

EFEK SUPLEMENTASI EKSTRAK PROTEIN KECAMBAH KEDELAI TERHADAP KADAR IL-1BETA PENDERITA DIABETES TIPE-2

[The Effect of Soy Germ Protein Extract Supplementation on the Level of IL-1 Beta of Type-2 Diabetic Woman]

Hery Winarsi^{1)*} dan Agus Purwanto²⁾

¹⁾ Fakultas Biologi, Universitas Soedirman Purwokerto

²⁾ RSUD Margono Soekarjo Purwokerto

Diterima 5 April 2009 / Disetujui 30 Desember 2009

ABSTRACT

The research was conducted to determine the effect of soy germ protein extract supplementation on the IL-1beta level of type-2 diabetic women. Research subjects were 32 type-2 diabetic women, outpatients of Diabetic Clinics of Margono Soekarjo General Hospital-Purwokerto. These women had blood glucose level above normal, BMI > 23 kg/m², over 40 years old, lived in Purwokerto, and signed the informed consent. Group A (n=8) was given milk containing soy germ protein extract plus Zinc, Group B (n=8) was given milk containing soy germ protein extract without Zinc, Group C (n=8) was given placebo, and Group D (n=8) was given glibenclamide for 8 weeks. Blood samples were taken 3 times: 0, 4 and 8 weeks after intervention. The plasma IL-1beta level was analyzed using Elisa. After 8 weeks, the IL-1beta level decreased from 6.01 pg/mL to 2.63 pg/mL (p=0.022) in group A. However, the IL-1beta level in Group A was not different from the Group B (p=0.51). Soy germ protein extract decreased cytokine inflammatory production of type-2 diabetic. Soy germ protein extract with or without Zn had similar effects to glibenclamide in reducing the IL-1beta level (p=0.76).

Key words: IL-1beta, soy germ protein, Zn, type-2 diabetic.

PENDAHULUAN

Tingginya kejadian Diabetes Mellitus (DM) berdampak pada tingginya kejadian Diabetes mellitus Tipe-2 (DMT-2). Selain karena resistensi insulin, pada kasus DMT-2 juga ditemukan defect sel-β. Salah satu penyebab defect ini adalah kegagalan sel-β pankreas (Pick *et al.*, 1998; Donath *et al.*, 1999), yang berpengaruh pada produksi IL-1 (Heitmeier *et al.*, 2001), dan IL-1beta (Dinarello, 1996), serta C-reactive protein (Larsen *et al.*, 2007). IL-1beta yang ditemukan dalam pankreas penderita DMT-2 (Maedler *et al.*, 2002), merupakan sitokin inflamasi yang berimplikasi pada kehancuran sel-β, menekan fungsi sel-β dan mempromosikan apoptosisnya.

Tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia) juga memacu sel-β memproduksi IL-1beta dan melepaskannya, diikuti oleh menurunnya fungsi sel (Maedler *et al.*, 2004; Welsh *et al.*, 2005). Hiperglikemia merupakan salah satu faktor yang menyebabkan komplikasinya penderita diabetes (Shanmugam *et al.*, 2003). Hal ini membuktikan bahwa sitokin inflamasi islet berperan dalam patogenesis DMT-2. Sebagai akibatnya pankreas tidak mampu memproduksi cukup insulin untuk mengkompensasikan kadar gula yang tinggi. Massa sel-β berkurang (Sakuraba *et al.*, 2002), tetapi apoptosisnya meningkat (Kahn, 2003). Protein kedelai memiliki fungsi mengontrol kadar gula darah (Hermansen *et al.*, 2001; del Carmen Crespillo *et al.*, 2003), dengan cara memacu sel pankreas hipertropi, kemudian merangsang sekresinya insulin. Diduga protein dari kedelai yang telah dikecambahkan memiliki

potensi yang lebih besar dibanding kedelai yang belum dikecambahkan, karena sebagian besar komponen didalamnya terhidrolisis selama proses perkecambahan. Daidzein dan glisitein yang merupakan komponen isoflavon utama dalam kecambah kedelai juga meningkat (Song *et al.*, 2003; Winarsi *et al.*, 2009), dan telah terbukti sebagai antioksidan dan imunostimulan (Winarsi *et al.*, 2005a; Winarsi *et al.*, 2005b). Winarsi *et al.* (2005a) juga berpendapat bahwa wanita usia diatas 40 tahun, umumnya status Zn menurun, karenanya Zn diperlukan pada penderita DMT-2. Chausmer (1998) menambahkan bahwa pemberian Zn dapat memperbaiki sensitivitas insulin dan menekan beberapa penyakit komplikasinya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai terhadap kadar IL-1beta wanita penderita diabetes mellitus tipe-2.

METODOLOGI

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan rancangan percobaan acak lengkap. Sebagai responden adalah 32 wanita yang tercatat sebagai pasien rawat jalan Poli Diabetes RSUD Margono Soekarjo Purwokerto, kadar gula darahnya lebih dari normal (puasa > 100 mg/dl; 2 jam p.p>126 mg/dl; sewaktu > 200 mg/dl), Body Mass Index > 23 kg/m², usia > 40 tahun, tinggal di Purwokerto, dan bersedia menandatangani *informed consent*. Responden dibagi kedalam 4 kelompok secara acak, A, B, C, dan D masing-masing 8 orang.

*Korespondensi penulis : 08161488133

E-mail : winarsi@yahoo.com

Produk suplemen tersusun atas susu skim, ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn, pemanis, dan flavor (Winarsi & Purwanto, 2009), dikemas dalam sachet @ 25 gram. Kelompok A diberi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn, kelompok B diberi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai (tanpa Zn), kelompok C diberi susu tanpa ekstrak protein kecambah kedelai ataupun Zn (sebagai plasebo atau kontrol negatif), dan kelompok D hanya diberi obat glibenklamid sebagai kontrol positif. Intervensi dilakukan selama 8 minggu, dengan dosis sekali minum. Pengambilan sampel darah dilakukan 3 kali, yaitu baseline, dilanjutkan 4 dan 8 minggu setelah intervensi. Darah sebanyak 1 mL diambil secara intravena menggunakan venojek ber-EDTA, kemudian dilakukan pemisahan bagian plasmanya.

Separasi plasma

Darah dalam tabung venojek yang mengandung EDTA disentrifuge dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit, sehingga terjadi 2 lapisan. Lapisan atas adalah plasma, sedangkan lapisan bawah adalah eritrosit, kemudian dipisahkan. Dari bagian plasma ditentukan kadar IL-1beta menggunakan kit RayBio^R Human IL-1beta ELISA.

Penentuan kadar IL-1beta

Secara singkat ditambahkan 100 uL standar dan plasma kedalam well, kemudian ditutup, dan diinkubasi semalam pada suhu 4°C. Setelah larutan dibuang, kemudian plate dicuci. Ditambahkan 100 uL antibodi ke setiap well, lalu diinkubasi selama 1 jam suhu kamar. Setelah plate dicuci, ditambahkan 100 uL larutan Streptavidin, dan diinkubasikan selama 45 menit pada suhu kamar. Ditambahkan 100 uL Reagen TMB, sesudah plate dicuci, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan gelap. Diakhiri dengan penambahan 50 uL stop solution, kemudian dibaca pada 450 nm, menggunakan Elisa reader (Biorad 11565).

Analisa data menggunakan Anova. Bila terdapat signifikansi ($P \leq 0,05$) dilanjutkan uji Duncan. Untuk mengetahui potensi suplemen terhadap obat yang biasa digunakan para penderita DMT-2, maka kelompok perlakuan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok yang mengkonsumsi glibenklamid.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran umum wanita penderita diabetes mellitus Tipe-2

Wanita penderita Diabetes Mellitus Tipe-2 yang terlibat sebagai responden dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis varian diantara kelompok perlakuan tidak berbeda nyata untuk umur ($P = 0,81$), BMI ($P = 0,76$), dan kadar gula darah ($P = 0,99$). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi responden kelompok A, B, C, dan D adalah homogen. Oleh sebab itu bila terjadi perubahan selama intervensi itu karena pengaruh produk suplemen yang diberikan.

Table 1. Baseline Gambaran umum wanita penderita Diabetes melitus Tipe-2

	A (n=8)	B (n=8)	C (n=8)	D (n=8)
Umur (tahun)	57,88	59	61,19	60,25
BMI (kg/m ²)	25,57	25,62	25,88	27,12
Gula darah (mg/dL)	313	324,5	329,25	318,88

A: responden yang mengkonsumsi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn; B: responden yang mengkonsumsi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai (tanpa Zn); C: responden yang mengkonsumsi susu tanpa ekstrak protein kecambah kedelai maupun Zn; D: responden yang hanya mengkonsumsi glibenklamid.

Produk susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai yang diberikan kepada responden

Tepung protein kecambah kedelai diekstrak dari kecambah kedelai Slamet. Kandungan protein ekstrak kecambah kedelai sebesar 42,0%, lebih tinggi dibanding protein ekstrak kedelainya (36,5%), demikian pula terhadap tepung protein kedelai komersial (39,4%). Kandungan isoflavonnya juga lebih tinggi pada protein kecambah kedelai (39,1 ppm), dibanding dengan protein kedelainya (26,7 ppm), maupun protein kedelai yang telah dikomersialkan (34,3 ppm) (Winarsi *et al.*, 2009). Nampaknya ekstrak protein kecambah kedelai Slamet dapat diandalkan sebagai sumber protein yang potensial, dan memungkinkan sebagai komponen pangan fungsional.

Responden diberikan produk berupa susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn. Adapun kandungan gizi produk yang diberikan kepada responden dipaparkan dalam Tabel 2. Ketiga produk tersebut mengandung zat-zat gizi yang hampir sama, seperti air, abu, lemak, protein, dan karbohidrat. Komponen utama pada produk A adalah ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn, sedangkan produk B mengandung ekstrak protein kecambah kedelai tanpa Zn, dan produk C tidak mengandung ekstrak protein kecambah kedelai ataupun Zn.

Table 2. Kandungan gizi produk yang diberikan kepada responden.

	A	B	C
Air (%)	4,8	4,6	4,5
Abu (%)	22,7	22,6	22,4
Lemak (%)	1,11	1,02	1,04
Protein (%)	42,0	39,5	36,7
Karbohidrat (%)	29,39	32,28	35,36
Total (%)	100	100	100

A: susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn; B: susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai (tanpa Zn); C: susu tanpa ekstrak protein kecambah kedelai maupun Zn.

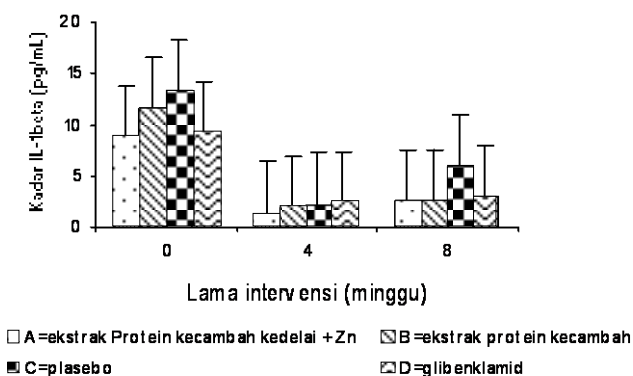
Produk tersebut memiliki kelebihan dibanding susu kedelai pada umumnya. Untuk mendapatkan informasi kelebihannya, produk diberikan kepada wanita penderita Diabetes Mellitus Tipe-2 selama 8 minggu, untuk diketahui efeknya terhadap kadar IL-1beta plasmanya.

Kadar IL-1 beta wanita penderita diabetes mellitus Tipe-2.

Hiperglikemia yang terjadi pada DMT-2 merupakan salah satu faktor kunci penyebab komplikasi diabet. Kondisi ini berkaitan dengan teraktivasinya sistem imun pada penderita DMT-2, obesitas, dan resistensi insulin yang dicirikan oleh tingginya kadar sitokin, kemokin, dan protein fase akut (Wellen & Hotamisligil, 2005; Kolb & Mandrup-Poulsen, 2005).

IL-1beta merupakan sitokin yang diproduksi oleh berbagai sel monosit dan limfosit T, yang kemudian melepaskan signal inflamasi. Sitokin inflamasi ini memiliki aktivitas prokoagulan, yang menstimulir sel monosit melakukan adhesi ke endotel. Setelah melewati permukaan endotel, sel inflamasi tersebut kemudian bermigrasi ke sub endotel, sehingga menyebabkan kerusakan endotel. Kerusakan lapisan endotel menyebabkan sel endotel menghasilkan molekul sel adhesi, seperti halnya sitokin IL-1beta, TNF- α , kemokin (*monocyte chemoattractant factor 1*, MCP-1), dan *platelet-derived growth factor* (PDGF) (Eizirik & Mandrup-Poulsen, 2001).

Saat baseline kadar IL-1beta tinggi, yaitu 8,83 pg/mL, 11,53 pg/mL, 13,30 pg/mL, dan 9,19 pg/mL berturut-turut untuk kelompok yang mengkonsumsi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn, susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai tanpa Zn, plasebo, dan yang hanya mengkonsumsi glibenklamid (Gambar 1).



Gambar 1. Kadar IL-1 beta wanita penderita DMT-2 selama intervensi

Temuan ini mendukung studi Ghanim *et al.* (2004) dan Devaraj *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa pada penderita obesitas dan resistensi insulin, kadar sitokin proinflamasi sel mononuklear meningkat. Hal ini terjadi karena pada DMT-2 terjadi peningkatan pengiriman glukosa ke jaringan adiposa. Sel endotel pada jaringan adiposa memicu peningkatan *uptake* glukosa melalui glukosa transporter, sehingga terjadi hiperglikemia pada sel endotel dan meningkatkan aktivitas NADPH oxidase, serta produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) mitokondrial. Peningkatan ROS menyebabkan stres oksidatif dan mengaktivasi signal inflamasi, sehingga endotel teraktivasi dan menarik sel proinflamasi makrofag (Dandona *et al.*, 2005).

Peningkatan stres oksidatif juga terjadi dalam tubuh wanita usia diatas 40 tahun (Winarsi *et al.*, 2005a; Winarsi *et al.*, 2005b; Winarsi *et al.*, 2006). Tentunya kondisi stres oksidatif juga dialami para penderita DMT-2, mengingat usia rata-rata responden 59,5 tahun. Stres oksidatif yang berkelanjutan akan

memicu terjadinya gangguan metabolisme, baik *uptake* glukosa pada otot maupun jaringan adiposa, yang akhirnya berdampak pada penurunan sekresi insulin. Peningkatan stres oksidatif juga meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler (PKV) (Winarsi, 2007). Oleh sebab itu penderita DMT-2 berisiko tinggi terkena PKV, sehingga status antioksidannya harus ditingkatkan atau kadar sitokinnya harus diturunkan.

Saat baseline, kadar IL-1beta antar kelompok tidak berbeda ($p=0,97$), demikian pula setelah 4 minggu intervensi juga tidak ada perbedaan ($p=0,34$). Namun setelah 8 minggu intervensi kadar IL-1beta menurun dari 6,01 pg/ml menjadi 2,63 pg/ml ($p=0,022$), terjadi pada kelompok yang mengkonsumsi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn. Kenyataannya kadar IL-1beta pada kelompok tersebut tidak berbeda dengan kelompok yang mengkonsumsi susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai tanpa Zn ($p=0,51$). Penurunan kadar IL-1beta ini membuktikan bahwa kerja sistem imun penderita DMT-2 dapat diperbaiki oleh ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn maupun tanpa Zn.

IL-1beta juga disekresikan oleh makrofag yang teraktivasi (termasuk sel Kupffer dan netrofil). Melalui kaskade intraseluler, IL-1beta menyebabkan penurunan biosintesis dan sekresi insulin yang distimulir glukosa (Xenos *et al.*, 1994) dan tingginya apoptosis islet pankreas. Sel Kupffer merupakan mediator inflamasi penting dalam sinusoid hepatic, yang merupakan tempat bersarangnya makrofag dalam liver. Ketika teraktivasi, sel Kupffer dapat merusak sel lain dengan melepaskan radikal bebas dan mensekresikan sitokin inflamasi. Berbagai molekul dapat disekresikan sel Kupffer yang teraktivasi, seperti metabolit toksik (IL-1beta, IL-6, TNF- α , IFN- γ), enzim (kolagenase, elastase), faktor angiogenesis, faktor koagulasi, komplemen, metabolit asam arakidonat (TXA2, lektrien, *platelet-activating factor*, PGs), ROS dan *Nitric Oxide Syntase* (NOS: O₂, H₂O₂, dan NO) (Decker, 1990). Dengan demikian banyaknya sel kupffer yang teraktivasi menyebabkan sitokin IL-1beta yang disekresi sel tersebut juga bertambah. Kondisi seperti ini tidak dapat dibiarkan begitu lama, karena dapat berimplikasi ke berbagai penyakit.

Di sisi lain, keberadaan makrofag dalam sel pankreas merupakan penyebab terjadinya kerusakan dan kehancuran islet pankreas. Dalam merespons stimulus proinflamasi, makrofag-makrofag tersebut memproduksi IL-1 dalam islet (Amush *et al.*, 1998). Meskipun keberadaan makrofag merupakan sumber IL-1, namun baru-baru ini Heitmeier *et al.* (1999) melaporkan bahwa sel- β islet pankreas dapat memproduksi IL-1 ketika merespons stimulan IFN- γ yang tidak bergantung pada keberadaan makrofag. Oleh sebab itu penurunan jumlah makrofag (monosit) harus diupayakan guna mencegah terjadinya peningkatan sitokin IL-1beta.

Pada kenyataannya penurunan kadar IL-1beta dalam penelitian ini, didukung penurunan jumlah monosit, dari 704 sel/mm³ menjadi 634 sel/mm³ ($p=0,27$) (Tabel 3). Meskipun penurunan jumlah monosit tersebut tidak signifikan, akan tetapi jumlah tersebut memasuki kisaran normal. Tentunya akan berdampak positif bagi penderita DMT-2, karena tingginya jumlah monosit (lebih dari jumlah normal) mampu melakukan infiltrasi ke dalam islet pankreas, yang selanjutnya mengakibatkan reaksi inflamasi.

Monosit adalah sel fagosit yang selalu siap mengakses ke dalam dinding arteri dan menyebabkan atherosclerosis. Temuan ini juga meyakinkan bahwa aktivitas sel monosit juga terhambat, sehingga tidak akan menyebabkan kerusakan endotel.

Tabel 3. Jumlah monosit wanita penderita Diabetes melitus tipe-2 selama intervensi

Minggu	A	B	C	D	Nilai Normal (sel/mm ³)
0	612	619	585	636	260-650
4	583	606	555	609	260-650
8	634	573	704	531	260-650

A: susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn; B: susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai (tanpa Zn); C: plasebo; D: glibenklamid

Kirii *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa rendahnya kadar IL-1beta menurunkan bahaya atherosclerosis. Hasil penelitian ini sangat bermanfaat bagi penderita DMT-2, mengingat salah satu akibat perkembangan penyakitnya adalah berisiko tinggi terkena penyakit kardiovaskuler (PKV), yang diawali oleh kerusakan endotel, dan berlanjut pada terjadinya disfungsi endotel serta atherosclerosis (Wellen & Hotamisligil, 2005; Winarsi, 2007). Diduga protein kecambah kedelai melindungi membran sel-β pankreas, sehingga monosit mengalami kesulitan ketika akan infiltrasi ke dalamnya. Secara statistik, penambahan Zn ke dalam produk tersebut tidak memberikan efek nyata terhadap penurunan kadar IL-1beta, namun karena Zn merupakan komponen struktural sel, diduga penambahannya bersinergi dengan protein kecambah kedelai dalam mempertahankan keutuhan sel-β, sehingga tidak mudah ditembus monosit.

Venugopal *et al.*, (2002) menyebutkan bahwa peningkatan stres oksidatif monosit dalam kondisi hiperglikemia diperantarai melalui aktivasi protein kinase-C. Protein kinase adalah protein onkogenik yang mengalami fosforilasi katalitik dari tirosin. Peningkatan tirosin fosforilase pada platelet berhubungan dengan aktivasi platelet yang menstimulir trombin. Protein tirosin inhibitor (diperankan isoflavon dalam protein kecambah kedelai) (Winarsi, 2007) mampu menurunkan tirosin fosforilase yang akan menghambat aktivasi platelet, mengurangi deposit, serta agregasi platelet. Sebagai akibatnya akan menurunkan kecepatan pembentukan atherosclerosis. Nakashima *et al.*, (1991) menuturkan bahwa daidzein (banyak terdapat pada protein kecambah kedelai) tidak memiliki aktivitas inhibisi terhadap protein tirosin kinase, tetapi mampu menekan respons platelet terhadap kolagen dan tromboksan A2, sehingga produk susu berbasis ekstrak protein kecambah kedelai ini mampu mencegah atherosclerosis pada penderita DMT-2. Yang lebih menarik lagi, bahwa potensi ekstrak protein kecambah kedelai plus Zn maupun tanpa Zn dalam menurunkan IL-1beta tidak berbeda dengan glibenklamid (p=0,76), obat yang biasa digunakan oleh penderita DMT-2. Dengan demikian produk ini sangat bermanfaat bagi penderita DMT-2 seperti halnya obat glibenklamid.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa susu yang mengandung ekstrak protein kecambah kedelai dapat menurunkan produksi sitokin inflamasi (IL-1beta) pada penderita DMT-2. Dengan demikian produk susu berbasis ekstrak protein kecambah kedelai dengan ataupun tanpa Zn ini mampu mencegah perkembangan penyakit DMT-2, yaitu dengan menekan terjadinya atherosclerosis dan memperbaiki fungsi imunnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Dirjen Dikti atas pendanaan penelitian ini melalui proyek Hibah Kompetensi Tahun 2009, No. 248/SP2H/PP/DP2M/V/2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnush M, Heitmeier MR, Scarim AL, Marino MH, Manning PT, Corbett JA. 1998. IL-1 produced and released endogenously within human islets inhibits β cell function J. Clin. Invest, 102:516-526
- Chausmer AB. 1998. Zinc, insulin and diabetes. Am Coll Nutr, 17: 109-115.
- Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohnty, Garg R. 2005. Metabolic syndrome : a comprehensive perspective based on interaction between obesity, diabetes and inflammation. Circulation, 111: 1448 – 1454.
- Decker K. 1990. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells) Eur. J. Biochem. 192,245-261.
- del Carmen Crespillo M, Oliveira G, de Adana MS, Rojo-Martinez G, Garcia-Aleman J, Olvera P, Soriquer F, Munoz A. 2003. Metabolic effects of an enteral nutrition formula for diabetes: comparison with standard formulas in patients with type 1 diabetes. Clin Nutr, 22:483-487.
- Devaraj S, Venugopal SK, Singh U, Jialal I. 2006. Hyperglycemia induces monocytic release of interleukin-6 via induction of protein kinase C-alfa and -beta. Diabetes 54: 85-91.
- Dinarello CA. 1996. Biologic basis for interleukin-1 disease. Blood, 87: 2095-2147.
- Donath MY, Gross DJ, Cerasi E, Kaiser N. 1999. Hyperglycemia-induced beta-cell apoptosis in pancreatic islets of Psammomys obesus during development of diabetes. Diabetes, 48:738-744.
- Eizirik DL, Mandrup-Poulsen T. 2001. A choice of death-the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. Diabetologia 44: 2115-2133.
- Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P. 2004. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. Circulation 110: 1564-1571.

- Heitmeier MR, Arnush M, Scarim AL, Corbett JA. 2001. Pancreatic β -cell damage mediated by β -cell production of Interleukin-1. *J Biol Chem*, 276 (14):11151-11158.
- Heitmeier MR, Scarim AL, Corbett JA. 1999. Double-stranded RNA inhibits β -cell function and induces islet damage by stimulating β -cell production of nitric oxide. *J. Biol. Chem.* 274:12531-12536.
- Hermansen K, Sondergaard M, Hoie L, Carstensen M, Brock B. 2001. Beneficial effects of a soy-based dietary supplement on lipid levels and cardiovascular risk markers in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*, 24:228-233.
- Kahn SE. 2003. The relative contributions of insulin resistance and β -cell dysfunction to the pathophysiology of type2 diabetes. *Diabetologia*, 46: 3-19.
- Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, Asano M, Moriwaki H, Seishima M. 2003. Lack of interleukin-1 β decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23: 656-660.
- Kolb H, Mandrup-Poulsen T. 2005. An immune origin of type 2 diabetes? *Diabetologia*, 48:1038-1050.
- Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Volund A, Ehres JA, Seifert B, Mandrup-Poulsen T, Donath MY. 2007. Interleukin-1-Receptor antagonist in Type-2 Diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 356(15): 1517-1526.
- Nakashima S, Koike T, Nozawa Y. 1991. Genistein, a protein tyrosine kinase inhibitor, inhibits thromboxane A₂-mediated human platelet responses. *Mol Pharmacol*, 39:475-480.
- Maedler K, Sergeev P, Ris F, Oberholzer J, Joller-Jemelka HI, Spinas GA, Kaiser N, Halban PA, Donath MY. 2002. Glucose-induced beta cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest* 110: 851-860.
- Maedler K, Stirling J, Sturis J, *et al.* 2004. Glucose-and interleukin-1 β -induced beta-cell apoptosis requires Ca²⁺ influx and extracellular signal-regulated kinase (ERK) $\frac{1}{2}$ activation and is prevented by a sulfonylurea receptor 1/inwardly rectifying K⁺ channel 6.2 (SUR/Kir6.2) selective potassium channel opener in human islets. *Diabetes*, 53:1706-1713.
- Pick A, Clark J, Kubstrup C, Levisetti M, Pugh W, Bonner-weir S, Polonsky KS. 1998. Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes*, 47:358-364.
- Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi N, Wada R, Hanyu C, Yagihashi S. 2002. Reduced β -cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islet of Japanese type-II diabetic patients. *Diabetologia* 45: 85-96.
- Shanmugam N, Reddy MA, Guha M, Natarajan R. 2003. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes* 52: 1256-1264.
- Song T, Lee SO, Murphy PA, Hendrich S. 2003. Soy protein with or without isoflavones, soy germ and soy germ extract, and daidzein lessen plasma cholesterol levels in golden Syrian hamsters. *Exp. Biol. Med*, 228: 1063-1068.
- Venugopal SK, Devaraj S, Yang T, Jialal I. 2002. Alfatocopherol decreases superoxide anion release in human monocytes under hyperglycemic conditions via inhibition of protein kinase C- α . *Diabetes* 51: 3049-3054.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. 2005. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 115:1111-1119.
- Welsh N, Cnop M, Kharroubi I, *et al.* 2005. Is there a role for locally produced interleukin-1 in the deleterious effects of high glucose or the type-2 diabetes milieu to human pancreatic islets? *Diabetes*, 54:3238-3244.
- Winarsi H. 2007. Isoflavon kedelai yang diperkaya dengan Zn sebagai antiaterosklerosis pada wanita premenopause. *J Biota*, 12 (2). 70-77 .
- Winarsi H, Hernayanti, Purwanto A, Sukanto. 2006. Profil dan status antioksidan wanita penderita *Candidiasis* di Purwokerto. *M Med Indones*, 41(3): 108-112.
- Winarsi H, Muchtadi D, Zakaria FR, Purwanto A. 2005a. Kajian tentang wanita perimenopause di Purwokerto dan beberapa permasalahan dalam sistem imunnya. *J Obstetri & Ginekologi Indonesia*, 29(3): 177-183.
- Winarsi H, Muchtadi D, Zakaria FR, Purwanto A. 2005b. Efek suplementasi Zn terhadap status imun wanita premenopause yang diintervensi dengan minuman berisoflavon. *J Hayati*, 12(2): 82-85.
- Winarsi H, Purwanto A. 2009. Minuman fungsional berbasis protein kecambah kedelai untuk memperbaiki profil lipid penderita diabetes mellitus tipe-2 yang berisiko tinggi penyakit jantung koroner. [Paten]. [in press]
- Winarsi H, Purwanto A, Dwiyantri H. 2009. Studi perbandingan kandungan protein dan isoflavon pada kedelai dan kecambah kedelai. *J Biota*. [in press]
- Xenos ES, Stevens RB, Sutherland DE, Lokeh A, Ansit JD, Casanova D, Gores PF, Platt JL. 1994. The role of nitric oxide in IL-1 β -mediated dysfunction of rodent islets of Langerhans. Implications for the function of intrahepatic islet grafts *Transplantation*, 57:1208-1212.