

DINAMIKA SENYAWA DAIDZEIN UMBI BENGKUANG (*Pachyrhizus erosus*) DALAM DARAH SERTA POTENSINYA PADA TIKUS PUTIH BETINA

DAIDZEIN COMPOUND DYNAMIC OF YAM BEAN (*Pachyrhizus erosus*) IN BLOOD AND ITS POTENTIAL TO THE FEMALE WHITE MICE

Cicilia Novi Primiani

Program Studi Pendidikan Biologi
IKIP PGRI Madiun

Email: primianibiomipa@yahoo.co.id

ABSTRAK

Hormon estrogen sering digunakan oleh masyarakat khususnya wanita untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Bengkuang merupakan kelompok tanaman fitoestrogen karena mengandung senyawa isoflavon dengan struktur kimia mirip hormon estrogen. Tujuan penelitian adalah melakukan pengujian terhadap kandungan fitoestrogen umbi bengkuang, dinamikanya dalam serum serta potensinya pada tikus putih betina. Penelitian menggunakan pendekatan eksperimen pola Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan pemberian umbi bengkuang dan senyawa sintetis daidzein pada 24 ekor tikus putih jenis Sprague Dawley umur 5 bulan selama 24 hari. Takaran daidzein yang diberikan berdasarkan kadar daidzein pada 1,5 ml perasan umbi bengkuang. Pengambilan darah dilakukan pada 3 fraksi (jam ke-8, 16, dan 24 setelah perlakuan). Pembedahan dan pengambilan organ uterus dilakukan pada hari ke-25, pembuatan preparat jaringan dengan pewarnaan HE. Pengujian kadar daidzein dianalisis dengan metode HPLC. Perubahan struktur jaringan uterus dianalisis secara deskriptif terhadap lapisan endometrium, miometrium dan mukosa uterus. Hasil penelitian menunjukkan kadar daidzein dalam serum dengan pemberian perasan umbi bengkuang pada fraksi 1, 2, dan 3 lebih rendah daripada pemberian senyawa sintetis daidzein. Jaringan endometrium uterus mengalami proliferasi, serta proliferasi kelenjar uterina pada perlakuan pemberian perasan umbi bengkuang. Kesimpulan menunjukkan umbi bengkuang dapat meningkatkan kadar daidzein yang berpotensi sebagai estrogen alami.

Kata kunci: Umbi Bengkuang; Fitoestrogen; Daidzein; Uterus

ABSTRACT

Estrogen hormone mostly used by people especially woman to prevent and medicinal of the disease. Yam Bean is a group of phytoestrogen plant because it contains isoflavonoid with chemical structure that similar with estrogen hormone. This research aimed for doing examination to the phytoestrogen contains of Yam Bean, its dynamic in the serum and also its potential to the female white mice. This research using pattern experiment approach of Complete Random Design with treatment giving of Yam Bean and daidzein synthesis compound for 24 white mice from the kind of Sprague Dawley in the age of 5 months for 24 days. Daidzein dosage that given based daidzein level in the 1.5 ml of Yam Bean distillate. Blood taking conducted in the 3 fractions (8th, 16th, and 24th hour after treatment). Dissection and uterus organ taking conducted in the 25th day, blood smear making of tissue with HE coloring. Daidzein level test is analyzed with HPLC method. Structure alteration of uterus tissue analyzed descriptively to the endometrial, miometrial and uterus mucosa layer. Research result shows that daidzein level in serum with Yam Bean distillate giving in the fraction 1, 2, and 3 are lower than daidzein synthesis compound giving. Endometrial tissue of uterus having proliferation, and also uterine gland proliferation in the treatment giving of Yam Bean distillate. The conclusion shows that Yam Bean can improve daidzein level that has potential as natural estrogen.

Keywords: Yam Bean, phytoestrogen, daidzein, uterus

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tanaman di Indonesia mempunyai potensi untuk dapat dikembangkan sebagai tanaman berkhasiat obat. Salah satu yang dapat dimanfaatkan adalah tanaman dengan kandungan fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan estrogen alami yang terdapat dalam kelompok tanaman dengan komponen mirip hormon estrogen (Setchell, 1998). Senyawa kimia termasuk kelompok fitoestrogen adalah isoflavon, koumestan, dan lignan. Kelompok isoflavon terbesar adalah daidzein dan genistein (Kim dan Park, 2012). Senyawa kimia kelompok fitoestrogen merupakan komponen kimia alam yang terdapat dalam tanaman dengan struktur kimia mirip 17β estradiol (Whitten dan Naftolin, 1998; Mazur, 1998; Burton dan Wells, 2002; Wanibuchi, 2003). Fitoestrogen

mempunyai afinitas ikatan dengan reseptor estrogen yang terdapat di beberapa organ tubuh, yaitu uterus, ovarium, kelenjar mammae, tulang, hipotalamus, kelenjar pituitaria, sel Leydig, prostat, dan epididimis (Kim dan Park, 2012).

Pachyrhizus erosus sering disebut yam bean, dengan nama Indonesia (bengkuang) atau orang Jawa sering menyebutnya besusu, merupakan spesies tanaman berasal dari Yunani, selanjutnya terdistribusi ke Amerika Tengah dan Mexico (Gruneberg *et al.*, 1999 dan Arellano *et al.*, 2001) yang secara luas dibudidayakan di Mexico, Afrika, Filipina, dan Indonesia (Sorensen 1996 dan Zanklan, 2003). *Pachyrhizus* dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis dan sub tropis, di Indonesia tanaman *Pachyrhizus erosus* banyak ditanam pada ketinggian 500-900 m dpl. *Pachyrhizus erosus* dikenal dari umbi (kormus) memiliki kulit umbinya tipis, berwarna krem atau coklat muda, bagian dalamnya berwarna putih dengan kandungan cairan cukup banyak, umbinya biasa dimanfaatkan dalam kondisi segar, dan di Indonesia sering digunakan sebagai salad, rujak dan asinan, serta tepungnya digunakan sebagai masker wajah dan pemutih kulit.

Penelitian Abid (2005) dan Lukitaningsih (2009) *Pachyrhizus erosus* mengandung senyawa isoflavon, struktur kimia isoflavon menyerupai 17β -estradiol (Gruber *et al.*, 2002; Delmonte dan Rader, 2006; dan Barlow *et al.*, 2007), sehingga *Pachyrhizus erosus* sering disebut sebagai kelompok tanaman fitoestrogen (Urasopon *et al.*, 2008). Komponen terbesar isoflavon adalah senyawa daidzein dan genistein, dapat ditemukan pada famili Fabaceae termasuk *Pachyrhizus erosus* yang terdistribusi dalam tanaman serta produknya (Kang *et al.*, 2006; Cavaliere *et al.*, 2007). Isolasi dan identifikasi struktur kimia yang dilakukan oleh Lukitaningsih (2009) diketahui terdapat 4 senyawa tergolong fitoestrogen dalam umbi bengkuang yaitu daidzein, daidzein-7-O- β -glukopiranosida, 5-hidroksi-daidzein-7-O- β -glucopyranosida, dan (8,9)-furanil-pterocarpan-3-ol.

Fitoestrogen walaupun bukan hormon namun karena strukturnya mirip dengan estradiol dapat pula menduduki reseptor estrogen dan mampu menimbulkan efek layaknya estrogen endogenous sendiri (Harrison *et al.*, 1999; Glazier dan Bowman, 2001). Fitoestrogen sebagai estrogen yang terdapat dalam tumbuhan seperti halnya estrogen endogen memiliki aktivitas *uterotrophic* sehingga dapat menyebabkan peningkatan massa uterus (Ford *et al.*, 2006). Ketergantungan dosis (*dose-dependent*) berhubungan terhadap peningkatan bobot uterus oleh fitoestrogen (Santell *et al.*, 1997). Penelitian yang telah dilakukan Selvaraj *et al.*, (2005) pemberian isoflavon (salah satu kelompok fitoestrogen) menyebabkan epitelisasi vagina dan proliferasi endometrium uterus. Pemberian makanan produk kedelai terfermentasi pada wanita premenopause selama satu kali siklus menstruasi dapat memperpanjang fase folikuler (Cassidy *et al.*, 1995).

Senyawa daidzein dan genistein dalam umbi *Pachyrhizus erosus* sebagai senyawa fitoestrogen memiliki aktivitas seperti hormon estrogen yang mampu berikatan dengan reseptor estrogen sehingga mempunyai potensi estrogenik luas potensi luas dalam kesehatan (Adlercreutz, 1990; Griffiths *et al.*, 1996; Adlercreutz dan Mazur, 1997; Anupongsanugool *et al.*, 2005).

Pemanfaatan umbi bengkuang sebagai fitoestrogen tidak banyak dilakukan, penelitian Nurrochmad *et al.*, (2010) pemberian ekstrak umbi bengkuang dosis 400 mg/kg dan 800 mg/kg selama 4 minggu pada tikus ovariektomi dapat mencegah terjadinya kerapuhan tulang, fitoestrogen mampu meningkatkan massa uterus (Ford *et al.*, 2006). Pemberian parutan umbi bengkuang dosis 0,3 g/kg, 0,6 g/kg, dan 0,9 g/kg pada mencit betina premenopause dapat meningkatkan proliferasi endometrium uterus, kelenjar uterina, dan pematangan folikel dalam ovarium (Primiani, 2013).

Mekanisme farmakologi bahan alam yang sering disebut *traditional medicine* berbeda dengan obat sintesis, karena adanya banyaknya komponen aktif dalam obat herbal yang saling berinteraksi (Spinella, 2002; Foti *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2011). Interaksi yang sangat kompleks pada bahan alam merupakan hal penting yang perlu diketahui aktivitas kombinasi dalam tiap komponennya. Sinergi farmakologi perlu dilakukan suatu pengujian, sehingga terapi menggunakan bahan alam dapat memberikan manfaat secara efektif dan efisien bagi aktivitas biologis (Li *et al.*, 2011).

Aktivitas farmakologi bahan alam ditentukan oleh adanya ikatan senyawa obat dengan reseptornya. Besarnya intensitas farmakologi yang muncul tergantung pada konsentrasi/jumlah obat yang mencapai suatu reseptor dan jenis ikatan obat dengan reseptornya (Evans, 2006). Efek biologis suatu produk obat baik sintesis maupun obat herbal tergantung pada hadirnya senyawa aktif dalam

sirkulasi sistemik yang dapat direfleksikan dengan parameter farmakokinetik, serta obat yang diukur dengan farmakodinamik.

Efek farmakologi atau efek toksik suatu senyawa obat dan bahan alam berkaitan dengan kadar obat pada reseptor, yang biasanya terdapat dalam sel-sel jaringan. Sebagian besar sel-sel jaringan diperfusi oleh plasma, sedangkan obat yang berdisosiasi dengan jaringan adalah obat yang berada di dalam plasma. Pemeriksaan kadar obat di dalam plasma merupakan metode yang sesuai dan lebih sederhana untuk pemantauan pengobatan (Tozer dan Rowland, 2006 dalam Wahyono, 2009).

Penggunaan umbi bengkuang sebagai fitoestrogen perlu pengujian terhadap potensi dan keamanannya, sehingga dapat digunakan sebagai estrogen alami secara efektif dan efisien. Pengujian terhadap fitoestrogen umbi bengkuang bertujuan untuk menganalisis senyawa daidzein sebagai salah satu senyawa mirip estrogen dalam darah serta potensinya pada uterus.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan merupakan pendekatan eksperimen melalui observasi laboratorik dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan pemberian perasan umbi bengkuang dan senyawa sintesis daidzein dengan pengulangan 8 kali.

Peralatan yang digunakan: seperangkat kandang metabolik untuk tikus, seperangkat kandang pemeliharaan tikus dengan *easy flow* tipe Boxunef, Seperangkat alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) sistem LC-6A dengan spesifikasi C18, detektor DAD. *Disposable Bond Elut C₈ cartridges* (100 mg/1 ml), sentrifugation *tubegrading system* 1,5 ml, *parut* kelapa, alat sonde (*gavage tube*), labu takar, beker gelas, pipet ependorf, timbangan digital HM-200, timbangan *triple beam balance ohaus 700 series*, alat suntik/*syringe* 1 ml dengan *disposable needle* ukuran 3 ml (G23), inkubator, mikroskop cahaya, kamera optilab, mikrotom PR-50, peralatan bedah, papan bedah, kaca benda dan kaca penutup, *beaker glas*, lampu spiritus, kubus pencetak, pipet tetes, dan *couple*.

Bahan yang digunakan: tikus putih betina Sprague Dawley umur 5 bulan, umbi bengkuang diperoleh dari Kecamatan Takeran Kabupaten Madiun, daidzein 25 mg, jaringan uterus, serum, pakan mencit jenis *pelled* susu A, sekam, kapas, kertas tissue, aquadestilata, parafin, NaCl fisiologis 0,9%, larutan fiksatif PFA, alkohol 50%, 70%, alkohol absolut, xylol murni, campuran xylol-alkohol dengan perbandingan xylol:alkohol masing-masing 1:3, 2:2, dan 3:1, larutan Li₂CO₃, HCl 1%, PBS, eosin, formalin 3% dan perekat *haupt*.

Hewan coba tikus putih betina Sprague Dawley umur 5 bulan diperoleh dari UPHP Universitas Gadjah Mada kondisi sehat, berjumlah 24 ekor, bobot badan awal perlakuan berkisar 160-200 gram, dipelihara dalam laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.

Aklimatisasi terhadap hewan coba dilakukan selama 14 hari sebelum perlakuan. Hewan coba ditempatkan dalam kandang metabolit selama 24 jam pertama, selanjutnya dipindahkan pada kandang pemeliharaan selama 23 hari. Pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*. Penempatan hewan coba dalam kandang pemeliharaan dengan *easy flow* pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}$ C) dan kelembaban relatif antara 50-60%, siklus pencahayaan 12 jam. Pembuatan bahan uji serbuk daidzein berdasarkan kadar daidzein pada 1,5 ml perasan umbi bengkuang (20,188 mg/100 g) dan bobot hewan coba.

Perlakuan terhadap hewan coba dengan cara induksi langsung ke dalam lambung dengan menggunakan sonde (*gavage tube*) satu kali dalam sehari selama 24 hari. Hewan coba ditempatkan dalam kandang metabolit pada hari pertama perlakuan, pada jam ke-8, 16, dan 24 dilakukan pengambilan darah melalui vena ekor. Hewan coba dipindahkan pada kandang pemeliharaan pada hari ke-2 sampai dengan hari ke-24. Hewan coba didislokasi kemudian dibedah dan dilakukan pengambilan uterus pada hari ke-25.

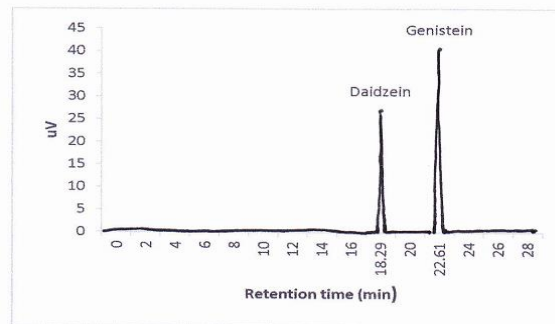
Pembuatan preparat histologis uterus dengan pewarnaan HE yang meliputi tahap fiksasi, tahap dehidrasi, *cleaning*, infiltrasi, *embedding*, pengirisan dan pewarnaan untuk menentukan perubahan struktur jaringan uterus. Penentuan kadar daidzein serum darah menggunakan HPLC

dengan spesifikasi C18, 5µm, 3,90x150 mm, temperatur kolom 25⁰C, flow rate 0,8 ml/menit, volume inject 10 µl, detektor DAD, wavelength 255 nm, running time 40 menit, post running time 15 menit.

Pengujian kadar daidzein serum darah tiap fraksi (jam ke-8, 16, dan 24) setelah perlakuan dianalisis dengan metode HPLC. Perubahan struktur jaringan uterus dianalisis secara diskriptif terhadap lapisan endometrium, miometrium dan mukosa uterus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis kadar daidzein dan genistein dalam umbi bengkuang masing-masing sebesar 108,831 mg/100 g dan 163,079 mg/100 g. Analisis HPLC daidzein dan genistein dalam umbi bengkuang terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Analisis HPLC umbi bengkuang dihasilkan kadar daidzein 108,831 mg/100 g dan genistein 163,079 mg/100. Penggunaan HPLC dengan spesifikasi: berat sampel 37,191 g, running time 18,31 menit (daidzein) dan 22,56 menit (genistein), sample curve area 26,43 (daidzein) dan 39,61 (genistein), standard curve area 163,228, standard concentration 50.000.

Hasil pengujian kadar daidzein dalam serum pada tiap fraksi (jam ke-8, 16, dan 24) terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Daidzein Serum pada Fraksi 1,2 dan 3

Perlakuan	Kadar Daidzein (pg/1000 g) pada Fraksi ke-		
	1	2	3
Kontrol	26626,55	29444,299	32527,374
Daidzein	121327,404	173059,532	215355,581
Air perasan umbi bengkuang	96138,371	130431,443	165991,504

Ket:

1= Fraksi 1 (8 jam setelah perlakuan)

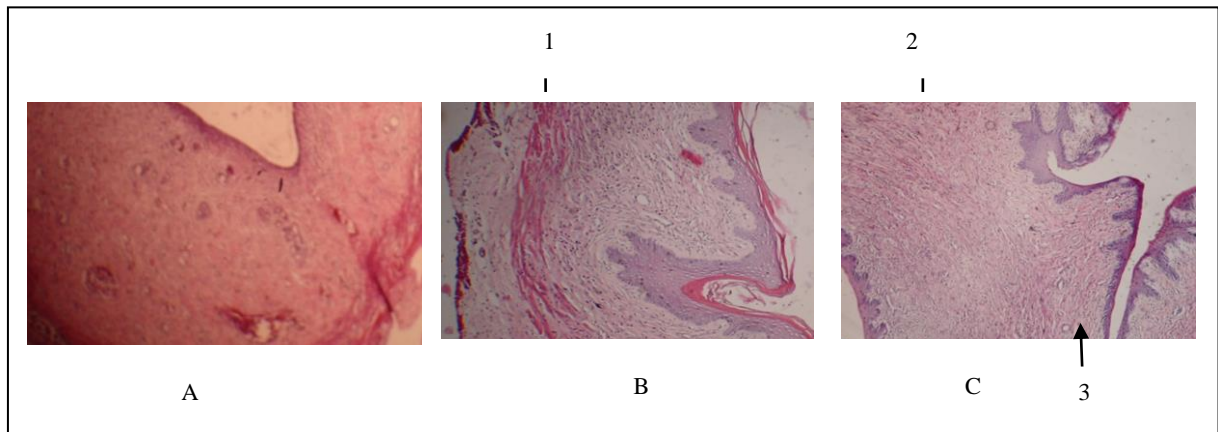
2= Fraksi 2 (16 jam setelah perlakuan)

3= Fraksi 3 (24 jam setelah perlakuan)

Kadar daidzein umbi bengkuang berdasar analisis HPLC menunjukkan terjadi peningkatan kadar daidzein dalam serum darah yang sangat tinggi dibandingkan dengan pemberian air perasan umbi bengkuang (Tabel 1). Penggunaan senyawa sintesis daidzein merupakan teknik pemberian estrogen dengan konsep satu senyawa tunggal. Pemberian air perasan umbi bengkuang merupakan teknik pemberian bahan alam dengan konsep multi komponen, tidak hanya daidzein saja tetapi juga ada beberapa senyawa lain di dalamnya. Hasil penelitian Santos *et al.*, (1996) umbi bengkuang mengandung moisture 6,7%, protein 26,2%, minyak 27,3%, karbohidrat 20%, serat 7% dan abu 3,6%, asam amino dan mineral. Adanya berbagai macam senyawa dalam umbi bengkuang menyebabkan tidak terlalu tinggi kadar daidzeinnya di dalam darah jika dibandingkan dengan

pemberian senyawa tunggal sintetis daidzein. Pemberian bahan alam merupakan suatu perlakuan yang tidak dapat dipisahkan dengan suatu konsep sistem biologi yang perlu dikaji secara holistik sebagai dasar kompleksitas multi komponen biokimiawi (Wang *et al.*, 2005). Formulasi kompleksitas senyawa bahan alam merupakan konsep terintegrasi dalam jaringan biologi, sehingga tidak terjadi prinsip kerja satu senyawa dengan satu target biologi (Li *et al.*, 2012).

Hasil pengamatan terhadap jaringan uterus terhadap jaringan miometrium, endometrium dan mukosa uterus dapat pada Gambar 2.



Gambar 2. Uterus Tikus Putih dengan Pewarnaan HE, Perbesaran 100X

Keterangan: A) Kontrol; B) Pemberian daidzein; C) Pemberian air perasan umbi benguang

- A. Dinding uterus terdiri dari tunika serosa, tunika muskularis, dan tunika mukosa
- B. Proliferasi tunika mukosa (lapisan endometrium uterus), peningkatan vaskulasiasi (1)
- C. Proliferasi tunika mukosa (lapisan endometrium uterus) sangat melebar (2), glandula uterina berkelok-kelok (3)

Perubahan struktur jaringan uterus tikus putih setelah pemberian senyawa daidzein dan air perasan umbi benguang dapat diamati pada Gambar 2. Hasil pengamatan terhadap jaringan uterus dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) perlakuan kontrol (A) menunjukkan dinding uterus dibentuk oleh 3 lapisan yaitu: (1) tunika serosa atau perimetrium bagian terluar berupa jaringan penyambung terdiri atas selapis mesotelium yang ditunjang oleh jaringan ikat tipis, (2) tunika muskularis atau miometrium merupakan lapisan tersusun oleh jaringan otot polos. Miometrium merupakan tunika yang paling tebal, terdiri atas berkas-berkas serabut otot polos yang dipisahkan oleh jaringan penyambung. Endometrium terdiri atas epitel siliata dan non siliata serta lamina propria atau stroma endometrialis yang mengandung kelenjar-kelenjar (glandula uterina) tubuler sederhana kadang-kadang bercabang pada bagian dalamnya (dekat endometrium). Pemberian senyawa daidzein (B) menyebabkan proliferasi lapisan endometrium uterus, glandula uterina sedikit mengalami pemanjangan, lapisan miometrium tampak terjadi proliferasi, adanya vaskularisasi, penebalan epitelium lumen uterus. Pemberian air perasan umbi benguang (C) menyebabkan proliferasi endometrium dan miometrium uterus, lumen uterus menyempit karena proses epitelisasi, hiperplasia dan hipertropi lapisan miometrium. Proliferasi kelenjar uterina uterus mulai ada menyebabkan terjadinya proliferasi lapisan endometrium dan miometrium uterus secara jelas, serta bertambah banyaknya kelenjar uterina.

Pemberian daidzein sebagai senyawa fitoestrogen dapat meningkatkan sekresi hormon estrogen, selanjutnya dapat menyebabkan peningkatan proliferasi endometrium dan penggantian sel-sel epitel untuk menutupi permukaan mukosa. Fitoestrogen memiliki struktur mirip dengan estradiol dapat menduduki reseptor estrogen dan mampu menimbulkan efek seperti estrogen endogenous sendiri (Harrison *et al.*, 1999). Miometrium dapat berkembang karena pengaruh fitoestrogen umbi benguang.

Daidzein dalam umbi bengkuang mempunyai efek pada epitel uterus sehingga terjadi proliferasi dan kornifikasi sel epitel serta dapat mengoptimalkan sekresi kadar estrogen. Daidzein sebagai salah satu senyawa isoflavon mempunyai efek untuk meningkatkan berat uterus dengan menstimulasi penebalan endometrium uterus (Santell *et al.*, 1997). Sesuai dengan pendapat Guyton (2007) estrogen menyebabkan proliferasi nyata pada uterus. Fitoestrogen dalam dosis tertentu menyebabkan peningkatan berat basah uterus (Owens *et al.*, 2003).

Sekresi estrogen dimulai dengan adanya *gonadotrophin relasing hormone* (GnRH) yang disekresikan dari hipotalamus, sehingga mampu merangsang pelepasan *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) dari pituitari anterior. FSH merangsang perkembangan folikel sehingga terbentuk folikel *de Graff* yang dapat mensekresikan estrogen. Adanya paparan air perasan umbi bengkuang sebagai fitoestrogen dari luar pada tikus fase reproduktif menyebabkan produksi estrogen endogenous relatif konstan. Fitoestrogen merupakan suatu senyawa estrogen alam yang mampu berikatan dengan reseptor estrogen α dan β (Adlercreutz dan Mazur, 1998; George *et al.*, 1998; Morito *et al.*, 2002), secara umum fitoestrogen bekerja sebagai *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERMs).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa: (1) air perasan umbi bengkuang mengandung daidzein sebagai salah satu senyawa dengan struktur kimia mirip hormon estrogen, (2) Pemberian air perasan umbi bengkuang dapat meningkatkan kadar daidzein dalam serum darah meskipun dalam waktu lama, kadarnya pada tiap fraksi waktu dengan rerata sama, (3) Terjadi proliferasi sel-sel pada lapisan endometrium uterus setelah pemberian air perasan umbi bengkuang.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan dan ditindaklanjuti, diantaranya adalah: (1) Diperlukan pengujian farmakokinetik terhadap daidzein dalam air perasan umbi bengkuang, (2) Pengujian terhadap toksisitas sangat diperlukan sehingga umbi bengkuang dapat digunakan sebagai estrogen alami yang aman, efektif dan efisien, (3) Pengkajian bahan alam secara holistik merupakan pendekatan yang diperlukan sebagai salah satu bentuk apresiasi tanaman obat tradisional di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abid, M. 2005. *Pharmacological Evaluation of Pachyrhizus erosus (L) Seeds for CNS Activity*. Disertasi, Bangalore: Rajiv Gandhi University of Health Science.
- Adlercreutz, H. 1990. Western Diet and Western Diseases: Some Hormonal Biochemical Mechanism and Associations. *Scandinavian J. Clin. Lab. Invest.* 50s 201:3-23.
- Adlercreutz, H., dan Mazur, W. 1997. Phyto-oestrogens and Western Diseases. *J.Analys of Med.* 29:95-120.
- Anupongsanugool, E., Teekachunhatean, S., Rojanasthien, N., Pongsatha, S., dan Sangdee, C. 2005. Pharmacokinetics of Isoflavons, Daidzein and Genistein, After Ingestion of Soy Beverage Compared with Soy Extract Capsules in Postmenopausal Thai Women. *BMC Clin Pharm.* 5(2):2-10.
- Arellano, G.Y. M., Chagolla-Lopez, A., Paredes-Lopez, O., dan Barba de la Rosa, A. 2001. Characterization of Yam Bean (*Pachyrhizus erosus*) Proteins. *J. Agric. Food. Chem.* 49:1512-1516.
- Barlow, J., Johnson, J.A., dan Scofield, L. 2007. *Fact Sheet on The Phytoestrogen Genistein*. NIEHS/NCI Environment Research Centers, (Online), (<http://cerhr.niehs.nih.gov/chemicals/genistein>), diakses 8 Agustus 2010.
- Burton, J.L dan Wells, M. 2012. The Effect of Phytoestrogens on the Female Tract. *J. Clin. Pathol.* 55:401-407.
- Cassidy, A., Bingham, S., dan Setchell, K. 1995. Biological Effects of Isoflavones in Young Women: Importance of the chemical composition of soybean products. *Br. J. Nutr.* 1995;74:587– 601.

- Cavaliere, C., Cucci, F., Foglia, P., Guarino, C., Samperi, R., dan Lagana, A. 2007. Flavonoid Profile in Soybeans by High Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, 21:2177-2187.
- Delmonte, P., & Rader, J. 2006. Analysis of Isoflavones in Foods and Dietary Supplements. *Journal of AOAC International*, 89(4):1138-1146.
- Evans, W.E., dan McLeod, H.L. 2003. Pharmacogenomics Drug Disposition, Drug Targets and Side Effects. 2003. *J. N. Engl. Med.* 348:6(538-549).
- Foti, R., Wahlstrom, J.L., dan Wienkers, L.C. 2006. The in Vitro Drug Interaction Potential of Dietary Supplements Containing Multiple Herbal Components. *Drug Metabolism and Disposition*. 35(2):185-188.
- Ford, J.A., Clark, S.G., Walters, E.M., Wheeler, M.B., dan Hurley, W.L. 2006. Estrogenic Effects of Genistein on Reproductive Tissues of Ovariectomized gilts. *Anim Sci*. 84:834-842.
- George, G.J.M. Kuiper, Lemmen, J.G., Carlsson, B.O., Corton, J.C., Safe, S.H., Saag, P., Burg, B., dan Gustafsson, J.K. 1998. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β . *Endocrinology*. 139(10):4252-4263.
- Glazier, M.G., dan Bowman, M.A. 2001. A Review of the Evidence for the Use of Phytoestrogens as a Replacement for Traditional Estrogen Replacement Therapy. *Arch Intern Med*. 161:1161-1172.
- Gruber, C.J., Tschugguel, W., Schneeberger, C., Huber, J.C. 2002. Production and Actions of Estrogens. *The New England Journal of Medicine*, 346(5):340-352.
- Gruneberg, W.J., Goffman, F.D., dan Velasco, L. 1999. Characterization of Yam Bean (*Pachyrhizus spp.*) Seeds as Potential Sources of High Palmitic Acid Oil. *JAOCs*. 76(11):1309-1311.
- Harrison R.M, Phillippi P.P, Swan K.F, dan Henson M.C. 1999. Effect of genistein on steroid hormone production in the pregnant rhesus monkey. *Society for Experimental Biology and Medicine*, vol. 222.
- Kang, J., Hick, L.A., dan Price, W.E. 2007. A Fragmentation Study of Isoflavones in Negative Electrospray Ionization by MSⁿ Ion Trap Mass Spectrometry and Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrum*. 21:857-868.
- Kim, S.H dan Park, M.J. 2012. Effects of Phytoestrogen on Sexual Development. *Korean J. Pediatr.* 55(8):265-271.
- Li, M., Hou, X.F., Zhang, J., Wang, S.C., Fu, Q., dan He, L.C. 2011. Applications of HPLC/MS in the Analysis of Traditional Chinese Medicines. *J.Pharm Anal.* 1(2):81-91.
- Li, J., Lu, C., Jiang, M., Niu, X., Guo, H., Li, L., Bian, Z., Lin, N., dan Lu, A. 2012. Traditional Chinese Medicine Based Network Pharmacology Could Lead to New Multicompound Drug Discovery. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 149768:1-11.
- Lukitaningsih, E. 2009. *The Exploration of Whitening and Sun Screening Compounds in Benguang Roots (Pachyrhizus erosus)*. Disertasi, Wurzburg: Bayerischen Julius Maximillians University.
- Mazur, W. 1998. Overview of Naturally Occuring Endocrine Active Substance in Human Diet. Dalam: Human Diet and Endocrine Modulation: *Estrogenic and Androgenic Effects*: ILSI Press, Washington DC. Pp.135-145
- Morito, K., Aomori, T., Hirose, T., Kinjo, J., Hasegawa, J., Ogawa, S., Inoue, S., Muramatsu, M., dan Masamune, Y. 2002. Interaction of Phytoestrogens with Estrogen Receptors α dan β (II). *Biol. Pharm. Bull.* 25(1):48-52.
- Nurrochmad, A., Leviana, F., Wulancarsari, C.G., dan Lukitaningsih. 2010. Phytoestrogens of *Pachyrhizus erosus* Prevent Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *J Phytomed.* 2:363-372.
- Owens, William, Ashby, J., Odum, J., dan Onyon, L. 2003. The OECD Program to Validate the Rat Uterotrophic Bioassay. Phase 2: Dietary Phytoestrogen Analyses. *Environmental Health Perspectives*. 111(12):1559-1567.
- Primiani, C.N. 2013. *Potensi Umbi Bengkuang (Pachyrhizus erosus) terhadap Histologi Ovarium dan Uterus Mencit (Mus musculus) Premenopause*. Prosiding Seminar Nasional IPA IV 27 April 2013. ISBN 978 602 99075 37 di Universitas Negeri Semarang 2013.

- Santell R.C, Chang Y.C, Muralee GN dan William GH. 1997. Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats. *Nutr.* 127: 263–269.
- Santos, A.C.O. Cavalcanti, M.S.M., dan Coelho, L.C.B.B. 1996. Chemical Composition and Nutritional Potential of Yam Bean Seeds (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). *Plant Food for Human Nutrition.* 45:35-41.
- Selvaraj, V., Melissa, A., Zakroczymski, Nauz, A., Mukai, M., Ju, Y.H., Daniel, R., Doerge, Katzenellenbogen, Helferich, W.G., dan Cooke, P.S. 2004. Estrogenicity of the Isoflavone Metabolite Equol on Reproductive and Non Reproductive Organs in Mice. *Biol. Reprod.* 71:966-972.
- Setchell K.D. 1998. Phytoestrogens the Biochemistry, Physiology, and Implications for Human Health of Soy Isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(6 Suppl):1333S-1346S.
- Sorensen, M. 1996. Yam Bean *Pachyrhizus* DC. *Promoting the Conservation and Use of Under Utilised and Neglected Crops. 2.IPGRI. Rome.*
- Spinella, M. 2002. The Importance of Pharmacological Synergy in Psychoactive Herbal Medicines. *Herbal Synergy.* 7(2):130-137.
- Urasopon, N., Hamada, Y., Asaoka, K., Pongmali, U., dan Malavijitnond, S. 2008. Isoflavone Content of Rodent Diets and Its Estrogenic Effect on Vaginal Cornification in *Pueraria mirifica* Treated Rats, *Science Asia*, 34:371-376.
- Wahyono, D. 2009. Peran Farmakokinetika Klinik pada Terapi Kuantitatif Obat Herbal (*Herbal Medicine*), Disampaikan pada Pidato Pengukuhan Guru Besar pada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, 14 April 2009.
- Wanibuchi, H., Kang, J.S., dan Fukushima, S. 2003. Toxicity vs Beneficial Effects of Phytoestrogens. *Pure Appl Chem.* 75(11-12):2047-2053.
- Wang, M., Lamers, R. A. N., Korthout, H. A. A. J., Van Nesselrooij, Witkamp, R. F., Van der Heijden, Voshol, P. J., Havekes, L. M., Verpoorte, R., dan Van der Greef. 2005. Metabolomics in the Context of Systems Biology: Bridging Traditional Chinese Medicine and Molecular Pharmacology. *Phytother. Res.* 19:173-182.
- Zanklan, A.S. 2003. *Agronomic Performance and Genetic Diversity of the Root Crop Yam Bean (Pachyrhizus spp.) under West Africa Conditions.* Disertasi, Gottingen Jerman: Georg August University.

DISKUSI

Penanya 1: Enggar Lestari

Pertanyaan :

Apakah alasan pengambilan waktu (fraksi 1, 2, 3) saat pengambilan serum darah untuk tiap 8, 16, dan 24 jam? Apakah ada hubungannya dengan histologi uterus?

Jawab:

Berdasarkan penelitian Ludth (2003), untuk peredaran isoflavon dalam darah memakan waktu 24 jam, meskipun ada hasil yang berbeda pada penelitian saya. Sample pada vena ekor menunjukkan waktu yang berbeda (4, 8, 16 jam), hal itu dijadikan dasar mengalirkan darah tiap 8 jam sekali, setelah itu pada jam ke-24 tereliminasi.

Penanya 2: Aisyah Hadi Ramadani

Pertanyaan :

Mengapa dipilih senyawa daidzein? Bagaimana dengan isoflavonoid?

Jawab:

Karena senyawa daidzein belum banyak diteliti, terutama pengaruhnya terhadap organ reproduksi. Ada kandungan tinggi isoflavonoid, namun reaksinya lambat, sehingga ikatan reseptor memakan waktu lama. Hal ini menyebabkan endometrium uterus tidak ber-proliferasi banyak. Namun pada senyawa bengkuang terdapat lebih banyak isoflavonoid.

Penanya 3: Luisa

Pertanyaan :

Mengapa pemberian daidzein menyebabkan proliferasi endometrium uterus lebih tipis dibandingkan dengan pemberian umbi bengkuang?

Jawab:

Karena umbi bengkuang bertahan lebih lama dalam darah, dan lebih banyak senyawa fitoestrogennya dibandingkan dengan senyawa Daidzein.