberian makanan pada penderita KEP harus dilakukan secara hati-hati dan memperhatikan kondisi saluran cernanya. Bahan makanan yang diberikan harus mudah dicerna dan diabsorpsi oleh usus.

Tempe dan bekatul merupakan makanan tradisional Indonesia yang relatif murah dan terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat, ternyata memiliki banyak keunggulan serta mempunyai prospek untuk dikembangkan sebagai makanan kesehatan, termasuk untuk pengobatan penderita KEP. Perubahan-perubahan yang terjadi selama fermentasi kedelai menjadi tempe mengakibatkan zat-zat gizi tempe lebih mudah dicerna dan diabsorpsi usus, kandungan vitamin B dan asam folatnya meningkat cukup tinggi dibandingkan kedelai. Tempe juga mengandung isoflavin yaitu senyawa bioaktif yang memiliki sifat antioksidatif, antikolesterolemik (Mark, 1999; Hermensen *et al.*, 2005; Zhan & Suzanne, 2005) dan antikarsinogenik (Mendez *et al.*, 2002 dan Russell *et al.*, 2004). Kandungan antioksidannya dapat melindungi tubuh dari infeksi bakteri viral. Bekatul merupakan bagian serelia (limbah penggilingan padi) yang mengandung sumber protein yang murah dan melimpah. Kandungan protein dan Zn dalam bekatul lebih tinggi dibandingkan beras dan gandum. Bekatul juga mengandung antioksidan dan senyawa phytokimia yang memiliki sifat antikarsinogenik.

Beberapa penelitian menunjukkan pertumbuhan anak yang mendapat formula kedelai maupun tempe tidak berbeda dengan anak yang mendapat formula susu sapi maupun ASI (Lasekan *et al.*, 1999; Mendez *et al.*, 2002; Russell *et al.*, 2004). Bayi yang mendapat formula kedelai mempunyai pertumbuhan dan perkembangan yang normal (AAP, 1998 dan Mendez *et*

al., 2002) serum albumin dan hemoglobinya normal (Lidiasari dkk, 2006) serta mineralisasi tulang sekurang-kurangnya sama dengan anak yang mendapatkan formula susu sapi maupun susu ibu (Russell, 2004). Pemberian tepung bekatul terbukti memperbaiki kekebalan tubuh penderita KEP terhadap penyakit infeksi, sedangkan percobaan menggunakan tikus menunjukkan bekatul yang telah difermentasi mempunyai aktivitas biologi dalam meningkatkan aktivasi makrofag dan sistem kekebalan tubuh.

Berdasarkan pentingnya masalah yang akan diteliti, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Bagaimanakah formulasi biskuit tempe-bekatul dengan fortifikasi Fe dan Zn yang tepat dan aman bagi penderita KEP yang anemia serta efeknya terhadap berat badan, kadar hemoglobin dan albumin darah pada hewan percobaan?”

METODE PENELITIAN

Desain studi yang digunakan adalah *true experimental* di laboratorium untuk mengetahui efek pemberian biskuit tempe-bekatul dengan fortifikasi Fe dan Zn terhadap kadar Hb dan albumin pada tikus KEP. Rancangan yang digunakan adalah acak lengkap dengan 3 kelompok perlakuan. Perbandingan tempe dan bekatul yang digunakan untuk masing-masing perlakuan adalah perlakuan A = 1:1 (biskuit A), B = 3:7 (biskuit B), dan C = 7:3 (biskuit C). Setiap biskuit ditambahkan Fe sulfat dan Zn sulfat, masing-masing sebesar 10 mg/100 g biskuit, serta vitamin C 100 mg/100 g biskuit. Perlakuan dibagi 4 kelompok, yaitu 3 kelompok intervensi (A = intervensi dengan biskuit A, B = intervensi dengan biskuit B, dan C = intervensi dengan biskuit C) dan 1

kelompok kontrol mendapat pakan standar untuk hewan coba berupa *Comfeed*.

Alat-alat yang digunakan untuk pengumpulan data meliputi: (1) alat tulis, (2) alat untuk pemeriksaan Hb dan albumin berupa *spektrofotometer* dan (3) *timbangan digital* untuk mengukur berat badan.

Data berat badan tikus percobaan diukur secara periodik setiap 1 minggu sekali oleh peneliti menggunakan *timbangan digital* dengan ketelitian 0,01 kg. Kadar HB dan albumin darah diukur setiap 2 minggu sekali oleh petugas pengambil darah hewan coba, menggunakan darah orbital, dengan menggunakan *metode Spektrofotometri*.

Uji Anova digunakan untuk melihat perbedaan berat badan, kadar Hb, kadar albumin darah diantara kelompok perlakuan. Untuk menyimpulkan menggunakan nilai $p=0,05$. Keseluruhan analisis statistik menggunakan program *SPSS for Window* versi 11.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zn

Komposisi utama dari biskuit tempe-bekatul dengan fortifikasi Fe dan Zn adalah

tepung tempe dan tepung bekatul. Bahan dasar lain yang ditambahkan dalam pembuatan biskuit tempe-bekatul dalam penelitian ini yaitu: (1) gula halus, untuk pemberi rasa manis dan membantu dalam pewarnaan kerak, (2) *shortening* (margarin), membantu proses penyebaran pelembut dan menambah kelembutan biskuit, (3) telur, untuk membantu reaksi pengikat dan meningkatkan kualitas cita rasa (*flavour*) serta struktur lembut biskuit, (4) garam, untuk memperbaiki butiran dan susunan biskuit akibat kuatnya adonan, (5) *vanilla powder*, vanili, dan susu bubuk, untuk meningkatkan cita rasa biskuit.

Kandungan zat gizi biskuit tempe-bekatul dengan fortifikasi Fe dan Zn dapat dilihat pada Tabel 1.

Dalam ukuran 100 gram, biskuit yang memiliki kandungan protein tertinggi adalah biskuit C, sedangkan biskuit dengan kandungan Fe dan Zn tertinggi adalah biskuit B. Adapun untuk kandungan lemak ke-3 biskuit hampir sama. Berdasarkan uji Anova, terlihat bahwa ada perbedaan yang signifikan untuk kadar protein ($p < 0.001$), mineral Fe ($p = 0.08$) dan Zn ($p < 0.001$). Adapun untuk energi, lemak dan vitamin B1 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, nilai p masing-masing adalah 0.199, 0.05, dan 0.199.

Tabel 1. Komposisi Zat Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dalam 100 gram

Jenis zat gizi	Biskuit A	Biskuit B	Biskuit C
Energi (kkal)	384	395	373
Protein (g)	15.9596	14.2498	20.142
Lemak (g)	27.8565	26.6717	27.2933
Vitamin B1 (mg)	1.649	1.616	1.677
Mineral Fe (ppm)	90.17	99.7	95.89
Mineral Zn (ppm)	58.81	74.66	46.64

Efek Fortifikasi Fe dan Zn Pada Biskuit Tempe-Bekatul terhadap Berat Badan, Kadar Hemoglobin dan Albumin Tikus Percobaan

Sampel tikus percobaan pada awal penelitian berjumlah 24 ekor yang terbagi atas 4 kelompok yaitu 3 kelompok intervensi dan 1 kelompok pembandingan. Ke-4 kelompok tersebut meliputi; (1) kelompok intervensi A: diberi pakan biskuit A, (2) kelompok intervensi B: diberi pakan biskuit B, dan (3) kelompok intervensi C: diberi pakan biskuit C, sedangkan (4) kelompok D: merupakan kelompok kontrol atau pembandingan, diberi pakan standar untuk mencit berupa *Comfeed*. Komposisi kimiawi *Comfeed* dalam 100 gram yaitu: protein 19 g, lemak 4 g, abu 6.5%, kalsium 1,1 mg, dan fospor 0,9 mg.

Sebelum pemberian intervensi dengan biskuit tempe-bekatul maupun *Comfeed* untuk kelompok kontrol, ke-24 tikus percobaan dikondisikan menjadi KEP, dengan cara diberi pakan berupa “gogek”,

yaitu tiwul atau tepung singkong dari gaplek (singkong yang dikeringkan) yang dikukus kemudian dikeringkan lagi. Berat pakan dan sisanya ditimbang setiap hari. Pengkondisian mencit menjadi KEP membutuhkan waktu 2 minggu, dengan menggunakan parameter kadar Hb dan albumin darah.

Hasil uji Anova (Tabel 2) tampak bahwa tidak ada perbedaan karakteristik sampel mencit antara kelompok intervensi A, B, C dan kelompok pembandingan, sehingga dapat dikatakan bahwa ke-4 kelompok homogen pada awal penelitian ($p > 0.05$).

Pada pengamatan minggu ke-4 dan ke-8, terlihat ada peningkatan berat badan, kadar Hb dan albumin darah yang sangat nyata pada ke-4 kelompok. Hasil uji t menunjukkan bahwa peningkatan berat badan, kadar Hb dan albumin darah pada minggu ke-4 maupun ke-8 dibandingkan *baseline* data, tampak ada perubahan yang signifikan (Tabel 3).

Tabel 2. Rerata Berat Badan, Kadar Hb, dan Albumin Darah Tikus Percobaan setelah Kondisi KEP (*Baseline* Data)

Jenis pemeriksaan	Kelompok				P value†
	Intervensi A*	Intervensi B*	Intervensi C*	Pembandingan*	
Berat badan (g)	137.45± 8.86	140.73± 11,27	128.52± 13.99	124.73± 5.77	0.050
Kadar hemoglobin (g/dL)	7.10± 0.14	7.10 ± 0.14	7.20 ± 0.08	7.12± 0.12	0.367
Kadar albumin (g/dL)	2.03±0.05	2.10±0.06	2.07±0.08	2.083±0.07	0.403

Keterangan:

Intervensi A: diberi pakan biskuit A dengan perbandingan tempe dan bekatul = 3:7

Intervensi B: diberi pakan biskuit B dengan perbandingan tempe dan bekatul = 1:1

Intervensi C: diberi pakan biskuit C dengan perbandingan tempe dan bekatul = 7:3

Pembandingan: diberi pakan standar untuk tikus percobaan, berupa *Comfeed*

* : *mean*±SD, †: uji Anova

Tabel 3. Berat Badan, Kadar Hemoglobin dan Kadar Albumin Tikus Percobaan pada Pengamatan Minggu ke-4 dan ke-8

Kelompok dan jenis pemeriksaan	Baseline data*	Minggu ke-4*	Minggu ke-8*	P value†	P value‡
Intervensi A					
- Berat badan (g)	137.45± 8.86	201.87±21.95	231.50±39.14	<0.000	0.001
- Kadar hemoglobin (g/dL)	7.10± 0.14	11.1±0.18	12.54±0.04	<0.000	<0.000
- Kadar albumin (g/dL)	2.03±0.05	3.68±0.11	4.98±0.08	<0.000	<0.000
Intervensi B					
- Berat badan (g)	140.73± 11,27	177.57±21.73	213.15±33.34	<0.000	<0.000
- Kadar hemoglobin (g/dL)	7.10 ± 0.14	9.89±0.03	12.19±0.04	<0.000	<0.000
- Kadar albumin (g/dL)	2.10±0.06	2.99±0.07	4.78±0.008	0.001	0.001
Intervensi C					
- Berat badan (g)	128.52± 13.99	202.83±25.23	249.80±32.54	<0.000	<0.000
- Kadar hemoglobin (g/dL)	7.20 ± 0.08	12.18±0.15	12.64±0.04	<0.000	<0.000
- Kadar albumin (g/dL)	2.07±0.08	4.63±0.13	5.03±0.05	<0.000	<0.000
Pembanding					
- Berat badan (g)	124.73± 5.77	261.53±11.61	306.72±14.26	<0.000	<0.000
- Kadar hemoglobin (g/dL)	7.12± 0.12	10.28±0.06	12.51±0.04	<0.000	<0.000
- Kadar albumin (g/dL)	2.083±0.07	3.03±0.06	4.93±0.05	<0.000	<0.000

*: *mean* ± SD, †: *t-test* baseline data dan minggu ke-4, ‡ : *t-test* baseline data dan minggu ke-8

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Sumantri dan Sudigbia cit. Widianarko dkk (2000), Mulyati dkk (1995), dan Ismawati (2000) yang menyatakan bahwa pemberian tempe pada anak gizi buruk dapat meningkatkan pertumbuhan atau status gizi (Widianarko dkk, 2000 dan Ismawati, 2000). Menurut Mendez *et al.* (2002) bayi yang mendapat formula kedelai mempunyai pertumbuhan dan perkembangan yang normal, adapun Lasekan *et al.* (1999) melaporkan serum albumin dan hemoglobinnnya juga normal.

Perbaikan status gizi ini kemungkinan disebabkan kandungan zat gizi pada tempe maupun bekatul, serta adanya fortifikasi Fe dan Zn. Mendez *et al.* (2002) menyebutkan bahwa phytoestrogen pada tempe maupun kedelai yang berupa isofla-

von dapat meningkatkan imunitas tubuh, sedangkan Rao (2001) dan Dull (2001) menyebutkan bahwa bekatul mempunyai aktifitas biologi dalam meningkatkan aktivasi makrofag dan sistem kekebalan tubuh. Dengan membaiknya sistem kekebalan tubuh, maka absorpsi zat gizi juga membaik. Pada kondisi kekurangan zat gizi, absorpsi zat gizi akan lebih efisien sehingga utilisasi zat gizi di dalam tubuh lebih optimal. Disisi lain, Fe dan Zn mampu memperbaiki imunitas tubuh, sedangkan Zn sendiri berfungsi memperbaiki indra pengecap, sehingga memperbaiki nafsu makan. Mineral Zn juga merupakan komponen penting dalam pembentukan enzim ALA dehidratase, yaitu enzim kunci dalam biosintesis Heme. Dengan meningkatnya uptake Fe ke dalam eritrosit, maka sirkulasi

Tabel 4. Perbedaan Rerata Peningkatan Berat Badan, Kadar Hb dan Albumin Darah Tikus Percobaan pada Minggu ke-4 dan ke-8

Waktu pengamatan dan jenis pemeriksaan	Kelompok				P value†
	Intervensi A*	Intervensi B*	Intervensi C*	Pembanding*	
Minggu ke-4					
- Berat badan (g)	64.41±14.54	36.83±12.75	74.31±15.9	136.80±10.19	<0.000
- Kadar hemoglobin (g/dL)	4.00±0.18	2.46±0.72	5.08±0.19	3.17±0.11	<0.000
- Kadar albumin (g/dL)	1.65±0.12	0.98±0.06	2.57±0.11	0.95±0.11	<0.000
Minggu ke-8					
- Berat badan (g)	94.05±36.00	72.42±24.06	121.28±24.45	181.98±10.48	<0.000
- Kadar hemoglobin (g/dL)	5.44±0.16	4.76±0.72	5.54±0.15	5.40±0.10	0.008
- Kadar albumin (g/dL)	2.95±0.08	2.68±0.03	2.97±0.12	2.85±0.08	<0.000

*: *mean*±SD, †: uji Anova

dan penggunaan zat gizi di dalam tubuh lebih optimal. Sebagai salah satu *outputnya* adalah asupan zat gizi membaik dan berat badan bertambah.

Dilihat dari rerata peningkatan berat badan, kadar Hb dan albumin pada minggu ke-4 dan ke-8 terlihat bahwa ada perbedaan signifikan antara ke-4 kelompok ($p = <0,05$). Perubahan berat badan tikus percobaan yang terbesar pada kelompok intervensi ditunjukkan oleh kelompok intervensi C, demikian halnya untuk kadar Hb dan albumin darah. Jika dibandingkan dengan kelompok pembanding tampak bahwa pemberian biskuit tempe bekatul dengan perbandingan 7:1 lebih efektif meningkatkan kadar Hb dan albumin darah, dengan selisih 0.14 untuk kadar Hb dan 0.12 untuk kadar albumin (Tabel 4).

Berdasarkan hasil hasil uji klinik pada tikus percobaan sebagaimana data

yang disajikan sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa biskuit tempe-bekatul yang memiliki efek paling efektif memperbaiki kadar Hb dan albumin, serta berat badan mencit yang KEP adalah biskuit dengan perbandingan tempe dan bekatul 7:3.

SIMPULAN

Pemberian biskuit tempe-bekatul dengan fortifikasi Fe dan Zn dapat meningkatkan berat badan, kadar Hb dan albumin tikus percobaan yang menderita kurang gizi. Diantara ke-3 formulasi biskuit, Biskuit C yaitu biskuit dengan perbandingan tempe bekatul = 7:3 terbukti paling efektif meningkatkan berat badan, kadar Hb dan albumin darah tikus percobaan yang menderita kurang gizi.

DAFTAR PUSTAKA

- AAP (American Academy of Pediatrics) Committee on Nutrition. 1998. Soy protein-based formulas: recommendations for use in infant feeding. *Clin. Pediatr.* 1001:148-153.
- Atmarita. 2005. Nutrition Problem in Indonesia. Artikel disampaikan dalam: *An Integrated International Seminar and Workshop on Lifestyle-Related Diseases*. Gadjah Mada University, 19-20 March 2005.
- Dull, B. J. 2001. Bread that taste bran new. *Asia Pacific Food Industry*.
- Gibson, R. S., Heath, M., & Ferguson, E.L. 2002. Risk of suboptimal iron and zinc nutriture among adolescent girls in Australia and New Zealand: causes, consequences, and solution. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 11 (Suppl): S543-S552.
- Hermansen, K., Hansen, B., Jacobsen, R., Clausen, P., Dalgaard, M., Dinesen, B., Holst, J. J., Pedersen, E., & Astrup, A. 2005. Effects of soy supplementation on blood lipids and arterial function in hipercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition.* 59: 843-850.
- Ismawati, R. 2000. Pengaruh pemberian makanan tambahan dari tepung formula tempe dengan fortifikasi Fe terhadap penambahan berat badan dan kadar hemoglobin pada Balita KEP Anemia di Kecamatan Benowo Kota Surabaya. *JKPKBPPK*.
- Kralik, A., Eder, K., & Kirchgessner, M. 1996. Influence of Zinc and Selenium deficiency on parameters relating to thyroid hormone metabolism. *Horm Metab Res.* 28:223-26
- Lasekan, J. B., Ostrom, K. M., Jacobs, J. R., Blatter, M. M., Ndife, L. I., & Gooch, W. M. 1999. Growth of newborn, term infants fed soy formulas for one year. *Clin. Pediatr.* 38: 563-571.
- Lidiasari dkk 2006. *Pengaruh Perbedaan Suhu Pemanasan Terhadap Sifat Kimia dan Fisika Tepung Tapi*.
- Mark, J., M. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritrional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr.* 70 (suppl): 439S-50S.
- Mendez, M. A., Mary, S. A., & Lenore, A. 2002. Soy-Based Formulae and Infant Growth and Development: A review. *American Society for Nutritional Sciences:* 2127-2130.
- Murray & Robert, K. 2000. *Harper's Biochemistry*. Amerika
- Oppenheimer, S. J. 2001. Iron and relation to immunity and infectious disease. *J Nutr.* 131: 616S-635S
- Rao, N. 2001. Nutritive Value of Rice bran. *NFI Bulletin*.
- Russell, J., Merritt, & Belinda, H. J. 2004. Safety of Soy-Based Formulas Containing Isoflavones: The Clinical Evidence. *American Society for Nutritional Sciences:* 1220S-1224S.
- Whittaker, P. 1998. Iron and Zinc interactions in human. *Am J Clin Nutr.* 68 (2S): 442S.

Widianarko, B. A., Rika P., Retnaningsih. 2000. Tempe, makanan populer dan bergizi tinggi. <http://www.ristek.go.id>.

Zhan, S. & Suzanne, C. 2005. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *Am J Clin Nutr.* 81: 397-408.