

## PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

Agus Abul Fadli Mubarak, Deny Yudi Fitranti\*)

Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro  
Jln. Prof. H. Soedarto, SH., Semarang, Telp (024) 8453708, Email : [gizifk@undip.ac.id](mailto:gizifk@undip.ac.id)

### ABSTRACT

**Background** : Hypercholesterolemia is one of cardiovascular disease's risk factors. Jackbean have antihypercholesterolemia agents (antioxidants, phytoprotein and fiber) that possible decrease cholesterol serum. Jackbean yoghurt have less antinutrition agent (HCN, trypsin inhibitor, oksalat, and fitat) and have lactic acid bacteria that can decrease total cholesterol too. This a study was to proof the effect of yoghurt jackbean ingestion to Sprague dawley rat total cholesterol serum.

**Method** : This study was true experimental with pre-post test with randomized control group design. Subject of this study was Sprague dawley rat, hypercholesterolemia induced, divided into three group; control group and threatment groups that ingested jackbean yoghurt with doses 2,1 and 4,5 ml along 21 days. Body weight and food intake was observed. Cholesterol serum measured directly with CHOD – PAP method. Data analised with Wilcoxon and Kruskall – Wallis tests.

**Result** : All of groups are have body weight and food intake increased significantly. All of groups are have serum cholesterol increased but not significant with increasing rate of each groups is 7,58 mg/dl (control group), 3,67 mg/dl (I treatment group), 3,47 mg/dl (II treatment group)

**Conclusion** : Ingestion jackbean yoghurt with dose 2,1 and 4,5 ml per day can't decrease rat total cholesterol serum.

**Keyword** : Yoghurt, Jackbean, Serum cholesterol, hypercholesterolemia

### ABSTRAK

**Latar Belakang** : Hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor risiko penyakit kardiovaskular. Koro pedang memiliki zat antihiperkolesterolemia (antioksidan, fitoprotein dan serat) yang dapat menurunkan kadar kolesterol total. Yoghurt koro pedang memiliki kadar zat antinutrisi (HCN, tripsin inhibitor, oksalat, dan fitat) yang lebih rendah dan kandungan bakteri asam laktat yang juga dapat mengurangi kadar kolesterol total. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt koro pedang terhadap kadar kolesterol total tikus Sprague Dawley.

**Metode** : Penelitian berjenis true experimental dengan pre-post test with randomized control group design. Subjek penelitian adalah tikus Sprague dawley dengan diinduksi hiperkolesterolemia, dibagi menjadi tiga kelompok, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diberi yoghurt koro pedang dosis 2,1 dan 4,5 ml selama 21 hari. Berat badan dan asupan makan tikus dipantau. Kadar kolesterol total diukur secara langsung dengan metode CHOD-PAP. Data dianalisis dengan uji Wilcoxon dan Kruskall-Wallis.

**Hasil** : Seluruh kelompok mengalami kenaikan berat badan dan peningkatan asupan makan yang bermakna. Rerata kolesterol total serum tiap kelompok mengalami kenaikan yang tidak bermakna; kontrol 7,58 mg/dl, perlakuan I 3,67 mg/dl, dan perlakuan II 3,47 mg/dl.

**Kesimpulan** : Pemberian yoghurt koro pedang dengan dosis 2,1 ml/hari dan 4,5 ml/hari tidak dapat menurunkan kadar kolesterol tikus.

**Kata kunci** : yoghurt, koro pedang, kolesterol total, hiperkolesterolemia

### PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kolesterol dalam darah meningkat melebihi ambang normal. Kadar kolesterol yang meningkat dapat menimbulkan penumpukan lemak pada dinding arteri (aterosklerosis). Hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor terjadinya penyakit kardiovaskular.<sup>1</sup> Penyakit kardiovaskular dapat berupa penyakit jantung koroner, hipertensi, penyakit arteri perifer, penyakit jantung bawaan, penyakit jantung rematik, dan gagal jantung. Menurut *World Health Organization* (WHO) (2011) penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian di dunia dan lebih dari

80% kematian tersebut terjadi di negara berkembang.<sup>2</sup>

Pengendalian kadar kolesterol yang tepat dapat mengurangi risiko terjadinya penyakit kardiovaskular. Hal tersebut dapat dilakukan dengan pemilihan sumber lemak yang tepat, pemenuhan asupan serat, dan konsumsi makanan yang mengandung zat yang mempunyai antioksidan, protein nabati, stanol, dan sterol yang dapat menurunkan kadar kolesterol (zat antihiperkolesterolemia).<sup>3</sup>

Koro pedang (*Canavalia ensiformis*) merupakan salah satu bahan makanan yang memiliki potensi antihiperkolesterolemia. Zat

\*) Penulis Penanggungjawab

antihiperkolesterolemia dalam koro pedang berupa saponin, tanin, polifenol seperti flavonoid dan isoflavan, protein nabati serta serat.<sup>4</sup> Zat-zat antihiperkolesterolemia tersebut bekerja dengan cara meningkatkan ekskresi kolesterol, meningkatkan perombakan kolesterol, dan mencegah terjadinya oksidasi kolesterol. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa ekstrak cair kacang koro pedang dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus diabetes mellitus dari  $2,98 \pm 0,05$  mmol/L menjadi  $1,80 \pm 0,03$  mmol/L (penurunan sebesar 39,6%).<sup>5</sup>

Selain mengandung zat antihiperkolesterolemia, koro pedang juga mengandung zat-zat antinutrisi (hidrogen sianida, concavalin, canatoxin, canavalin, canavanine, L-DOPA, trypsin inhibitor, oksalat, fitat, dan urease) yang tidak diharapkan keberadaannya untuk dikonsumsi yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan.<sup>6</sup> Keberadaan zat antinutrisi akan berkurang atau hilang selama proses pengolahan. Salah satu upaya untuk menimalisir zat anti nutrisi dalam koro pedang adalah dengan mengolah kacang koro pedang menjadi yoghurt.<sup>7,8</sup> Yoghurt koro pedang dibuat dari susu koro pedang yang difermentasikan dengan bakteri asam laktat.

Proses fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, dimana terjadi hidrolisa senyawa isoflavan bebas atau aglikon yang memiliki tingkat aktivitas lebih tinggi.<sup>9</sup> Berdasarkan sebuah penelitian, konsumsi yoghurt yang difermentasikan oleh bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan dosis 250 ml/hari menunjukkan perbaikan profil lipid manusia yang ditandai dengan penurunan kadar trigliserida darah.<sup>10</sup> Penelitian lainnya menyebutkan bahwa pemberian 115 ml/hari *black soyghurt* (yoghurt kedelai hitam) yang difermentasi bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dapat menurunkan kolesterol total.<sup>11,12</sup>

Penelitian tentang yoghurt koro pedang beserta pengaruhnya terhadap kolesterol total pada tikus hiperkolesterolemia belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengkaji lebih jauh tentang pengaruh pemberian yoghurt koro pedang (2,1 dan 4,5 gram) terhadap kadar kolesterol total tikus hiperkolesterolemia, dengan dosis efektif penelitian sebelumnya yang telah dikonversi ke tikus. Jenis tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jenis *Sprague dawley*, karena memiliki persamaan karakteristik biologi dengan manusia, lebih tahan terhadap perlakuan, omnivora, dan mengurangi bias hormon estrogen yang berpotensi menurunkan kolesterol

serta lebih sensitif terhadap diet tinggi lemak. Profil lipid yang diukur dalam penelitian adalah kolesterol total, karena kolesterol total merupakan gambaran keadaan kolesterol tubuh secara umum. Maka dari itu, kolesterol total dapat dijadikan skrining awal gangguan metabolisme lipid sebelum dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian *true experimental* dengan *pre-post test with randomized control group design* ini adalah penelitian bersama yang dilaksanakan di Lab Penelitian & Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pemberian yoghurt koro pedang pada subyek penelitian berupa tikus.

Subyek penelitian ini adalah tikus jantan *Sprague Dawley* umur 7 – 8 minggu, dengan berat badan 180-260 gram dan dalam kondisi sehat. Penentuan jumlah sampel menggunakan ketentuan WHO 1993, dimana jumlah minimal sampel setiap kelompok adalah 5 sampel.<sup>13</sup> Pada penelitian ini terdapat dua kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Jumlah sampel pada tiap kelompok ditambahkan minimal 10% untuk mengantisipasi drop out, sehingga pada masing-masing kelompok didapatkan jumlah sampel sebanyak 7 sampel. Jumlah keseluruhan sampel pada percobaan adalah 21 sampel. Seluruh sampel dibagi menjadi tiga kelompok; kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 2. Kelompok kontrol hanya diberikan pakan standar 20 gram setiap hari, sedangkan perlakuan 1 mendapatkan pakan standar 20 gram juga diberikan yoghurt koro pedang 2,1 ml per hari dan perlakuan 2 mendapat pakan standar 20 gram serta yoghurt koro pedang 4,5 ml per hari.

Sebelum penelitian dilakukan, seluruh subyek menjalani masa adaptasi selama 4 hari dengan hanya diberikan pakan standar. Jenis pakan standar AD II dengan komposisi berupa jagung kuning, SBM (*Soya Bean Meal*), MBM (*Meat and Bone Meal*), CGM (*Corn Gluten Meal*), palm olein, asam amino esensial, mineral esensial, premix, dan vitamin serta minum secara *ad libitum*. Pakan tinggi kolesterol berupa suspensi otak sapi yang dikukus kemudian diblender. Otak sapi diblender dengan rasio air 1:1. Suspensi otak sapi diberikan melalui spuit/spet secara sonde setiap pagi. Otak sapi diberikan pada hari ke 5 sebanyak 2 ml/hari untuk membuat keadaan hiperkolesterolemia pada tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan selama 2 minggu (hari ke-5 sampai 18). Kelompok kontrol akan tetap diberikan pakan standar, sedangkan kelompok perlakuan akan diberikan yoghurt koro pedang selama 3 minggu (hari ke-19 sampai 39).

Pengukuran berat badan dan sisa pakan standar tikus dilakukan setiap hari untuk dapat mengetahui perkembangan tikus. Berat badan tikus ditimbang dimulai dari hari pertama tikus dikarantina, sedangkan penimbangan sisa pakan standar dimulai dari hari ke-lima. Berat badan dibuat menjadi tiga rerata; rerata berat badan awal, rerata berat badan sebelum perlakuan, dan rerata berat badan setelah perlakuan.

Bahan dasar yoghurt koro pedang adalah susu koro pedang. Susu koro pedang dibuat dengan metode Cornel yang dimodifikasi sebagai berikut: biji koro pedang disortir, kemudian direndam selama 24 jam dengan perbandingan biji koro dan air 1:10 kemudian ditiriskan. Kulit koro pedang dikupas lalu biji koro pedang dicuci dua kali. Kemudian koro pedang direbus dengan perbandingan biji dengan air 1:5 selama 20 menit. Kemudian koro pedang diblender perbandingan koro pedang dengan air 1:2) sampai halus. Air yang digunakan dalam memblender adalah air panas 80-100 °C). Setelah diblender halus, koro pedang kemudian disaring hingga didapat susu koro pedang. Kemudian susu koro pedang dipasteurisasi dengan suhu 80-85 °C selama 20 menit.<sup>14</sup>

Yoghurt koro pedang dibuat berdasarkan metode pembuatan yoghurt dengan bahan dasar susu kedelai sesuai metode Kanda yang dimodifikasi. Susu koro pedang yang telah dipasteurisasi kemudian didinginkan. Kemudian susu koro pedang ditambahkan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan 1:1 sebanyak 3%, gula 25%, dan susu skim 5% dari volume susu koro pedang. Kemudian susu koro pedang diinkubasi selama 4 jam.<sup>15</sup>

Dosis pemberian didasarkan dosis efektif pemberian yoghurt nabati pada manusia dalam penelitian sebelumnya yaitu 115 ml/hari dan dosis efektif pemberian yoghurt susu sapi dengan bakteri

yang sama dalam penelitian sebelumnya yaitu 250 ml/hari.<sup>12-14</sup> Dosis ini kemudian dikonversikan dari manusia ke tikus. Konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan adalah 0,0018. Perhitungan dosis kelompok perlakuan I :  $115 \times 0,0018 = 2,07 \approx 2,1$  ml/hari dan dosis kelompok perlakuan II :  $250 \times 0,0018 = 4,5$  ml/hari. Pembuatan pakan dan pemeriksaan kadar kolesterol total tikus dilakukan di Lab Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Pengukuran kadar kolesterol darah dilakukan dengan mengambil darah dari *plexus retro-orbitalis* tikus *Sprague dawley* sebanyak maksimal 0,00075 ml/g berat badan tikus dan dimasukkan ke dalam tabung bersih, kemudian darah di-*sentrifuge* untuk mendapatkan serumnya. Pengambilan sampel darah dilakukan sebanyak tiga kali; hari ke-empat, hari ke-delapan belas, dan hari ke-39. Kadar kolesterol total diukur secara langsung dengan metode CHOD-PAP.

Data kolesterol total diolah menggunakan program komputer dengan batas kemaknaan  $p < 0.05$ . Pengujian normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Perbedaan kadar kolesterol total serum sebelum dan sesudah perlakuan kelompok diuji non parametrik *Wilcoxon*, karena sebagian data tidak berdistribusi normal. Perbedaan pengaruh dari ketiga kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*.<sup>16</sup>

## HASIL PENELITIAN

Dua puluh satu tikus *Sprague Dawley* dikandangkan secara individual. Tidak ada sampel yang drop out dalam penelitian ini. Setiap hari berat badan serta sisa pakan tikus ditimbang dan kandang tikus dibersihkan. Perkembangan pertumbuhan tikus selama perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1 Rerata Pertumbuhan Tikus selama Perlakuan (gram ± SD)**

Variabel	Kelompok			p*
	K (n=7)	P 1 (n=7)	P 2 (n=7)	
Berat badan sebelum	247,7 ± 27,4	249,7 ± 24,7	226,6 ± 22,7	0,190
Berat badan setelah	270,3 ± 27,6	268,5 ± 22,2	245,5 ± 27,1	0,162
Perubahan berat badan	22,6	18,8	18,9	
p**	0,001	0,000	0,012	

\*uji ANOVA \*\*uji t berpasangan

Selama penelitian tikus ditimbang setiap pagi hari sebelum diberi pakan. Semua kelompok sampel memiliki kecenderungan mengalami peningkatan berat badan. Meskipun berat rerata tikus antar kelompok terlihat tidak sama, tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna antar rerata berat

badan tikus di tiap kelompok sampel ( $p > 0,05$ ). Peningkatan tersebut bersifat signifikan yang dibuktikan dengan uji t berpasangan ( $p < 0,05$ ). Kelompok kontrol mengalami peningkatan berat badan paling tinggi yaitu sebesar 22,6 gram.

**Tabel 2 Perubahan Rerata Asupan Tikus selama Perlakuan (g ± SD)**

Variabel	Kelompok			p*
	K (n=7)	P 1 (n=7)	P 2 (n=7)	
Asupan makan sebelum	14,3 ± 1,6	13,1 ± 1,4	12,6 ± 1,2	0,102
Asupan makan sesudah	15,8 ± 1,0	15,2 ± 0,5	14 ± 1,4	0,105
<b>p**</b>	0,002	0,011	0,016	

\*uji ANOVA \*\*uji t berpasangan

Tikus beradaptasi dengan baik dengan pakan yang diberikan. Hal tersebut dibuktikan dengan rerata asupan tikus yang cenderung meningkat. Asupan yang dihitung adalah asupan

standar (20 g pelet). Perubahan asupan diuji dengan uji t berpasangan yang membuktikan bahwa kenaikan tersebut bermakna secara statistik ( $p > 0,05$ ).

**Tabel 3 Rerata Kadar Kolesterol Total Sebelum dan Sesudah Pemberian Yoghurt Koro Pedang (mg/dl ± SD)**

Variabel	Kelompok			p antar kelompok*
	K (n=7)	P 1 (n=7)	P 2 (n=7)	
Kolesterol Awal	46,21±1,64	51,53±1,19	51,91±1,39	0,024
Kolestrol Sebelum	51,69±1,23	52,93±2,57	61,51±3,77	0,95
Kolesterol Sesudah	59,27±4,42	56,60±4,29	64,98±4,81	0,444
<b>p sebelum &amp; sesudah**</b>	0,18***	0,117	0,153	

\*uji ANOVA \*\*uji t berpasangan \*\*\*uji Wilcoxon

Setelah pemberian pakan otak sapi semua kelompok sampel mengalami kenaikan kadar kolesterol total. Kenaikan kadar kolesterol antar kelompok tidak berbeda  $p = 0,95$ . Setelah pemberian yoghurt koro pedang selama tiga minggu terjadi kenaikan kadar kolesterol total yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

### Kolesterol Total Sebelum Perlakuan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, didapatkan bahwa kolesterol total tikus Sprague Dawley naik secara signifikan setelah pemberian pakan tinggi kolesterol berupa otak sapi sebanyak 4 ml. Otak sapi merupakan makanan yang mengandung 2 gram kolesterol dan 2,9 gram lemak jenuh dalam tiap 100 gram. Hiperkolesterolemi merupakan sebuah gangguan metabolik yang salah satunya disebabkan asupan tinggi kolesterol dan lemak jenuh yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol darah. Pemberian asupan otak sapi selama 2 minggu mengakibatkan peningkatan rerata kadar kolesterol total tikus sebesar 11%.

### Kolesterol Total Sesudah Perlakuan

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi penurunan kadar kolesterol total tikus akan tetapi yang terjadi adalah peningkatan kadar kolesterol total. Peningkatan tersebut tidak signifikan yang kemungkinan disebabkan beberapa hal. Salah satu hal tersebut adalah respon pemberian otak sapi yang membutuhkan waktu lebih lama dibanding yang diperkirakan.

Tikus kelompok perlakuan diberikan yoghurt koro pedang selama 21 hari menggunakan cara yang sama dengan pemberian otak sapi. Seharusnya secara teori pemberian yogurt koro pedang dapat mengurangi kadar kolesterol darah. Akan tetapi hasilnya berkebalikan dengan yang diharapkan. Hal tersebut kemungkinan dikarenakan pemberian yoghurt yang disamaratakan. Pemberian yoghurt seharusnya diberikan sesuai dengan berat badan masing-masing tikus. Rusaknya zat antihiperkolesterolemi (polifenol) selama pemrosesan pembuatan yoghurt juga berpotensi menjadi tidak turunnya kadar kolesterol tikus.<sup>8</sup> Selain itu, penanganan yoghurt selama ditransportasikan yang memenuhi standar dapat mempengaruhi kadar bakteri asam laktat.

Selama penelitian, tikus uji mengalami peningkatan berat badan secara signifikan. Berat badan berlebih merupakan salah satu faktor risiko meningkatnya kadar kolesterol dalam tubuh. Semakin berat badan bertambah semakin banyak pula penumpukan lemak dalam tubuh. Semakin banyak simpanan lemak semakin banyak juga kadar trigliserida yang merupakan sumber utama sintesis VLDL dan LDL yang bersirkulasi dalam darah.

## KETERBATASAN PENELITIAN

Beberapa keterbatasan dalam penelitian ini adalah metode penelitian yang belum standar dalam hal pemberian pakan hiperkolesterolemia dan yoghurt yang tidak disesuaikan dengan berat badan tikus. Kesalahan dalam penerapan metode

lainnya adalah pengacakan sampel seharusnya dilakukan setelah pemberian pakan hiperkolesterolemia bukan pada awal penelitian. Selain itu juga tidak ada pemeriksaan kesehatan khusus tikus selama penelitian.

### SIMPULAN

Pemberian yoghurt koro pedang (*Canavalia ensiformis*) dengan dosis 2,1 ml/hari dan 4,5 ml/hari tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus *Spague Dawley* Hiperkolesterolemia.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Ibu Deny Yudi Fitranti, S.Gz, M. Si selaku dosen pembimbing, Bapak Prof. dr. M. Sulchan, M.Sc., DA.Nutr., Sp.GK dan Ibu Ninik Rustanti, S.TP., M.Si selaku reviewer. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Widya Ayu Wulandari dan Nurul Alam Sayekti selaku rekan sepenelitian, Bapak Suwayah selaku Teknisi Lab Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada, serta seluruh pihak yang telah membantu terbentuknya karya tulis ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Gropper SS, Smith JL, Groff JL. Advance nutrition and human metabolism. 5<sup>th</sup> ed. Belmont: Wadsworth; 2009. P. 131;74
- World Health Organization. Fact sheets: Cardiovascular disease (CVDs). [cited 2013 May 13]. Available from URL : <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs317/en/index.html>
- Krummel DA. Medical nutrition therapy for cardiovascular disease. In Mahan LK, Escott-Stump S, editors. Krause's Food Nutrition and Diet Therapy. 12<sup>th</sup> ed. Pennsylvania: Saunder; 2008. P.834-837.
- Nimenibo-Uadia. Effect of aqueous extract of *Canavalia ensiformis* seeds on hyperlipidemia and hyperketonemia in alloxan-induced diabetic rats. *Biochemistri* 2003; 15: 7-15
- Sridhar KR and Sena S. Nutritional and antinutritional significance of four uncoventional legumes of the genus *Canavalia* – A comparative study. *Food Chemistry*.2005; 99: 267-288.
- Istiani Y. Karakterisasi senyawa bioaktif isoflavon dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tempe berbahan baku koro pedang (*Canavalia ensiformis*) [thesis]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret. 2010.
- Baum JA, et al. Long-term intake soy protein improves blood lipid profiles and increase mononuclear cell low-density lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, postmenopausal women. *Am J. Clin Nutr* 1998; 68: 545-551.
- Doss A, Pugalenti M, and Vadivel V. Antioxidant activity of raw and differentially processed under-utilized tropical legume *Canavalia ensiformis* L. Dc Seeds, South India. *IIOABJ Vol. 2*. 2011; (8): 27-32.
- Doss A, Pugalenti M, Vadivel V, Subhasini G, and Anitha S. Effect of processing technique on the nutritional composition and antinutrients content of under-utilized food legume *Canavalia ensiformis* L.DC. *International. Food Research Journal* 2011; 18 (3): 965-970.
- Ajeigbe SO, Mohammed AK, Yahaya IA and Oyelowo AO. Effect of Processing Techniques on Level of Mineral and Antinutritional Factors of *Canavalia ensiformis*. *Pakistan Journal of Nutrition* 2012; 11 (12): 1121-1124.
- Agbede JO and Aletor VA. Studies of the cemichal composition and protein quality evaluation of differently processed *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* flours. *Journal of Food Composition and Analysis* 2003; 18: 89-103.
- Ooi LG and Liong MT. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics : A review of in vivo and in vitro findings. *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11; 2499-2522
- World Health Organization (WHO). General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Geneva : WHO;2001
- Santoso. Susu dan yoghurt kedelai. Seri teknologi pangan dan populer. Laboratorium Kimia Pangan Faperta UWG. 2009
- Kanda H, Wang HL, Hesseltine CW, and Warner K. Yoghurt production by lactobacillus fermentation of soybean milk. 1976.
- Dahlan MS.. Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Uji Hipotesis. Seri Statistik. PT Arkans: Jakarta 2004.