

Efek Suplementasi Zn terhadap Status Imun Wanita Premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavon

Effect of Zn Supplemented to Immune Status Premenopausal Women Intervented with Isoflavoned Drinking

HERY WINARSI^{1*}, DEDDY MUCHTADI², FRANSISKA RUNGKAT ZAKARIA³, AGUS PURWANTO³

¹Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan Suparno Karangwangkal, P.O. Box. 30, Purwokerto 53122

²Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

³Staf RSUD Margono Soekarjo, Jalan Dr. Gumbreg 1, Purwokerto 53146

Diterima 6 Januari 2005/Disetujui 26 Mei 2005

The research was conducted to find out the effect of Zn supplement to immune status of premenopausal women intervened with isoflavoned drinking. Respondents were 22 women, more than 40 year of age. They were divided into two groups, i.e. 11 women intervened with isoflavone, and other 11 women intervened with isoflavone and 8 mg Zn. The activities of SOD, catalase and GPX were determined by spectrophotometer, thymulin levels by ELISA, whereas Zn levels by AAS. Result showed that Zn had significantly increased SOD lymphocyte activities ($p=0.002$) and thymulin plasma ($p=0.011$). Zn had increased catalase ($p=0.103$) and GPX ($p=0.322$) as well, but Zn plasma had decreased (0.163). It was indicated that Zn had improved the immune status by increasing lymphocyte and thymus cells activities.

PENDAHULUAN

Peningkatan usia akan disertai dengan penurunan status imun. Penurunan status imun ini terutama terjadi pada sistem imun yang diperantarai oleh sel T (Subowo 1993). Menurut Roitt (1991) indikator status imun yang diperantarai sel T antara lain: titer antibodi, kadar hormon timus, aktivitas enzim antioksidan seluler, aktivitas sel imunokompeten, dan kadar molekul terlarut yang dihasilkan.

Meydani *et al.* (1995) menyatakan bahwa makin tinggi usia, maka terbentuknya radikal bebas juga meningkat. Radikal bebas merupakan oksidan yang sangat reaktif untuk menyerang komponen seluler (Wijaya 1996; Lampe 1999). Serangan radikal bebas pada komponen membran sel, ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan (Wijaya 1996; Zakaria *et al.* 2000). Antioksidan yang dikonsumsi dalam jumlah tertentu dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler, meningkatkan status imun, dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan (Meydani 2000).

Ada dua kelompok antioksidan, yaitu antioksidan non enzimatis dan enzimatis. Isoflavon, merupakan salah satu komponen fitoestrogen yang berperan sebagai antioksidan non enzimatis. Beberapa peneliti melaporkan potensi antioksidatif isoflavon. Bub *et al.* (2000) melaporkan bahwa aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) eritrosit pada kaum pria meningkat setelah minum jus tomat selama seminggu. Peningkatan SOD tersebut dilaporkan karena isoflavon tomat (yang disebut likopen) dapat menghambat reaksi oksidasi. Swain *et al.* (2002) juga melaporkan bahwa suplementasi

isoflavon dalam bentuk kedelai sebanyak 40 g/hari selama 24 minggu, mampu melindungi wanita primenopause dari stres oksidatif yang ditunjukkan oleh meningkatnya status antioksidan plasma. Suplementasi isoflavon genistein pada tikus sebanyak 598 mg/kg pakan selama empat minggu juga meningkatkan aktivitas SOD (Chen *et al.* 2002). Kerja isoflavon kedelai sebagai antioksidan terjadi dengan cara menangkap radikal ion superoksida dan kemudian mengubahnya menjadi H_2O_2 (Vedavanam *et al.* 1999). Pada awalnya isoflavon teroksidasi menjadi radikal isoflavon, namun segera berubah menjadi senyawa stabil setelah bereaksi dengan radikal isoflavon lain. Zakaria *et al.* (2000) menyatakan bahwa indikator status imun yang baik dapat diamati dengan tingginya aktivitas enzim antioksidan yang disertai dengan menurunnya kadar Malondialdehyde (MDA) plasma.

Limfosit merupakan sel imunokompeten yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Hal ini terjadi karena membran selnya tersusun atas fosfolipid dan glikolipid, yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh ganda (Wijaya 1996). Oleh sebab itu sel limfosit perlu dipertahankan dengan substansi yang bersifat antioksidatif, yaitu isoflavon kedelai dan Zn.

Limfosit adalah sel imunokompeten yang diaktivasi Zn. Status Zn yang memadai berperan untuk maturasi dan diferensiasi sel T (Rink & Kirchner 2000), aktivasi enzim SOD dan hormon timulin. Timulin adalah hormon kelenjar timus, yang juga berfungsi untuk maturasi limfosit T (Dardenne *et al.* 1982). McDade *et al.* (2001) menyatakan bahwa kelenjar timus mengalami atrofi dengan meningkatnya umur seseorang, dan sebagai akibatnya sekresi timulin menurun. Keadaan demikian menyebabkan terganggunya sistem imun, neuroendokrin, reproduksi dan perkembangan sistem syaraf pusat (Chein 2002).

*Penulis untuk korespondensi, Tel. +62-281-638794,
Fax. +62-281-631700, E-mail: winarsi@yahoo.com

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi Zn terhadap status imun wanita premenopause yang diberi minuman berisoflavon kedelai. Untuk mengetahui kerentanan sel limfosit terhadap serangan radikal bebas, maka dilakukan uji aktivitas enzim antioksidan SOD, katalase, dan glutathion peroksidase (GPX) limfosit. Selain itu juga dilakukan analisis kadar timulin dan Zn plasma. Hasil penelitian ini dapat memperjelas manfaat suplemen Zn (disamping isoflavon) yang sangat penting terutama untuk meningkatkan fungsi sistem imun wanita premenopause.

BAHAN DAN METODE

Bahan minuman terdiri atas isoflavon kedelai (konsentrat tepung kedelai mengandung 10% isoflavon dari SoyLife Extra Orffa Belgium), Zn sulfat (Merck), aspartam, sukrosa, bubuk cokelat, dan susu skim. Berbagai bahan kimia untuk pereaksi, serta enzim standar juga digunakan dalam penelitian ini.

Responden terpilih harus memenuhi beberapa persyaratan seperti: umur di atas 40 tahun, siklus haid rutin setiap bulan (tanpa melihat panjang pendeknya siklus maupun volume darah haid), merasakan adanya sindrom menopause, tidak menggunakan KB hormonal setahun terakhir, sehat menurut hasil pemeriksaan dokter, sukarela mengikuti jalannya penelitian, dan bersedia menandatangani *informed consent*. Jumlah responden sebanyak 22 wanita, dibagi ke dalam dua kelompok. Kelompok A sebanyak 11 orang diberi minuman berisoflavon sebagai kontrol, dan kelompok B sebanyak 11 orang diberi minuman berisoflavon dan 8 mg Zn setiap hari selama dua bulan. Semua responden berdomisili di wilayah Purwokerto.

Pengambilan sampel darah dilakukan tiga kali yaitu sebelum suplementasi, kemudian satu dan dua bulan setelah suplementasi. Sebanyak 10 ml darah diambil intravena, dengan *venoject* berheparin, dilanjutkan dengan separasi bagian plasma dan limfositnya. Dari bagian limfosit, dilakukan uji aktivitas SOD, katalase, dan GPX, sedangkan dari bagian plasma dilakukan analisis kadar timulin dan Zn. Aktivitas SOD, katalase dan GPX limfosit ditentukan dengan spektrofotometer (Davis *et al.* 2000; Castenmiller *et al.* 1999), sedangkan kadar timulin dengan ELISA (Winarsi *et al.* 2004a), dan Zn plasma dengan AAS (Kenawy *et al.* 2000).

HASIL

Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Limfosit. Sebelum dilakukan suplementasi, aktivitas SOD kelompok kontrol tidak berbeda dengan kelompok perlakuan ($p=0.76$). Demikian pula setelah satu bulan suplementasi ($p=0.59$). Namun setelah dua bulan suplementasi, ternyata aktivitas SOD meningkat ($p=0.002$) dari 416.28 unit/mg menjadi 1381.95 unit/mg protein limfosit (Gambar 1).

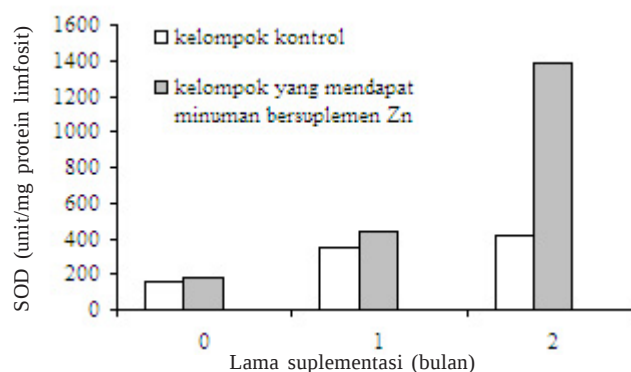
Aktivitas Enzim Katalase Limfosit. Saat *baseline*, aktivitas katalase pada dua kelompok perlakuan tidak berbeda. Namun setelah satu dan dua bulan suplementasi, aktivitas katalase meningkat tetapi tidak nyata ($p=0.16$ dan $p=0.103$). Setelah berakhirnya suplementasi, aktivitas katalase kelompok

kontrol adalah 38.02 UI/mg sedangkan kelompok yang mendapat suplementasi Zn adalah 75.61 UI/mg protein limfosit (Gambar 2).

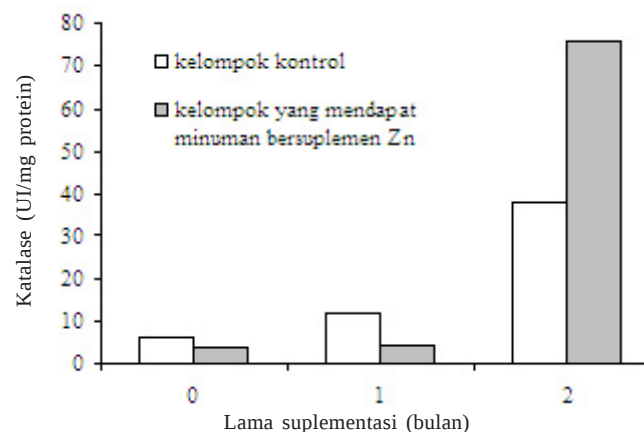
Aktivitas Enzim Glutathion Peroksidase (GPX). Sebelum dilakukan suplementasi, aktivitas GPX tidak berbeda di antara perlakuan ($p=0.89$). Setelah satu bulan suplementasi aktivitasnya menurun tetapi tidak nyata ($p=0.06$). Setelah dua bulan suplementasi, aktivitasnya meningkat tetapi juga tidak nyata ($p=0.322$). Aktivitas kelompok kontrol $3.26 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mg}$, sedangkan kelompok yang mendapat suplementasi Zn adalah $6.2 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mg}$ protein limfosit (Gambar 3).

Kadar Timulin Plasma. Sebelum dilakukan suplementasi, kadar timulin kedua kelompok tidak berbeda ($p=0.06$). Demikian pula setelah satu bulan suplementasi, kadar timulin meningkat tetapi tidak nyata ($p=0.103$). Namun setelah dua bulan suplementasi, kadar timulin meningkat nyata ($p=0.011$). Kadar timulin kelompok kontrol besarnya $0.028 \mu\text{g/mg}$, sedangkan kelompok yang mendapat suplementasi Zn sebesar $0.44 \mu\text{g/mg}$ protein plasma (Gambar 4).

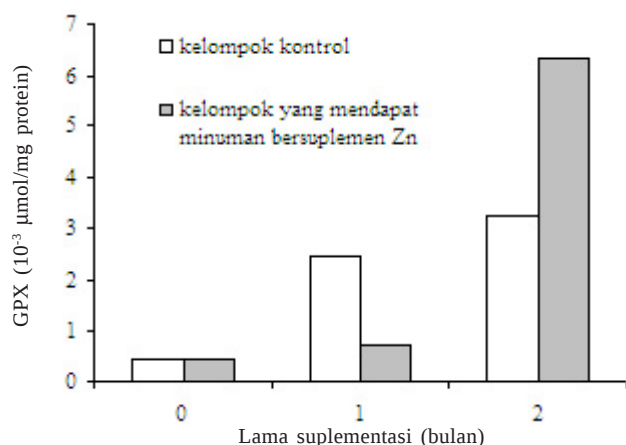
Kadar Zn Plasma. Pada saat *baseline*, kadar Zn plasma kedua kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan ($p=0.63$). Setelah satu bulan suplementasi, juga tidak berbeda ($p=0.26$). Demikian pula setelah dua bulan suplementasi, kadar Zn plasma nampak menurun tetapi tidak nyata ($p=0.163$). Kadar Zn kelompok kontrol adalah $41.65 \mu\text{mol/l}$, sedangkan kelompok yang mendapat suplementasi Zn adalah $25.15 \mu\text{mol/l}$ (Gambar 5).



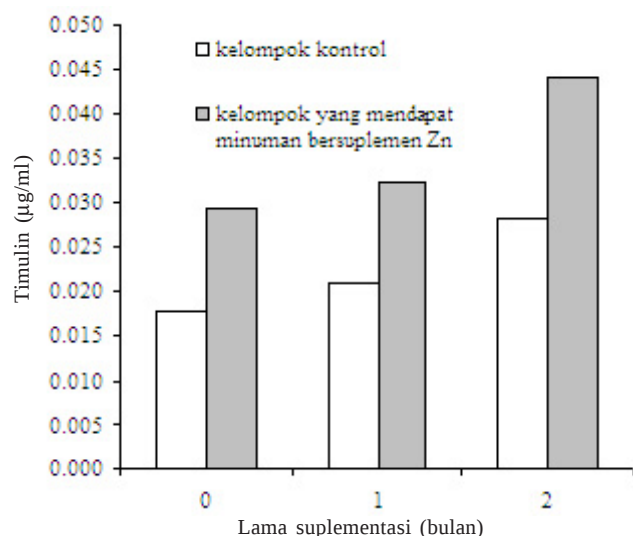
Gambar 1. Efek suplementasi Zn terhadap aktivitas SOD.



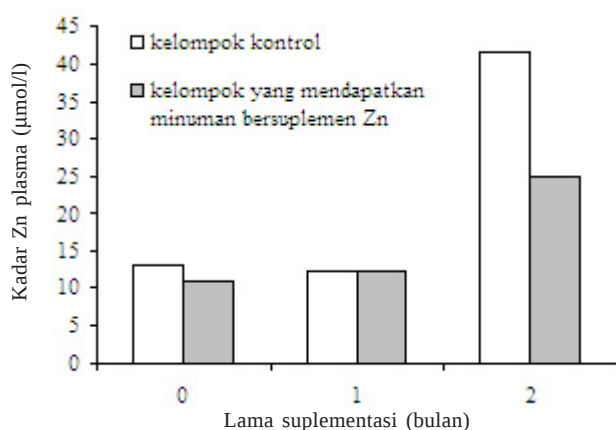
Gambar 2. Efek suplementasi Zn terhadap aktivitas katalase.



Gambar 3. Efek suplementasi Zn terhadap aktivitas GPX.



Gambar 4. Efek suplementasi Zn terhadap kadar timulin.



Gambar 5. Efek suplementasi Zn terhadap kadar Zn plasma.

PEMBAHASAN

Suplementasi Zn ternyata mampu menginduksi sel limfosit, yang diketahui dengan meningkatnya aktivitas SOD limfosit. Dardenne *et al.* (1982) melaporkan bahwa aktivitas enzim antioksidan SOD sangat bergantung pada status Zn. Peran

Zn pada aktivitas enzim SOD diduga dengan cara menstimulir semua jenis sel limfosit T (Tanaka *et al.* 1989). Dengan terstimulirnya limfosit T, memungkinkan sel T berproliferasi dan berdiferensiasi (Rink & Kirchner 2000), yang akhirnya dapat memacu aktivitas enzim selulernya.

Enzim SOD dalam sitosol berbentuk CuZn-SOD, aktif pada lisosom dan di antara membran mitokondria. Katalitik enzim tersebut diperankan oleh ion Cu yang terletak pada sisi aktif, sedangkan Zn diperlukan untuk menstabilkan enzim (Bodwell & Erdman 1988). Kestabilan enzim oleh Zn akan meningkatkan aktivitas enzim seluler tersebut (Gambar 1).

SOD terdapat pada semua organisme aerob dan hampir semua komponen subseluler yang mampu membentuk oksigen teraktivasi, karenanya SOD berperan penting dalam sistem pertahanan terhadap serangan stres oksidatif (Scandialis 1993). Isoflavon dan Zn diduga bersifat sinergis dalam meningkatkan aktivitas SOD. Dugaan tersebut memperkuat temuan Afanas'av *et al.* (1989) bahwa interaksi senyawa flavonoid (rutin dan quersetin) dan ion Zn memiliki tambahan satu pusat *radical scavenging* sehingga efek antioksidannya makin kuat.

Wijaya (1996) menyatakan bahwa aktivitas enzim katalase diinduksi oleh Fe. Asupan Fe yang memadai mampu menginduksi aktivitas katalase. Sementara Dawson-Hughes *et al.* (1986) berpendapat bahwa asupan Zn dalam jumlah tertentu akan bersifat kompetitif terhadap Fe. Suplementasi Zn pada responden diduga berinteraksi negatif terhadap absorpsi Fe, sehingga menekan status Fe. Rendahnya status Fe tubuh berdampak negatif pada aktivitas enzim katalase (Gambar 2).

Menurut Miller dan Strittmatter (1992), Zn sangat penting untuk perkembangan dan berfungsinya sel limfoid, dalam hal ini didominasi oleh sel T yang berada di dalam maupun di luar kelenjar timus. Sel T merupakan bagian limfosit, oleh sebab itu dengan terstimulirnya sel T, maka sel limfosit secara keseluruhan juga terstimulir untuk berfungsi dengan baik. Hal ini terlihat pada aktivitas enzim selulernya (Gambar 3). Mineral yang berperan langsung pada aktivitas glutathion peroksidase adalah selenium (Se). Sampai saat ini belum ada laporan adanya kompetisi antara Zn dengan absorpsi Se. Meskipun demikian Spencer *et al.* (1994) melaporkan bahwa suplementasi Zn, bersifat kompetitif terhadap absorpsi mineral-mineral imunitas seperti Cu, Fe, dan Mg. Suplementasi Zn juga diduga bersifat kompetitif terhadap Se, karena kemiripan peran mineral-mineral tersebut dalam metaloenzim, sehingga suplementasi kurang mampu menginduksi kerja enzim GPX.

Ketergantungan aktivitas timulin pada Zn dilaporkan oleh Prasad *et al.* (1988) bahwa aktivitas hormon tersebut menurun ketika tubuh mengalami defisiensi Zn. Penurunan kadar timulin juga terjadi pada pasien leukemia limfoblastik akut, yang diketahui karena defisiensi Zn (Mocchegiani *et al.* 1994). Aktivitas hormon timus tertinggi dilaporkan Lewis *et al.* (1978), terjadi pada usia 15-30 tahun, yaitu sebesar 15.3 ng/ml plasma sebagai hormon timopoietin, tetapi kemudian menurun seiring dengan meningkatnya usia.

Peran isoflavon pada aktivitas timulin diduga dengan cara melindungi sel-sel timus dari serangan oksidan, sehingga keutuhan sel akan terjaga, sementara Zn berfungsi dalam

maturasi, diferensiasi dan aktivasi sel-sel tersebut (Rink & Kirchner 2000). Sinergisme isoflavon dan Zn memacu sel-sel timus berfungsi dengan baik, yang ditunjukkan oleh aktivitas hormonnya.

Timulin merupakan hormon yang disekresikan oleh kelenjar timus. Hormon tersebut berfungsi sebagai pengendali sistem imun secara umum. Peningkatan aktivitas timulin (Gambar 4) membuktikan bahwa gangguan sistem imun wanita premenopause sebagai akibat atrofinya kelenjar timus dapat diperbaiki dengan minuman berisoflavon yang disuplementasi dengan Zn.

Wada (1985) berpendapat bahwa status Zn dipengaruhi oleh asupan Zn dari makanan. Demikian pula beberapa komponen penyusun makanan lainnya seperti Fe, protein, serat pangan, dan fitat, juga mempengaruhi status Zn (Dawson-Hughes *et al.* 1986; Sandstrom & Sandberg 1992). Kandungan Zn dalam makanan akan berpengaruh pada absorpsi Zn. Coppen dan Davies (1987) serta Sandstrom dan Cederblad (1980) melaporkan bahwa semakin tinggi asupan Zn akan menurunkan banyaknya Zn yang terserap. Menurunnya absorpsi Zn sebagai akibat dosis pemberian Zn yang lebih tinggi, dilaporkan terjadi karena kejenuhan pada mekanisme transport. Steel dan Cousins (1985) juga menyatakan bahwa absorpsi Zn juga dipengaruhi oleh komponen *carrier* (pembawa) dan proses difusi. Banyaknya Zn yang terserap akan meningkat secara linier hingga kadar lebih tinggi, namun setelah mencapai proses difusi, banyaknya Zn terserap akan konsisten.

Tingginya angka kecukupan asupan Fe responden (Winarsi *et al.* 2004b), diduga berefek negatif pada status Zn. Disamping itu, ada kemungkinan Zn dikelat oleh fitat dari bahan makanan asupan, karena diketahui asupan responden banyak berasal dari bahan nabati yang umumnya banyak mengandung serat. Faktor-faktor tersebut secara sinergis berakibat pada penurunan kadar Zn plasma (Gambar 5).

Lain lagi dengan pendapat Hambidge *et al.* (1989), bahwa kadar Zn plasma sangat fluktuatif, bergantung pada jenis asupan makanan, waktu makan, dan banyaknya makanan. Setelah makan, kadar Zn plasma meningkat tajam, namun akan menurun setelah 3-4 jam. Kadar tersebut akan meningkat lagi ketika mendapatkan asupan (Wallock *et al.* 1993). Dalam penelitian ini, pengambilan sampel darah tidak mempertimbangkan waktu (jam) makan responden karena tempat tinggal responden berjauhan. Hal ini diduga berpengaruh pada kadar Zn plasma. Namun demikian, dugaan ini tidak mutlak benar, mengingat keberadaan Zn dalam plasma hanya sesaat dan kurang menggambarkan status Zn tubuh seseorang. Goode *et al.* (1989) melaporkan bahwa kandungan Zn banyak terakumulasi pada jaringan otot, tulang, hati, dan organ lain.

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa suplementasi Zn dalam minuman berisoflavon mampu menginduksi sel-sel imunokompeten, seperti sel limfosit dan sel timus. Dengan terstimulirnya sel-sel imun spesifik tersebut, diduga minuman suplemen Zn juga mampu menginduksi sel-sel imun non spesifik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Ditbinlitabmas Dirjen Diknas atas pendanaan penelitian melalui proyek Hibah Bersaing XI/1 dan XI/2 Tahun anggaran 2003-2004.

DAFTAR PUSTAKA

- Afanas'av IB, Dorozhko AI, Brodskii AV, Kostyuk VA, Potapovich AI. 1989. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 38:1763-1769.
- Bodwell CE, Erdman JW. 1988. *Nutrient Interactions*. New York: Marcell Dekker. Inc.
- Bub A *et al.* 2000. Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J Nutr* 130:2200-2206.
- Castenmiller JJM *et al.* 1999. β -Carotene does not change markers of enzymatic antioxidant activity in human blood. *J Nutr* 129:2162-2169.
- Chein E. 2002. Thymic hormone and the immune system. <http://www.drchein.com/thymichormoneandimmune.htm>. [15 Agu 2002].
- Chen CY, Holtzman GI, Bakhit RM. 2002. High-genistin isoflavone supplementation modulated erythrocyte antioxidant enzymes and increased running endurance in rats undergoing one session of exhausting exercise – a pilot study. *Pakistan J Nutr* 1:1-7.
- Coppen DE, Davies NT. 1987. Studies on the effects of dietary zinc dose on ^{65}Zn absorption *in vivo* and on the effects of Zn status on ^{65}Zn absorption and body loss in young rats. *Br J Nutr* 57:35-44.
- Dardenne M *et al.* 1982. Contribution of zinc and other metals to the biological activity of the serum thymic factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:5370-5373.
- Davis CD, David BM, Forrest HN. 2000. Changes in dietary zinc and copper affect zinc status indicators of postmenopausal women, notably, extracellular superoxide dismutase and amyloid precursor proteins. *Am J Clin Nutr* 71:781-788.
- Dawson-Hughes B, Seligson FH, Hughes VA. 1986. Effects of calcium carbonate and hydroxyapatite on zinc and iron retention in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 44:83-88.
- Goode HF, Kelleher J, Walker BE. 1989. Zinc concentrations in pure populations of peripheral blood neutrophils, lymphocytes and monocytes. *Ann Clin Biochem* 26:89-95 (Abstrak).
- Hambidge KM, Goodall MJ, Stall C, Pritts J. 1989. Postprandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 3:55-57.
- Kenawy IMM, Hafez MAH, Akl MA, Lashein RR. 2000. Determination by AAS of some heavy metal ions in some natural and biological sample after their preconcentration using newly chemically modified chloromethylated polystyrene-PAN ion-exchanger. *Analytical Sci* 16:403-500.
- Lampe JW. 1999. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr* 70:475S-490S.
- Lewis VM, Twomey JJ, Bealmeir P, Goldstein G, Good RA. 1978. Age, thymic involution, and circulating thymic hormone activity. *J Clin Endocrinol* 47:145-150 (Abstrak).
- McDade TW, Beck MA, Kuzawa CW, Adair LS. 2001. Prenatal undernutrition and postnatal growth are associated with adolescent thymic function. *J Nutr* 131:1225-1231.
- Meydani M. 2000. Effect of functional food ingredients: Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr* 71:1665S-1668S.
- Meydani SN, Wu D, Santos MS, Hayek MG. 1995. Antioxidants and immune response in aged persons: Overview of present evidence. *Am J Clin Nutr* 62:1462S-1476S.
- Miller GG, Strittmatter WJ. 1992. Identification of human T-cells that require zinc for growth. *Scan J Immunol* 36:269-277.
- Mocchegiani E *et al.* 1994. Plasma zinc level and thymic hormone activity in young cancer patients. *Blood* 83:749-757.

- Prasad AS *et al.* 1988. Serum thymulin in human zinc deficiency. *J Clin Invest* 82:1202-1210.
- Rink L, Kirchner H. 2000. Zinc-altered immune function and cytokine production. *J Nutr* 130:1407S-1411S.
- Roitt IM. 1991. *Essential Immunology*. London: Blackwell Sci Publ.
- Sandstrom B, Cederblad A. 1980. Zinc absorption from composite meals. II. Influence of the main protein source. *Am J Clin Nutr* 33:1778-1783 (Abstrak).
- Sandstrom B, Sandberg AS. 1992. Inhibitory effects of isolated inositol phosphates on zinc absorption in humans. *J Trace Elem Elec Health Dis* 6:99-103.
- Scandialis JG. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol* 101:7-12.
- Spencer H, Norris C, Williams D. 1994. Inhibitory effects of zinc on magnesium balance and magnesium absorption in man. *J Coll Nutr* 13:479-484.
- Steel L, Cousins RJ. 1985. Kinetics of zinc absorption by luminally and vascularly perfused rat intestine. *Am J Physiol* 248:G46-G53 (Abstrak).
- Subowo. 1993. Sistem Imun Pada Usia Lanjut. Di dalam: Subowo (ed). *Imunologi Klinik*. Bandung: Angkasa. hlm 183-195.
- Swain JH, Alekel DI, Dent SB, Peterson CT, Reddy MB. 2002. Iron indexes and total antioxidant status in response to soy protein intake in perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 76:165-171.
- Tanaka Y, Shiozawa S, Morimoto I, Fujita T. 1989. Zinc inhibits pokeweed mitogen-induced development of immunoglobulin-secreting cells through augmentation of CD4 and CD8 cells. *Int J Immunopharmacol* 11:673-679.
- Vedavanam K, Sriyanta S, O'Reilly J, Raman A, Wiseman H. 1999. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytochemical extract (SPE). *Phytothes Res* 13:601-608.
- Wada LL, Turnlund JR, King JC. 1985. Zinc utilization in young men fed adequate and low zinc intakes. *J Nutr* 115:1345-1354.
- Wallock LM, King JC, Hambidge KM, Pritts J. 1993. Meal induced changes in plasma, erythrocyte and urinary zinc levels in adult women. *Am J Clin Nutr* 58:696-701.
- Wijaya A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. *Forum Diagnosticum*. Lab Klinik Prodia 1:1-12.
- Winarsi H, Muchtadi D, Zakaria FR, Purwantara B. 2004a. Respons hormonal-imunitas wanita premenopause yang diintervensi minuman fungsional berbasis susu skim yang disuplementasi dengan 100 mg isoflavon kedelai dan 8 mg Zn-sulfat (Susumeno). *J Teknol Industri Pangan* 15:28-34.
- Winarsi H, Muchtadi D, Zakaria FR, Purwanto A. 2004b. Respon imun wanita premenopause terhadap minuman fungsional isoflavon kedelai yang disuplementasi Zn. Laporan Hibah Bersaing XI/2. Purwokerto: Fakultas Biologi, UNSOED Purwokerto.
- Zakaria FR, Susanto H, Hartoyo. 2000. Pengaruh konsumsi jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap kadar malonaldehid dan vitamin E plasma pada mahasiswa pesantren Ulil Albaab Kedung Badak, Bogor. *Bul Teknol Industri Pangan* 11:36-40.