

repository.ub.ac.id

PENGARUH EKSTRAK *Vigna unguiculata* TERHADAP VOLUME KORTEKS GINJAL *Rattus norvegicus* OVARIKTOMI

Thalia Puteri Oktariana, Retty Ratnawati, Atma Gunawan

Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Menopause adalah kondisi yang menyebabkan hipoestrogen dan pasti dialami oleh setiap wanita. Kondisi hipoestrogen akan menyebabkan vasokonstriksi pembuluh eferen di glomerulus yang akan diikuti oleh vasokonstriksi pembuluh aferen glomerulus sebagai mekanisme untuk mempertahankan laju filtrasi glomerulus. Kondisi tersebut akan menyebabkan hipoperfusi dan perburukan fungsi ginjal. Perburukan fungsi ginjal akan diikuti oleh penipisan korteks ginjal yang berarti terjadi penurunan volume korteks ginjal. Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) sebagai fitoestrogen mengandung *genistein* yang dapat menjadi pilihan alternatif pengganti hormon estrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Vigna unguiculata* terhadap volume korteks ginjal *Rattus norvegicus* ovariektomi. Ovariektomi dilakukan agar tercipta kondisi hipoestrogen. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental pada 30 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu : kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (model tikus ovariektomi), dan 3 kelompok perlakuan dengan ovariektomi serta diberi ekstrak kacang tunggak dengan dosis 1,25 mg/kgBB/hari, 2,5 mg/kgBB/hari, 5 mg/kgBB/hari. Pemberian ekstrak *Vigna unguiculata* dilakukan selama 30 hari setelah tikus dinyatakan hipoestrogen. Tikus dapat dinyatakan hipoestrogen setelah 28 hari paska ovariektomi dilakukan. Setelah 30 hari pemberian ekstrak *Vigna unguiculata*, tikus diterminasi dan dilakukan pengambilan ginjal untuk dibuat menjadi preparat. Kemudian dilakukan penghitungan volume korteks ginjal dengan menggunakan dot slide mikroskop pencahayaan Olympus XC 10 dan *software Olyvia*, dan satuan volume korteks ginjal adalah  $\mu\text{m}^3$ . Berdasarkan hasil pengukuran, terjadi penurunan volume korteks ginjal tikus yang ovariektomi jika dibandingkan dengan tikus normal. Analisis Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kacang tunggak tidak berpengaruh signifikan terhadap volume korteks ginjal dibanding kelompok tikus ovariektomi ( $p>0.05$ ). Analisis korelasi Spearman menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) memiliki korelasi positif dengan hubungan yang sangat lemah sehingga semakin tinggi dosis akan semakin meningkatkan volume korteks ginjal. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak *Vigna unguiculata* tidak dapat meningkatkan volume korteks ginjal *Rattus norvegicus* ovariektomi.

Kata kunci : ginjal, *Vigna unguiculata*, estrogen, fitoestrogen, menopause

ABSTRACT

Menopause is a condition that causes hipoestrogen and must be experienced by every woman. Hipoestrogen conditions will cause vasoconstriction of the efferent glomerular vessels which will be followed by vasoconstriction of the afferent glomerular vessels as a mechanism to maintain the glomerular filtration rate. These conditions will lead to hypoperfusion and worsening renal function. Renal function impairment will be followed by a thinning of the renal cortex, which

means a decrease in renal cortical volume. Cowpea (*Vigna unguiculata*) as a phytoestrogens contains genistein which can be an alternative option of estrogen hormone replacement. This study aimed to determine the effect of *Vigna unguiculata* extract towards the renal cortex volume in *Rattus norvegicus* ovariectomy. Ovariectomy done in order to create hypoestrogen condition. The study design used was experimental, 30 rats were divided into 5 groups: negative control group (without treatment), the positive control group (ovariectomized rats), and 3 treatment groups with ovariectomy and cowpea extract at a dose of 1.25 mg / kgBW / day, 2.5 mg / kgBW / day, 5 mg / kgBW / day. The extract of *Vigna unguiculata* conducted for 30 days after the mice hypoestrogen. Rat can be expressed hypoestrogen, 28 days after ovariectomy. After 30 days of *Vigna unguiculata* extract administration, rat terminated and the kidney is taken to be used for preparation. Then do the calculation of the volume of the renal cortex by using Olympus light microscope dot slide and software olyVIA XC 10, and the unit volume of the renal cortex is  $\mu\text{m}^3$ . Based on the measurement results, there is a decrease in renal cortical volume ovariectomized rats compared to normal rats. Kruskal-Wallis analysis showed that the cowpea extract did not significantly affect the renal cortex volume compared to the ovariectomized rats ( $p>0.05$ ). Spearman correlation analysis shows that the dose of cowpea (*Vigna unguiculata*) extract were positively correlated with very weak links. So, that higher doses would increase the volume of the renal cortex. The conclusion of this study is the *Vigna unguiculata* extract did not increase the volume of the renal cortex *Rattus norvegicus* ovariectomy.

Keywords : kidney, *Vigna unguiculata*, estrogen, fitoestrogen, menopause

## PENDAHULUAN

Setiap wanita pasti akan mengalami menopause. Menopause adalah berhentinya menstruasi setelah terjadi amenorea selama 12 bulan berturut-turut. Menurut Perkumpulan Menopause Indonesia (PERMI), rata-rata menopause populasi Indonesia terjadi di usia 51,3 tahun. Menopause akan menyebabkan penurunan kadar hormon estrogen yang sangat besar pengaruhnya terhadap fisiologi dan berkaitan dengan gejala vasomotor, atropi urogenital,

serta gangguan kognitif maupun meningkatnya risiko penyakit degeneratif kronik<sup>(1)</sup>.

Studi epidemiologi di Amerika menunjukkan, wanita memiliki prognosis yang baik pada penyakit ginjal kronis dibandingkan pada pria. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh hormon jenis kelamin pada struktur dan fungsi glomerulus<sup>(2)</sup>. Estrogen berperan dalam perkembangan dari beberapa penyakit ginjal seperti glomerulosklerosis dan fibrosis tubule-interstisial. Salah satu peran paling penting dari estrogen adalah

efek protektif pada ginjal, estrogen mencegah glomerulosklerosis dan fibrosis tubulo-interstisial<sup>(2)</sup>. Studi di Universitas Georgetown menunjukkan bahwa ovariektomi meningkatkan laju filtrasi glomerulus dengan cara meningkatkan densitas reseptor angiotensin II tipe 1(AT(1)R). Namun dengan pemberian estradiol, densitas reseptor AT(1)R dapat menurun. Karena itu, estrogen memiliki efek nefroprotektif<sup>(3)</sup>. Namun data dari studi eksperimental masih kontroversial, dan masih sedikit data molekular yang tersedia. Estrogen dan metabolit estrogen mempengaruhi kerusakan ginjal pada beberapa model tikus, namun tidak semua model percobaan tikus<sup>(4)</sup>. Hal tersebut masih belum jelas keberadaan testosterone, penurunan estrogen, atau keduanya mempengaruhi perbedaan progresifitas penyakit ginjal pada kedua jenis kelamin<sup>(5)</sup>.

Fungsi ginjal dapat dilihat dari laju filtrasi glomerulus. Laju filtrasi glomerulus secara tidak langsung berhubungan dengan parameter struktural di ginjal. Parameter struktural tersebut

adalah volume korteks ginjal, total volume renal, jumlah glomerulus, dan total volume glomerulus. Korelasi antara parameter struktural dan laju filtrasi glomerulus terbaik ditemukan pada volume korteks ginjal<sup>(6)</sup>.

Telah diketahui bahwa glomerulus berada di korteks renal. Perburukan fungsi renal mempengaruhi glomerulus, yang mana sering berakibat pada penipisan dari korteks renal<sup>(7)</sup>. Jika korteks ginjal menipis maka volume korteks ginjal juga berkurang.

Saat ini HRT (*Hormone Replacing Therapy*) dipakai sebagai terapi hormone estrogen oleh wanita menopause. Pada penggunaan jangka pendek, HRT sangat efektif sebagai terapi gejala vasomotor, mengurangi kekeringan vagina dan urethritis<sup>(8)</sup>. Penggunaan dari HRT dapat menimbulkan berbagai macam efek samping seperti retensi cairan, nyeri atau pembengkakan payudara, mual, kram kaki, dan pusing. Dalam jangka panjang, penggunaan HRT dapat meningkatkan resiko kanker payudara, kanker ovarium, kanker rahim, stroke, dan serangan jantung (NHS, 2014).

Untuk menghindari efek penggunaan jangka panjang dan meminimalisir efek samping dari penggunaan HRT, sedang banyak penelitian tentang terapi alternatif dengan menggunakan fitoestrogen<sup>(9)(10)(11)</sup>. Fitoestrogen adalah estrogen yang didapat dari tanaman. Fitoestrogen memiliki efek estrogen yang lebih rendah jika dibandingkan estrogen endogen namun dapat mengurangi keluhan prahaid, pembesaran mioma uterus, keluhan akibat endometriosis, pengobatan hiperplasia endometrium, serta menurunkan resiko kanker payudara<sup>(12)</sup>. Fitoestrogen mengandung isoflavonoid yang sering ditemukan pada bahan pangan, dengan komponen utama genistein dan daidzain (Arsana, 2012). Genistein memiliki struktur kimia dan aktivitas biologis serupa dengan estradiol (Sari, 2014). Estradiol adalah hormon estrogen yang paling banyak dihasilkan oleh tubuh melalui ovarium.

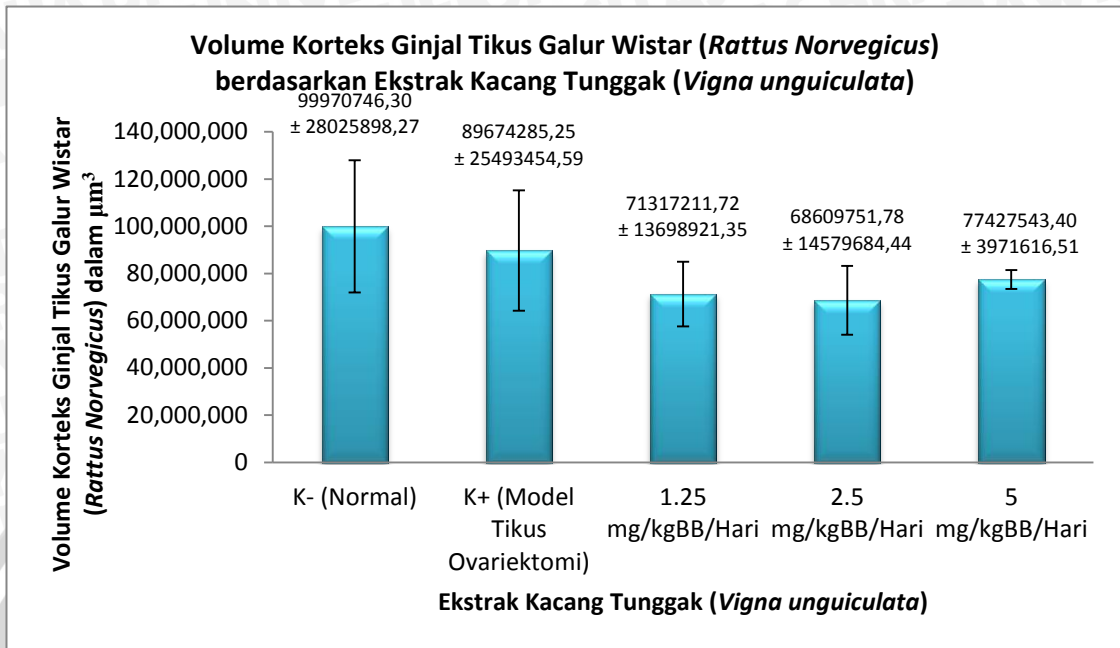
Salah satu tanaman yang mengandung isoflavon adalah kacang tunggak (*Vigna unguilata* ).

Isoflavon yang terkandung dalam 100 g kacang tunggak adalah genistein 0,02 mg dan daidzen 0,01 mg dengan total isoflavon 0,03 mg (Rozman,2006). Jika dibandingkan dengan kacang kedelai, kacang tunggak memiliki kandungan lemak yang lebih rendah.

Karena itu peneliti ingin membuktikan efek isoflavon pada kacang tunggak sebagai fitoestrogen, khususnya efek terhadap volume korteks ginjal.

#### METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental sesungguhnya (*true experimental*) dengan pendekatan *post test only control group design*. Perlakuan terhadap hewan coba pada penelitian ini dengan dilakukan tindakan ovariectomi untuk menciptakan kondisi hipoestrogen yaitu terjadi pada 28 hari pasca ovariectomi. Hal ini ditandai dengan kenaikan pH vagina sampai lebih dari 7,3. Setelah pengukuran pH, dilanjutkan dengan pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan berbagai dosis yaitu 1,25 mg/kgBB/hari, 2,5 mg/kgBB/hari, dan 5 mg/kgBB/hari selama 30 hari.



## HASIL

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa rata-rata volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus* paling tinggi 99970746.30 ± 28025898.27  $\mu\text{m}^3$  pada kontrol negatif (normal). Kemudian paling tinggi kedua rata-rata volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus* 89674285.25 ± 25493454.59  $\mu\text{m}^3$  pada kontrol positif (model tikus ovariektomi). Paling tinggi ketiga rata-rata volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus* 77427543.40 ± 3971616.51  $\mu\text{m}^3$  setelah pemberian ekstrak *Vigna unguiculata* sebesar 5mg/kgBB/Hari. Selanjutnya rata-rata volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus* sebesar 71317211.72 ± 13698921.35  $\mu\text{m}^3$  setelah pemberian ekstrak *Vigna unguiculata* sebesar 1.25mg/kgBB/Hari, dan yang paling rendah rata-rata volume korteks ginjal *Rattus*

*Norvegicus* sebesar 68609751.78 ± 14579684.44  $\mu\text{m}^3$  setelah pemberian ekstrak *Vigna unguiculata* sebesar 2.5mg/kgBB/Hari.

Hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa data terdistribusi normal  $p = 0,003$  ( $p < 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian data yang menunjukkan bahwa data homogen  $p = 0,003$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa distribusi dan homogenitas sampel yang digunakan dalam penelitian ini tidak normal.

Karena tidak memenuhi uji normalitas dan uji homogenitas, maka dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Walis*. Hasil uji *Kruskal-Walis* menunjukkan nilai probabilitas  $p = 0,181$  ( $p > 0,05$ ) hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan

ekstrak *Vigna unguiculata* terhadap volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus*.

Hasil uji Korelasi Spearman menunjukkan nilai  $r = 0,210$  yang berarti menunjukkan bahwa ekstrak *Vigna unguiculata* berkorelasi positif dan memiliki hubungan yang sangat lemah dengan volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus*. Hubungan tersebut menunjukkan bahwa semakin meningkat dosis ekstrak *Vigna unguiculata* maka akan diikuti bertambahnya volume korteks ginjal *Rattus Norvegicus*.

## PEMBAHASAN

Hasil dari pengukuran volume korteks ginjal menunjukkan bahwa memang terjadi penurunan volume korteks ginjal pada tikus kontrol positif dengan ovariectomi dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak yaitu sebesar 10,3% dibandingkan dengan tikus kontrol negatif tanpa ovariectomi dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Hal ini dikarenakan peningkatan densitas reseptor angiotensin II tipe 1 (AT(1)R) yang dapat mempengaruhi penurunan fungsi ginjal menurut studi di Universitas Georgetown. Penurunan fungsi ginjal sering diikuti oleh penipisan dari korteks renal<sup>(7)</sup>.

Pada kelompok perlakuan 1 pemberian dosis ekstrak kacang tunggak 1,25 mg/kgBB/hari terjadi penurunan volume korteks ginjal sebesar 20,47% jika

dibandingkan dengan volume korteks pada kelompok perlakuan kontrol positif dengan ovariectomi dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Hal ini dikarenakan ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mengandung fitoestrogen terutama genistein yang secara kimia menyerupai estrogen. Pada tikus, reseptor AT1 lebih banyak dibandingkan AT2. Dengan pemberian estrogen dari luar tubuh, maka respon reseptor AT1 pada korteks renal semakin meningkat. Disaat yang sama respon dari reseptor AT2 juga meningkat, namun efek yang terjadi pada target organ lebih didominasi oleh AT1. Reseptor AT1 akan menyebabkan vasokonstriksi<sup>(13)</sup>. Vasokonstriksi pembuluh eferen akan diikuti konstriksi pembuluh aferen untuk mempertahankan laju filtrasi glomerulus. Namun kondisi tersebut akan mengakibatkan hipoperfusi dan iskemia glomerulus. Pada akhirnya terjadi penurunan fungsi ginjal yang sering diikuti oleh penipisan korteks ginjal.

Pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian dosis ekstrak kacang tunggak 2,5 mg/kgBB/hari memiliki penurunan volume korteks ginjal sebesar 3,8% dibandingkan dengan volume pada kelompok perlakuan 1 dan 23,49% dibandingkan dengan volume pada perlakuan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa fitoestrogen dengan dosis 2,5 mg/kgBB/hari meningkatkan lebih

banyak reseptor AT1 yang terdapat pada korteks ginjal dan disaat yang sama terjadi peningkatan reseptor AT2. Namun efek yang terjadi masih didominasi oleh reseptor AT1.

Pada kelompok perlakuan 3 dengan pemberian dosis ekstrak kacang tunggak 5 mg/kgBB/hari terjadi peningkatan volume korteks ginjal sebesar 12,85% dibandingkan dengan volume pada kelompok perlakuan 2 dan 8,56% dibandingkan dengan volume kelompok perlakuan 1. Namun peningkatan volume tersebut berada 13,65% dibawah volume kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian fitoestrogen dengan dosis 5 mg/kgbb/hari meningkatkan reseptor AT1 dan AT2 dan efek pada target organ didominasi oleh AT2. Dominasi reseptor AT2 akan menyebabkan vasodilatasi yang akan mencegah perkembangan hipertensi dan menghambat terjadinya progresivitas penyakit renal<sup>(13)</sup>.

Dengan melihat fakta hasil penelitian ini yaitu adanya penurunan volume korteks ginjal dengan pemberian ekstrak kacang tunggak dosis 1,25mg/kgBB/hari dan 2,5mg/kgBB/hari jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu dengan ovariectomi dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak, tetapi terjadi peningkatan volume korteks ginjal dengan pemberian ekstrak kacang tunggak dosis 5mg/kgBB/hari jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 dan 2. Maka

dapat disimpulkan bahwa ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) tidak dapat meningkatkan volume korteks ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi secara signifikan. Hal ini menjelaskan bahwa hipotesa yang telah disusun sebelumnya adalah tidak terbukti. Berdasarkan analisa statistik Kruskal Wallis, didapatkan bahwa ekstrak *Vigna unguiculata* tidak meningkatkan volume korteks ginjal *Rattus norvegicus* ovariectomi secara signifikan walaupun berdasarkan analisa korelasi Spearman didapatkan korelasi yang positif dengan hubungan yang sangat lemah. Sehingga ada kemungkinan bahwa dengan ditingkatkannya dosis ekstrak kacang tunggak mulai dari 5mg/kgBB/hari, akan meningkatkan volume korteks ginjal *Rattus norvegicus* yang telah diovariectomi melebihi kontrol positif.

Terjadinya penyusutan volume korteks ginjal pada kontrol positif, yaitu tikus yang diberi perlakuan ovariectomi tanpa diberi ekstrak *Vigna unguiculata*, jika dibandingkan dengan kontrol negatif dapat mengindikasikan bahwa telah terjadi kerusakan kronik pada parenkim ginjal tikus. Berdasarkan Kriteria RIFLE pada manusia, jika telah terjadi gagal ginjal akut persisten selama lebih dari satu bulan maka dapat dikatakan ginjal tersebut sudah kehilangan fungsinya dan mulai membutuhkan hemodialisis. Apabila kondisi tersebut terjadi

sampai lebih dari tiga bulan maka ginjal dapat dikatakan berada pada penyakit ginjal tahap akhir (ESRD). Pada tikus perlakuan dengan AngII/DOCA Salt dan mengalami hipertensi proteinuria yang dapat mencerminkan penyakit ginjal kronis manusia, proteinuria meningkat signifikan pada hari 18 dan 21 sejak perlakuan dan mengindikasikan progresi penyakit akibat respon terhadap jejas glomerulus<sup>(14)</sup>. Renal GLP-1 meningkat dalam 2 minggu dan menurun setelah 4 minggu pada tikus dengan penyakit ginjal kronis (CKD) dan tikus CKD dengan miokardial iskemia (CKD-MI), yang mengindikasikan bahwa aktivitas GLP-1 berhubungan dengan respon inflamasi<sup>(15)</sup>. Setelah 4 minggu maka respon inflamasi terhadap jejas yang ada di ginjal akan menurun.

Pada penelitian ini tikus telah terpapar kondisi hipoestrogen selama kurang lebih satu bulan sebelum diberikan ekstrak *Vigna unguiculata*, maka tikus dapat dianggap sudah berada di tahap *renal loss* atau kehilangan fungsi ginjal. Kerusakan pada ginjal bersifat ireversibel, sehingga perlakuan yang diberikan sudah terlambat.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya karena terdapat perbedaan pemberian jenis estrogen. Pada penelitian sebelumnya, estrogen diberikan dengan cara memasang implan subkutan 17 $\beta$ -estradiol pada tikus betina yang

diovariectomi<sup>(13)</sup>. Sedangkan pada penelitian ini tikus betina yang telah diovariectomi diberikan fitoestrogen yang mengandung isoflavan (genistein, daidzein, glycitein, formononetin, equol dan biochanin A). Potensi relatif fitoestrogen dalam mengaktifkan transkripsi gen estrogen-responsif adalah 1000 - 10.000 kali lipat lebih sedikit dibandingkan dengan 17 $\beta$ -estradiol, hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan dengan 17 $\beta$ -estradiol, genistein dan daidzein memiliki efek estrogen genomik lemah<sup>(16)</sup>.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Terjadi penurunan volume korteks ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) setelah diovariectomi
2. Ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) tidak dapat meningkatkan volume korteks ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) secara signifikan.
3. Terdapat hubungan yang sangat lemah antara dosis ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan volume korteks ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) ovariektomi.



## SARAN

Saran-saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah dilakukan penelitian yang mendalam tentang :

1. Pengaruh variasi dosis ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap peningkatan volume korteks ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi yang lebih banyak supaya dapat menentukan dosis efektif.
2. Pengaruh lama waktu pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap peningkatan volume korteks ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi.
3. Penggunaan *GFR* atau *urine output* sebagai parameter fungsi ginjal karena dapat mendeteksi penurunan fungsi ginjal di awal dan dapat menjadi tolak ukur kriteria RIFLE pada manusia.
4. Uji efek samping dan toksisitas dari ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) pada hewan coba untuk mengetahui kadar toksik dalam penggunaannya serta dilakukan penelitian lebih lanjut supaya dapat digunakan sebagai

terapi sulih hormon alami pada wanita menopause.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Maturana, MA., Irigoyen MC, Spritzer PM. 2007. Menopause, Estrogens, and Endothelial Dysfunction : Current Concepts. *Clinics (Sao Paulo)* 62(1) : 77-86.
2. Kummer S, von Gersdorff G, Kemper MJ, Oh J. 2012. The Influence of Gender and Sexual Hormones on Incidence and Outcome of Chronic Kidney Disease. *Pediatric Nephrology* 27(8):1213-9.
3. Gluhovschi, G. et al., 2012. Chronic Kidney Disease And The Involvement Of Estrogen Hormones In Its Pathogenesis And Progression. *Rom J Intern Med* 50(2):135-44.
4. Gross, M. L., Adamczak, M., Rabe, T., Harbi, N. a, Krtil, J., Koch, a, ... Ritz, E. (2004). Beneficial Effects of Estrogens on Indices of Renal Damage in Uninephrectomized SHRsp Rats. *J Am Soc Nephrol*, 15(2), 348–358.
5. Neurgarten, Joel. 2002. Gender and The Progression of Renal Disease. *Journal of The American Society of Nephrology* 13(11) : 2807-2809.
6. Nyengaard, J.R., 1999. Stereologic Methods and Their Application in Kidney Research. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10 : 1100–1123.

7. Yamashita, S.R., Iared, W. & Ammirati, A.L., 2015. Value of renal cortical thickness as a predictor of renal function impairment in chronic renal disease patients \*. , 48(1), pp.12–16.
8. Barret-Connor E, Stuenkel CA. 2001. Hormone Replacement Therapy (HRT) Risks and Benefits. *Int J Epidemiol* 30(3) : 423-6.
9. Azizah, I., Wahyuningrum, T., Keman, K., Santoso, S., Hidayati, D.Y.N., 2014. The Effect of *Vigna unguiculata* on Aortic Endothelial Cells, Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression, Lipid Profile, and Atherosclerosis in Ovariectomized Rats. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*. 4 (3): 207-211.
10. Khusniyati, E., Sari, A.A., Yueniwati, Y., Noorhamdani, Nurseta, T., Keman, K., 2014. The Effect of *Vigna Unguiculata* on Cardiac Oxidative Stress and Aorta Estrogen Receptor- $\beta$  Expression of Ovariectomized Rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 3(4):263-267
11. Yulinda, D., Yueniwati, Y. & Tatit Nurseta, 2014. *Vigna unguiculata* reduces aortic intima-media thickness and increases aortic diameter and angiogenesis in ovariectomized rats. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 4(2), pp.85–88.
12. Prawirohardjo, S. 2003. Menopause dan Andropause. Edisi 1. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta.
13. Baiardi, G. et al., 2005. Estrogen upregulates renal angiotensin II AT 1 and AT 2 receptors in the rat. , 124, pp.7–17.
14. Mohammed-ali, Z. et al., 2014. Development of a Model of Chronic Kidney Disease in the C57BL / 6 Mouse with Properties of Progressive Human CKD. *BioMed Research International*, 2015, pp.1–11.
15. Kwon, Soon Kill. Kim, Seung Jung. Kim, Kyung Min. Kim, H.-Y. (2016). Chronic Kidney Disease . Pathophysiology & Progression. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 31(Supplement 1), 2016.
16. Bhupathy, Poornima , Christopher DH, Leslie AL. 2010. Influence of Sex Hormones and Phytoestrogens on Heart Disease in Men and Women. *Womens Health (Lond Engl)* 6(1): 77-95.