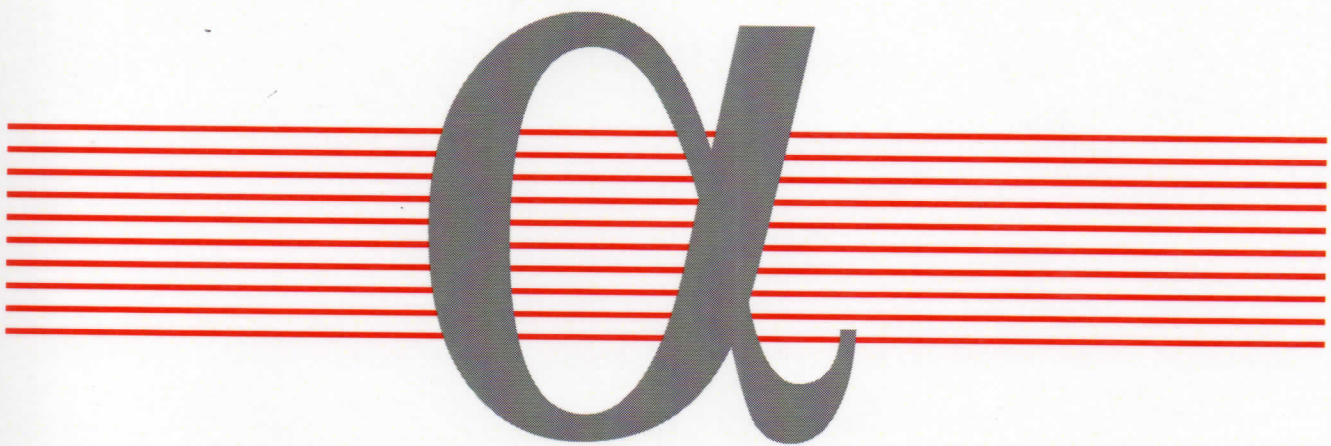


Vol. 1, No. 2, April 2013

ISSN 2302-7290

Sains & Matematika



Diterbitkan oleh:
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

Sains & Matematika

Sains & Matematika terbit enam bulan sekali, yaitu bulan Oktober dan April. Jurnal ini menerbitkan artikel asli hasil penelitian, ulasan, *short communication*, dan tinjauan buku di bidang biologi, fisika, kimia, dan matematika. Redaksi hanya menerima naskah asli yang belum pernah dipublikasikan dan tidak sedang dalam proses penerbitan di jurnal lain.

Ketua Penyunting
Reni Ambarwati

Penyunting Pelaksana
Lydia Rohmawati

Penyunting Bidang
Nugraini Primary Putri
Dina Kartika Maharani
Yuliani Puji Astuti
Sunu Kuntjoro

Tata Usaha
Tara Satyawati

Kami mengucapkan terima kasih kepada para Mitra Bebestari yang telah menelaah naskah Sains & Matematika Volume 1: Prof. Dr. Nyoman Puniawati (Universitas Gajah Mada), Dr. Yuni Sri Rahayu (Universitas Negeri Surabaya), Dr. Nuniek Herdyastuti (Universitas Negeri Surabaya), Ahmad Thantowi, S.Si., M.Si (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia), Dr. Titik Taufikurohmah (Universitas Negeri Surabaya), Dr. Ni'matuzahroh (Universitas Airlangga), Dr. Madlazim (Universitas Negeri Surabaya)

Penerbit:
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Ketintang Universitas Negeri Surabaya
Surabaya 60231
e-mail: j_sains_mat@yahoo.com

Sains & Matematika

DAFTAR ISI

	Halaman
Bioremediasi Limbah Minyak Bumi dengan Teknik Biopile di Lapangan Klamono Papua Munawar, Zaidan	41-46
Potensi Tepung Tempe sebagai Estrogen Alami terhadap Uterus Mencit Premenopause Cicilia Novi Primiani	47-51
Potensi Daun Kayu Bawang (<i>Protium javanicum</i>) sebagai Penghambat Kerja Enzim Tirosinase Irmanida Batubara, Morina Adfa	52-56
Perbedaan Karakter Tiga Jenis Bentonit Ditinjau dari Tiga Macam Cara Analisis Toeti Koestiari	57-63
Perambatan <i>Gravity current</i> dalam Skala Laboratorium sebagai Pemodelan Lahar Dingin dan Intrusi Air Laut Wawan Eko Budianto, Imam Sucahyo, Tjipto Prastowo, Endah Rahmawati	64-68
Pengolahan dan Penjernihan Air dengan Memanfaatkan Media Cangkang Kerang Bulu Yulianto Laksono Putra, Abdul Aziz Abdullah, Wawan Hermawan	69-75
Perbandingan Model Linier Versus Analisis Vektor pada Gerak Grup Sunspot di Lintang Selatan dari Siklus Matahari Ke-23 Nanang Widodo	76-81

Potensi Tepung Tempe sebagai Estrogen Alami terhadap Uterus Mencit Premenopause

The Powder of Tempe as Natural Estrogen on Mice's Premenopause

Cicilia Novi Primiani*

Pendidikan Biologi FP MIPA IKIP PGRI Madiun
Jl. Setiabudi 85 Madiun

ABSTRAK

Preparat hormon estrogen sintetis sering digunakan oleh wanita menjelang menopause dan menopause untuk mengatasi permasalahan menopause. Wanita menggunakan preparat hormon sintetis dengan alasan mudah diperoleh, murah, dan aplikasi mudah. Preparat hormon sintetis estrogen dapat menimbulkan efek samping. Tepung tempe merupakan bahan alam mengandung isoflavon, suatu senyawa dengan struktur kimia mirip hormon estrogen. Tujuan penelitian adalah menguji tepung tempe terhadap endometrium uterus mencit. Penelitian menggunakan pendekatan eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas satu faktor, yaitu dosis tepung tempe 0,2 g/kg; 0,4 g/kg; dan 0,6 g/kg. Hewan coba terdiri atas 24 ekor mencit betina umur 12 bulan, terbagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan 6 ulangan. Pemberian tepung tempe dilakukan selama 24 hari. Pembedahan dan pengambilan organ pada hari ke-25. Pembuatan preparat histologi uterus pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Analisis data secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi proliferasi lapisan endometrium, miometrium uterus dan proliferasi kelenjar uterina. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa tepung tempe dapat digunakan sebagai estrogen alami.

Kata kunci: tepung tempe; isoflavon; fitoestrogen; uterus; menopause

ABSTRACT

Synthetic estrogen hormone is commonly used by women by and in their menopause cycle to overcome the problems related to menopause. Women make use of this synthetic estrogen hormone for a reason that it is easy to get, cheap and its easy application. This synthetic estrogen hormone can eventually result in side-effects. Powder of tempe has become the natural stuff with isoflavon, a chemical blend which is sturcturally fit to estrogen hormone. The objective of this research was to measure the effect of tempe starch towards the endometrium uterus of mice. The research applied experimental approach with completely randomized design with one factor of the dossage of tempe starch by 0.2 g/kg, 0.4 g/kg, and 0.6g/kg. The samples were 24 female mice of 12 months, which were divided into 4 groups of treatment with 6 times of application. The tempe powder was applied for 24 days. Surgery was was done on the 25th day. Histology of uterus was made under colouring technique of Hematoxilin Eosin (HE). The results showed that there were miometrium uterus and uterine gland prolifiration. Based on the result, can be concluded that tempe powder can be used as natural estrogen.

Key words: powder of tempe; isoflavon; fitoestrogen; uterus; menopause

* Alamat Korespondensi:
e-mail: primianibiomipa@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Penggunaan preparat hormon sebagai terapi sulih hormon (*Hormone Replacement Therapy*) pada wanita menopause merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan (Manson & Martin, 2001). Berkurangnya kadar estrogen yang disekresikan dari ovarium berlangsung lambat dan bergradasi terjadi terus-menerus sampai beberapa tahun setelah terhentinya masa kesuburan. Santen *et al.*, (2010) menjelaskan penggunaan *Menopausal Hormone Therapy* (MHT) dapat mengurangi gejala-gejala menopause. Senyawa kimia sintetik menjadi pilihan wanita premenopause dalam menunda masa menopause serta mengurangi gejala menopause.

Preparat hormon estrogen sintesis sebagai terapi sulih hormon dapat memberikan efek samping antara lain timbulnya pendarahan endometrium uterus, mengganggu proses pembekuan darah, mengganggu kerja enzim dalam hati, mual, dan muntah (Baziad, 1999). Gang *et al.*, (1999) menjelaskan bahwa penggunaan preparat estrogen sintesis secara terus-menerus dapat menyebabkan terjadinya karsinoma ovarium. Selain itu, penggunaan preparat estrogen dan progesteron sebagai terapi sulih hormon dapat berisiko kanker payudara (Ross *et al.*, 2000).

Produk-produk estrogenik dapat digunakan sebagai pengganti hormon estrogen (Stanczyk, 2005). Penggunaan bahan alam sebagai terapi sulih hormon pada wanita menopause merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan dalam mengatasi efek samping yang ditimbulkan. Komponen senyawa yang terdapat dalam obat herbal sangat kompleks dan sering berinteraksi untuk memberikan efek fisiologis (Fugh-Bermann & Ernst, 2001; Ioannides, 2002; dan Zhou *et al.*, 2003). Multikomponen yang terdapat pada obat herbal merupakan kompleksitas senyawa yang dapat memberikan efek optimal (Lan & Jia, 2010).

Isoflavon merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder pada tanaman Leguminosae seperti kedelai. Senyawa-senyawa kimia yang termasuk kelompok isoflavon adalah genistein, daidzein, glycitein, dan coumestrol (Urasopon *et al.*, 2008). Isoflavon merupakan senyawa fitoestrogen karena memiliki struktur kimia menyerupai hormon estrogen, yaitu 17β -estradiol. Senyawa isoflavon mampu berikatan dengan reseptor estrogen sehingga memberikan aktivitas fisiologis sebagai hormon estrogen (Leffers *et al.*, 2001; Gruber *et al.*, 2002; Delmonte & Rader, 2006; dan Barlow *et al.*, 2007). Fitoestrogen sebagai estrogen alami nonsteroid mempunyai afinitas terhadap reseptor α dan reseptor β (Kurzer & Xu, 1997 dan An *et al.*, 2001).

Isoflavon kedelai memiliki dua efek penting, yaitu saat kadar estrogen tinggi, menghentikan bentuk estrogen yang lebih poten diproduksi oleh tubuh (dengan memblokir reseptor estrogen) dan pada saat kadar estrogen rendah fitoestrogen dapat menggantikan estrogen tubuh itu sendiri sehingga bisa mengurangi *hot flushes* dan melindungi tulang (Eden, 1998). Penelitian yang telah dilakukan (Selvaraj *et al.*, 2004) pemberian isoflavon 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).

Penggunaan fitoestrogen terus meningkat beberapa waktu terakhir sebagai pencegahan maupun pengobatan penyakit (Griffiths *et al.*, 1996; Mazur & Adlercreutz, 2000) khususnya sebagai terapi hormon yang disebut sebagai *Hormone Replacement Therapy* (HRT).

Fitoestrogen dapat diabsorpsi ke dalam tubuh dan mengalami berbagai perubahan yang dapat dipecah atau diekskresikan menjadi komponen-komponen yang diduga masih mempunyai kasiat mirip hormon estrogen. Absorpsi dan biotransformasi fitoestrogen merupakan proses fisiologis kompleks. Banyaknya komponen senyawa kimia kelompok fitoestrogen sangat penting diketahui sebagai penilaian bioavailabilitas sehingga dapat bekerja secara efektif pada organ target (Rowland *et al.*, 2003).

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk menguji efek pemberian tepung tempe terhadap endometrium uterus mencit.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan menggunakan pendekatan eksperimen dengan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan pemberian tepung tempe dosis 0 mg/g; 0,2 g/kg; 0,4 g/kg dan 0,6 g/kg. Pengamatan terhadap perubahan struktur jaringan uterus meliputi tunika serosa (perimetrium), tunika muskularis (miometrium) sebagai lapisan otot, dan endometrium terdiri atas lapisan epitelium berbatasan lumen, lapisan glanduler, dan jaringan pengikat.

Peralatan yang digunakan: alat sonde (*gavage tube*), kandang mencit terbuat dari plastik ukuran 50 x 30 x 20 cm, botol minum untuk mencit, alat suntik/*syringe* 1 ml dengan *disposable needle* ukuran 3 ml (G23), inkubator, mikroskop cahaya (Olympus CH21), kamera optilab mikroskop digital, timbangan *triple beam balance ohaus 700 series*, neraca analitik tipe HM-200 kapasitas 210 g tingkat ketelitian 0,1 mg, mikrotom PR-50, peralatan bedah, kaca benda dan kaca penutup, peralatan gelas, lampu spiritus, blender, pengayak 60 *mesh*, dan pipet tetes.

Bahan yang digunakan: tempe kedelai diperoleh dari Karangjati Kabupaten Ngawi, jaringan uterus, pakan mencit jenis *pelled* susu A, sekam, kapas, kertas tissue, aquadestilata, air PDAM; parafin, NaCl fisiologis 0,9%, larutan fiksatif Bouin, alkohol 50%, 70%, 90% dan alkohol absolut, xylol murni, campuran xylol-alkohol dengan perbandingan xylol:alkohol masing-masing 1:3, 2:2, dan 3:1, larutan Li_2CO_3 , HCl 1%, formalin 3% dan perekat *haupt*.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c betina, dalam kondisi sehat, berumur 12 bulan, berjumlah 24 ekor terbagi dalam 4 kelompok perlakuan masing-masing terdiri atas 6 ekor untuk pengulangan. Semua mencit mempunyai bobot

badan awal perlakuan berkisar 20–25 gram, dipelihara dalam kandang mencit di Program Studi Pendidikan Biologi IKIP PGRI Madiun.

Mencit ditempatkan dalam kandang mencit, diberi makan dan minum secara *ad libitum* dan diaklimatisasi selama 14 hari sebelum perlakuan induksi. Mencit dipelihara pada suhu ruang ($\pm 27^\circ\text{C}$), kelembapan relatif antara 50–60% dan siklus pencahayaan 12 jam. Setiap hari mencit ditimbang, sebagai dasar untuk menentukan pemberian tepung tempe.

Pembuatan bahan uji tepung tempe dilakukan dengan mengiris tempe dengan ukuran $1 \times 2 \times 0,5\text{ cm}^3$ penggilingan dengan blender, pengeringan dengan oven pada suhu 45°C dan kadar air 10%, pengayakan dengan 60 mesh. Hasil ayakan ditimbang sesuai dengan jumlah yang diberikan pada mencit.

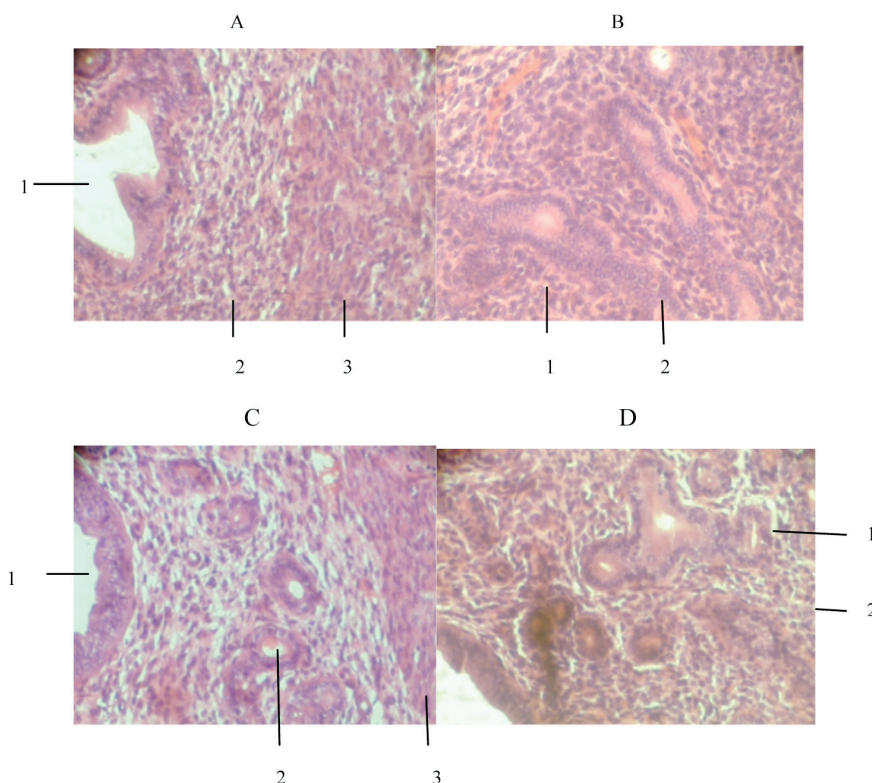
Pemberian tepung tempe dilakukan dengan cara induksi langsung ke dalam lambung dengan menggunakan alat sonde (*gavage tube*) sebanyak satu kali dalam sehari selama 24 hari. Mencit didislokasi pada hari

ke-25, kemudian dibedah dan dilakukan pengambilan organ uterus. Pembuatan preparat histologis uterus dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).

Data perubahan struktur jaringan uterus dianalisis secara deskriptif berdasarkan perubahan yang terjadi pada perimetrium, miometrium, dan endometrium.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan uterus dilakukan setelah akhir masa siklus, yaitu pada tahap estrogen dini yang ditandai dengan akhir masa menstruasi. Hasil pengamatan terhadap histologi uterus dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) perlakuan kontrol (P1) menunjukkan bahwa dinding uterus relatif tebal dan 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 tertebal tersusun



Gambar 1. Uterus Mencit (*Mus musculus*) dengan Pewarnaan HE, Perbesaran $400\times$ (Sumber : Primiani, 2012)

Keterangan: A) Kontrol (P1); B) Dosis 0,2 g/kg (P2); C) Dosis 0,4 g/kg; (P3); D) Dosis 0,6 g/kg (P4).

A. Dinding uterus dibentuk oleh 3 lapisan, yaitu bagian terluar berupa tunika serosa, tunika muskularis berupa jaringan otot polos, dan tunika mukosa merupakan endometrium uterus, tidak terdapat glandula uterina

Keterangan: 1. lumen; 2. endometrium; 3. miometrium

B. Proliferasi lapisan endometrium dan miometrium.

Keterangan: 1. endometrium; 2. glandula uterina

C. Lapisan endometrium dengan proliferasi glandula uterina.

Keterangan: 1. lumen; 2. endometrium dengan glandula uterina; 3. miometrium

D. Proliferasi lapisan endometrium dan miometrium dengan proliferasi glandula uterina.

Keterangan: 1. glandula uterina; 2. endometrium

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 nonsiliata serta lamina propria atau stroma endometrialis yang mengandung glandula uterina tubuler sederhana kadang-kadang bercabang pada bagian dalamnya (dekat endometrium). Perlakuan kontrol menunjukkan lapisan endometrium uterus tidak terjadi proliferasi. (Gambar 1A).

Pemberian tepung tempe dosis 0,2 g/kg (P2) menyebabkan proliferasi endometrium dan miometrium uterus, lumen uterus menyempit karena proses epitelisasi. Proliferasi glandula uterina mulai ada meskipun sebenarnya masa premenopause proliferasi semakin berkurang (Gambar 1B). Pemberian fitoestrogen pada masa premenopause dapat meningkatkan sekresi hormon estrogen, selanjutnya dapat menyebabkan peningkatan proliferasi endometrium dan penggantian sel-sel epitel untuk menutupi permukaan mukosa.

Tepung tempe yang diberikan pada mencit dosis 0,4 g/kg (P3) dan dosis 0,6 g/kg (P4) menyebabkan terjadinya proliferasi lapisan endometrium dan miometrium uterus secara jelas, serta bertambah banyaknya glandula uterina (Gambar 1C dan 1D). Miometrium dapat berkembang karena pengaruh fitoestrogen tepung tempe.

Penurunan kadar estrogen masa menopause mengakibatkan banyaknya kelebihan reseptor estrogen yang tidak terikat. Kemampuan isoflavon berikatan dengan reseptor estrogen yang disebut *sex hormone binding globulin* (SHBG) berperan untuk meningkatkan produksi hormon steroid dan bertanggung jawab dalam pengikatan estrogen serta mengedarkannya melalui pembuluh darah (Setchell *et al.*, 1998). Genistein sebagai salah satu senyawa isoflavon mempunyai efek untuk meningkatkan berat uterus dengan menstimulasi penebalan endometrium uterus (Santell *et al.*, 1997). Isoflavon dalam tepung tempe mempunyai efek pada epitel uterus sehingga terjadi proliferasi dan kornifikasi sel epitel serta dapat mengoptimalkan sekresi kadar estrogen.

Penurunan kadar estrogen endogen pada masa premenopause dapat menyebabkan fase estrus tidak terjadi sehingga pemberian tepung tempe pada mencit premenopause dapat memunculkan fase estrus. Fungsi estrogen dalam hubungannya dengan reproduksi adalah menyebabkan terjadinya proliferasi dan pertumbuhan jaringan pada organ reproduksi (Guyton & Hall, 2006).

Fitoestrogen kedelai seperti halnya estrogen endogen memiliki aktivitas *uterotrophic* yang menyebabkan peningkatan massa uterus (Ford *et al.*, 2006). Ketergantungan dosis (*dose-dependent*) berhubungan terhadap peningkatan bobot uterus oleh fitoestrogen (Santelle *et al.*, 1997). Fitoestrogen walaupun bukan hormon namun karena strukturnya yang mirip dengan estradiol dapat pula menduduki reseptor estrogen dan mampu menimbulkan efek layaknya estrogen endogenous sendiri (Harrison *et al.*, 1999).

Beberapa organ yang dipengaruhi fitoestrogen antara lain adalah ovarium, uterus, testis, prostat (Tsourounis, 2004). Afinitas terhadap reseptor estrogen tidak setinggi estradiol namun fitoestrogen mampu menimbulkan efek estrogenik (Sheehan, 2005). Aktivitas dan implikasi klinis fitoestrogen sangat tergantung pada jumlah reseptor estrogen, letak reseptor estrogen, dan konsentrasi estrogen endogen yang mampu bersaing (Kim *et al.*, 1998).

SIMPULAN

Tepung tempe dapat digunakan sebagai hormon estrogen alami yang dapat meningkatkan proliferasi endometrium uterus dan glandula uterina pada masa premenopause. Menindaklanjuti kebutuhan terkait terapi estrogen bagi wanita premenopause dan menopause, maka diperlukan pengkajian tingkat molekuler secara *in vitro* dan *in vivo* serta pengujian toksisitas mulai dari hewan coba sampai manusia sehingga dapat digunakan secara efektif dan efisien.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPPM IKIP PGRI Madiun yang telah memberikan dana dalam pelaksanaan penelitian, Deva dan Wafa yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- An J, Foster TC, Scharschmidt TC, Lomri N, dan Leitman DC, 2001. Estrogen Receptor Beta Selective Transcriptional Activity and Recruitment of Regulators by Phytoestrogens. *Biol Chem.* 276: 17808–17814.
- Baziad A, 1999. Sejauh Mana Terapi Sulih Hormon Aman? Makalah disajikan dalam Lunch Symposia “Menopause”. *Makalah Utama*. Disampaikan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan (PIT) XI Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia, Semarang, Juli, 1999.
- Barlow J, Johnson JA, 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).
- 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.* 74: 587–601.
- Delmonte P, & Rader J, 2006. Analysis of Isoflavones in Foods and Dietary Supplements. *J AOAC International*, 89(4): 1138–1146.
- Eden J, 1998. Phytoestrogens and The Menopause. *Balliere Clin. Endocrinol Met.* 12(4): 581–586.
- Ford JA Jr, Clark Sg, Walters EM, Wheeler MB dan Hurley WL, 2006. Estrogenic effects of Genistein on Reproductive Tissues of Ovariectomized Gilts. *Anim Sci.* 84: 834–842.
- Fugh-Berman A dan Ernst E, 2001. Herb-Drug Interaction: Review and Assessment of Report Reliability. *Br J Clin Pharmacol.* 52: 587–595.
- Gang P, Kerlikowske K, Subak L, dan Grady D, 1999. Hormone Replacement Therapy and the Risk of Epithelial Ovarian Carcinoma: a Meta-Analysis. *Obs Gyn.* 92: 472–479.
- Guyton AC dan Hall JE, 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan oleh Luqman Yanuar Rachman. 2007. Jakarta: EGC Buku Kedokteran.

- Griffiths K, Adlercreutz H, dan Boyle P, 1996. Nutrition and Cancer. *Oxford: Isis Medical Media*.
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger, dan Huber JC, 2002. Production and Actions of Estrogens. *Engl J Med*.346(5): 340-352.
- Harrison RM, Phillippi PP, Swan KF, dan Henson MC, 1999. Effect of genistein on steroid hormone production in the pregnant rhesus monkey. *Society for Experimental Biology and Medicine*, Vol. 222.
- Ioannides C, 2002. Pharmacokinetic Interactions Between Herbal Remedies and Medicinal Drugs. *Xenobiotica*. 32: 451-478.
- Kim H, Peterson TG, dan Barnes S, 1998. Mechanism of Action of the Soy Isoflavone Genestein: Emerging Role of its Effects Through Transforming Growth Factor Beta Signaling. *Am J Clin Nutr*. 68: 1418S-1425S.
- Kurzer MS dan Xu X, 1997. Dietary Phytoestrogen. *Annu Rev Nutr*.17: 353-381.
- Lan K dan Jia W, 2010. An Integrated Metabolomics and Pharmacokinetics Strategy for Multi-Component Drugs Evaluation. *Current Drug Met*. 11: 105-114.
- Leffers H, Naesby M, Vendelbo B, Skakkebaek NE, dan Jorgensen M, 2001. Oestrogenic Potencies of Zeranol, Oestradiol, Diethylstilbestrol, Bisphenol-A and Genistein: Implications for Exposure Assessment of Potential Endocrine Disrupters. *J Hum Repro*, 16(5): 1037-1045.
- Mazur W dan Adlercreutz H, 2000. Overview of Naturally Occurring Endocrineactive Substances in the Human Diet in Relation to Human Health. *Nutr*. 16: 654-658.
- Manson JE dan Martin KA, 2001. Postmenopausal Hormone Replacement Therapy. *N Engl J Med*. 1: 34-40.
- Ross RK, Paganini-Hill A, Wan PC, dan Pike MC, 2000. Effect of Hormone Replacement Therapy on Breast Cancer Risk: Estrogen Versus Estrogen Plus Progestin. *Natl Cancer Inst*. 92: 328-32.
- Rowland I, Faughnan M, Hoey L, Wahala K, Williamson G, dan Cassidy A, 2003. Bioavailability of Phyto-oestrogens. *Br J Nutr*. 89: S45-S58.
- Santen RJ, Allerd DC, Ardoin SP, Archer DF, dan Boyd N, 2010. Postmenopausal Hormone Therapy: An Endocrine Society Scientific Statement. *Clin Endocrinol Metab*. 95: s1-s66.
- Santell RC, Chang YC, 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.
- Setchell K, Nechemias LZ, Cai J, dan Heubi J, 1998. Isoflavone Content of Instant Formulas and the Metabolic Fate of These Phytoestrogens in Early Life. *Am J Soc Clin Nutr*.68: 1453-1461.
- Selvaraj V, Melissa A, Zakroczymski Nauz A, Mukai M, Ju YH, Daniel R, Doerge, Katzenellenbogen Helferich WG, dan Cooke PS, 2004. Estrogenicity of the Isoflavone Metabolite Equol on Reproductive and Non Reproductive Organs in Mice. *Biol Reprod*. 71: 966-972.
- Sheehan DM, 2005. The Case for Expanded Phytoestrogen Research. *Proc Soc Exp Biol Med*. 208: 5-3.
- Stanczyk FZ, 2005. Natural Versus Synthetic Estrogens for Hormone Therapy: Is There a Difference? *J Menopause Management*. Juli/Agt 2005, 11-19.
- Tsourounis C, 2004. Clinical Effects of Fitoestrogens. *Clin Obs Gyn* 44(4): 836-42.
- Urasopon N, Hamada Y, Asaoka K, dan Pongmali U, 2008. Isoflavon Content of Rodent Diets and Its Estrogenic Effect on Vaginal Cornification in Pueraria mirifica Treated Rats. *Science Asia* 34: 371-376.
- Zhou S, Gao Y, Jiang W, Huang M, Xu A, dan Paxton JW, 2003. Interactions of Herbs with Cytochrome P450. *Drug Metab Rev*. 35: 35-98.