

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Menopause

2.1.1 Definisi Menopause

Menopause merupakan fase peralihan dari fase reproduksi ke fase seminasi (usia tua) yang ditandai dengan berhentinya periode menstruasi secara permanen. Seorang perempuan dapat dikatakan menopause jika didapati tidak adanya periode menstruasi selama 12 bulan secara berkelanjutan tanpa adanya alasan yang mendasari seperti kehamilan atau menyusui (Utian, 2004).

2.1.2 Patofisiologi menopause

Penurunan progresif kualitas dan kuantitas oosit primordial, intermediet, dan folikel primer diduga menjadi penyebab penurunan fungsi reproduksi pada wanita. Studi *cross-sectional* histologi ovarium menunjukkan bahwa dengan penuaan, cadangan ovarium menurun dari puncaknya 500.000 sampai 1.000.000 folikel saat lahir menjadi sekitar 1000 pada usia menopause (Steiner, 2011).

Masa menopause ditandai oleh turunnya kadar estrogen dan meningkatnya pengeluaran gonadotropin. Terdapat tiga estrogen utama pada manusia: 1) estron (E1), 2) estradiol (E2), dan 3) estriol (E3). Estriol, merupakan estrogen lemah yang disekresi plasenta dan juga dimetabolisme

dari estron. Estradiol adalah yang paling aktif, mencapai 95% sirkulasi estrogen pada wanita pramenopause. Perbandingan khasiat biologis dari ketiga hormon tersebut adalah $E2 : E1 : E3 = 10 : 5 : 1$. Sebagian besar estradiol dan estron pada wanita pascamenopause diproduksi oleh konversi periferal androstenedion menjadi estron bukan dengan sekresi langsung estron oleh ovarium atau kelenjar adrenal. Sembilan puluh lima persen produksi androstenedion pascamenopause terjadi di kelenjar adrenal dan 5% di ovarium (Varney *et al.*, 2007). Wanita pascamenopause memiliki kadar estradiol serum di bawah 15 pg/ml dan berarti kadar estron antara 30 dan 70 pg/ml (Sarwono, 1999; Varney *et al.*, 2007).

2.1.3 Gejala, keluhan dan Sindroma Menopause

Keluhan-keluhan yang terjadi pada wanita pra-menopause, menopause maupun pasca-menopause umumnya disebabkan karena rendahnya atau kekurangan hormon estrogen, meskipun perlu juga diingat bahwa beberapa keluhan yang sama dapat pula disebabkan karena penyakit yang lain. Keluhan-keluhan yang timbul dapat dibagi menjadi keluhan-keluhan jangka pendek dan keluhan-keluhan jangka panjang (Sudoyo, 2009).

Keluhan jangka pendek dapat muncul begitu siklus haid menjadi tidak teratur, namun kebanyakan baru muncul begitu wanita tersebut tidak haid setelah 6 bulan atau lebih, sedangkan keluhan jangka panjang baru akan muncul atau terlihat setelah kurang lebih 10 tahun pasca-menopause. Keluhan-keluhan yang mungkin dirasakan oleh wanita menopause antara

lain adalah gejala vasomotor (gejolak panas, muka berwarna kemerahan yang disertai dengan keringat banyak terutama pada malam hari, sulit tidur, jantung berdebar-debar, sakit kepala), gejala psikologis (sering timbul rasa takut, gelisah, lekas marah, mudah tersinggung, pelupa, tidak dapat berkonsentrasi, libido menurun, hilang kepercayaan diri, perasaan tertekan, kurang kemauan), gejala urogenital (sering buang air kecil pada malam hari dan nyeri pada waktu buang air kecil, nyeri sanggama, keputihan) sering haus, gangguan pada kulit seperti kulit kering, rambut rontok, kuku rapuh, gatal-gatal di daerah kemaluan), gangguan pada mata (keratokonjungtivitis) dan kadar kolesterol meningkat (Soewando, 2009).

Dalam jangka panjang, masalah yang sering dihadapi dan mendapat perhatian dari para ahli maupun pemerintah di negara-negara maju pada wanita pasca-menopause adalah osteoporosis, penyakit jantung coroner (PJK) serta penyakit Alzheimer (Wratsangka, 1999). Disamping itu, kondisi hipoestrogen kronis akibat post-menopause akan menjadi faktor terjadinya atrofi pada uretra sehingga dapat terjadi infeksi saluran kemih, sensasi panas saat berkemih, *nocturia* dan *dysuria*, atrofi epitel uretra dan penurunan kolagen periurethral yang akan berdampak pada penyempitan dan prolapse uretra / *caruncle* (Hospital, 2004).

2.2 Hormon Estrogen

2.2.1 Definisi Hormon Estrogen

Estrogen merupakan hormon steroid yang disintesis dari kolesterol hasil sintesis asetat, dari kolesterol ester pada jaringan steroidogenik, dan sumber makanan. Estrogen terdiri dari tiga jenis hormon yang berbeda, yaitu estron, estradiol, dan estriol. Pada wanita normal, estrogen banyak diproduksi oleh folikel selama proses ovulasi dan korpus luteum selama kehamilan (Steiner, Hill, & Carolina, 2011).

2.2.2 Sintesis Hormon Estrogen

Estrogen di produksi di ovarium, disamping itu estrogen juga diproduksi di jaringan tubuh seperti lemak, uterus, hati, otot, kulit, rambut, sistem neural sumsum tulang (*bone marrow*), adrenal, plasenta, testis, dan susunan syaraf pusat yang mempunyai kemampuan mengubah androgen menjadi estrogen (Prawirohardjo, 2003). Produksi estrogen dari ovarium berkurang saat jumlah folikel primordial mengalami atresia (Guyton, 2008). Wanita menopause mengalami atresia yang meningkat pada jumlah folikel, hal ini menjadi penyebab tidak terjadinya lagi proses menstruasi pada perempuan karena produksi estrogen yang berkurang akibat jumlah folikel yang tidak cukup. Pada perempuan yang mengalami menopause ditemukan kadar estradiol yang rendah, namun estradiol juga bisa didapatkan melalui perubahan androgen menjadi estrogen di dalam jaringan lemak. Meskipun

demikian pada wanita menopause ovarium masih memproduksi estrogen meskipun hanya dalam jumlah yang rendah (Prawirohardjo, 2003).

2.2.3 Fungsi Hormon Estrogen

Estrogen merupakan hormon golongan steroid yang memiliki banyak fungsi seperti untuk pertumbuhan dan diferensiasi serta fungsi lain di beberapa jaringan (Enmark *et. al*, 1997). Fungsi lain dari hormone estrogen adalah menimbulkan proliferasi sel dan berperan dalam pertumbuhan jaringan organ-organ kelamin serta jaringan yang berkaitan dengan reproduksi (Guyton, 2000). Estrogen penting untuk menjaga fungsi fisiologi & integritas saluran urogenital perempuan. Efek spesifik dari estrogen dimediasi lewat interaksinya dengan reseptor nuclear (Augsburger & Führer, 2014).

2.2.4 Jenis Hormon Estrogen

Hormon Estrogen terdiri dari 17- β estradiol, estron dan estriol. Jenis 17- β estradiol adalah yang paling kuat dan dominan (Lestari, 2010). Estrogen juga dibentuk melalui aromatisasi androstenedion di dalam sirkulasi. Aromatase adalah enzim yang mengkatalisis perubahan androstenedion menjadi estron dan perubahan testosteron menjadi 17- β estradiol. 17- β estradiol berada dalam keseimbangan dengan estron. Estron mengalami metabolisme lebih lanjut pada hati menjadi estriol. Estradiol paling kuat sedang estriol paling lemah. Estradiol yang berada bebas dalam

darah hanya 2% sedang yang lain terikat yaitu : 6% ke albumin dan 38% ke *gonadal steroid binding globulin* (GBG) serupa dengan yang mengikat testosteron. Hampir semua estrogen berasal dari ovarium dan terdapat dua puncak sekresi yaitu: pada saat sebelum ovulasi dan selama fase *midluteal* (Ganong, 2003; Sherwood, 2004)

2.2.5 Kondisi Hormon Estrogen Setelah Menopause

Menopause adalah kondisi dimana seorang wanita tidak haid selama sekurangnya 12 bulan, dengan kadar FSH darah > 40 IU/ml dan kadar estradiol < 30 pg/ml (Prawirohardjo, 2003). Pada saat mendekati menopause, produksi estradiol akan mulai menurun dan pada masa menopause produksi estradiol akan berhenti (Lestari, 2010).

2.2.6 Mekanisme Kerja Hormon Estrogen

Diketahui bahwa aksi biologi estrogen melalui reseptor estrogen. Reseptor estrogen (ERs) disintesis oleh beberapa tipe sel dalam dua *isoform* yaitu ER α dan ER β . Distribusi ER α dan ER β terdapat pada berbagai target organ antara lain: *endometrium*, (Matsuzaki *et al*,1999), *uterus*, *oviduct*, *cervix/vagina* (Wang *et al*,2000), tulang, otak, pembuluh darah dan jantung, sistem imun, kulit, ginjal dan paru (Weirman, 2007), namun dikatakan bahwa ER α lebih lebih dominan dibanding ER β diberbagai target organ (Levin, 2001), sedang ER β lebih banyak ditemukan di ovarium, prostat, paru, dan hipotalamus (Kuiper *et a.l*, 1997). Reseptor α dan β diaktifkan oleh faktor

transkripsi. Dalam mekanisme tindakan ER, estrogen yang mengikat reseptor dalam inti terlibat dan setelah itu reseptor dimerisasi kemudian selanjutnya mengikat elemen respon spesifik yang dikenal sebagai elemen respon estrogen (EREs). EREs terletak di promotor gen target (Bjornstrom and Sjoberg, 2005).

2.2.7 Mekanisme Kerja Hormon Estrogen Terhadap Proliferasi Sel Epitel Vesika Urinaria

Estrogen memiliki beberapa peranan penting bagi fungsi saluran urogenital. Hextall & Cardozo (2001) menyebutkan estrogen memiliki fungsi yaitu meningkatkan aktivitas siklus sel pada kandung kemih dan uretra (Blakeman PJ et al., 1996), meningkatkan aliran darah pada submucosa dan *sphingcter* uretra (Cardozo LD, 1986), memberi sensasi pada reseptor α -adrenergic *sphingcter*, dan menstimulasi metabolisme jaringan ikat periurethral untuk melawan efek penuaan (Jackson et al., 1996)

Pada terapi inkontinensia urin, estrogen memiliki peran untuk meningkatkan tekanan penutupan uretra dan meningkatkan tekanan transmisi abdominal pada uretra bagian proximal. Rangsangan sensoris dari kandung kemih juga meningkat disertai dengan stimulasi produksi kolagen dari periuretra. Estrogen memiliki peranan yang penting dalam fisiologi saluran urogenital bawah perempuan, dan hipoestrogen adalah salah satu faktor etiologi dari disfungsi saluran urogenital bawah. Hasil pada penelitian mengenai *hormone replacement therapy* (HRT) menunjukkan bahwa

estrogen dapat mengatasi permasalahan gejala iritasi dari gangguan berkemih dan melawan atrofi saluran urogenital (Hextall & Cardozo, 2001).

Estrogen dapat berikatan secara tidak langsung dengan estrogen reseptor α stroma, mengaktifkan *epidermal growth factor* (EGF) yang merupakan faktor parakrin. EGF yang teraktivasi berupa tirosin yang terdapat pada epitel. EGF dan tiroksin kinase mengaktifkan protein kinase dalam sitoplasma sel. Protein kinase teraktivasi berupa *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) yang menjadi sinyal utama pengaktivasi transkripsi dan translasi sehingga terjadi sintesa protein yang diperlukan untuk mitosis sel-sel epitel. Mitosis sel epitel menyebabkan proliferasi sel epitel dan dapat dilihat pada ketebalan epitel yang meningkat (Buchanan et al., 1998; Cookie et al., 1998; Kusmana dkk., 2007).

Blakeman (2001) mengamati bahwa estradiol meningkatkan proliferasi sel epitel pada kandung kemih dan uretra. Secara embrional, uretra dan vagina sama-sama berasal dari sinus urogenital dan duktus Muller, sehingga kedua organ tersebut akan mudah mengalami gangguan pada saat kadar estrogen mulai berkurang. Pada vagina, estradiol 17- β menyebabkan proliferasi secara langsung. estradiol 17- β akan berikatan dengan ER pada sel target yang terdapat pada vagina sehingga mengubah konformasi ER. Perubahan konformasi menyebabkan ikatan antara estrogen & ER aktif. Kemudian selanjutnya berikatan dengan *site binding* pada sisi reseptor rantai DNA. Interaksi tersebut menyebabkan ekspresi gen meningkat. Ekspresi gen dikatalis oleh enzim RNA polymerase yang akan menyebabkan peningkatan mRNA.

tRNA juga akan mengalami peningkatan sehingga sintesis materi sel meningkat. Mekanisme yang sama dengan terjadinya aktivitas proliferasi sel epitel vagina dan ketebalan vagina (Wang et al., 1999; Buchanan et al., 1998; Puspitadewi dan Sunarno, 2007).

2.3 Vesika Urinaria

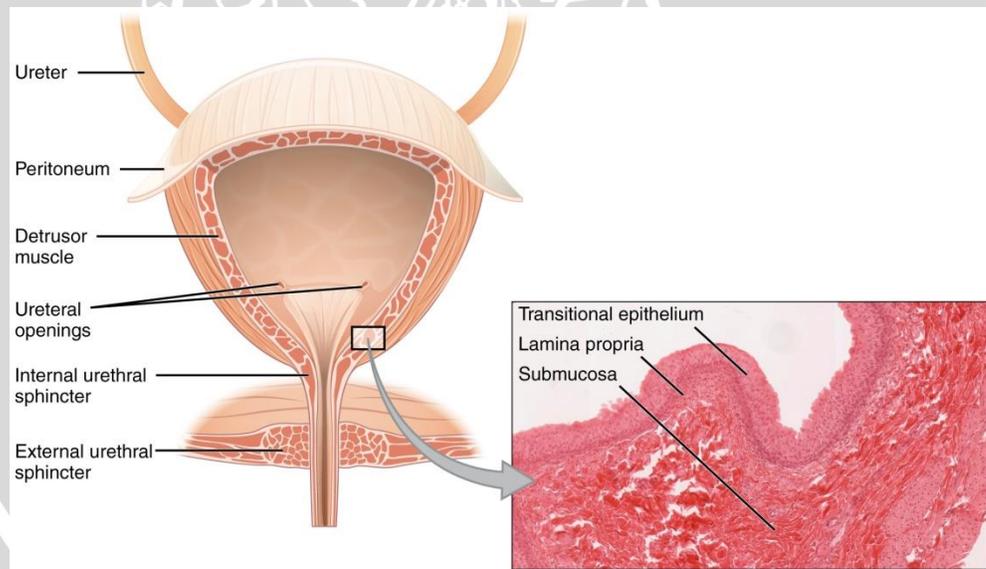
2.3.1 Anatomi Vesika urinaria

Vesika urinaria perempuan terletak di sebelah anterior vagina dan sebelah inferior uterus (Trailović MS, *et al.*, 2009). Urin yang awalnya terbentuk di ginjal akan disalurkan ke dalam vesika urinaria melalui ureter. Dalam vesika urinaria urin akan disimpan untuk sementara sebelum pengosongan melalui proses berkemih (Sherwood, Lauralee, 2009).

Terdapat dua bagian utama veska urinaria yaitu badan yang berfungsi untuk mengumpulkan urin dan leher seperti corong yang merupakan perpanjangan dari badan vesika urinaria. Leher vesika urinaria secara inferior dan anterior mengarah ke dalam *urogenital triangle* lalu berhubungan dengan uretra (Guyton AC, Hall JE., 2008). Tepat dibawah leher dari vesika urinaria terdapat bagian seperti bentuk segitiga yang disebut trigonum. Terdapat lapisan mukosa yang melekat dengan kuat pada lapisan muskularisnya (Tortora *et al.*, 2009).

2.3.2 Lapisan Transisional Vesika urinaria

Lapisan transisional vesika urinaria terdiri dari epitel transisional 3 lapis yaitu basal, intermediet, dan lapisan superfisial (Višnjari *et al.*, 2012). Epitel vesika urinaria terdiri dari 3-5 lapisan epitel yang melindungi permukaan mukosa dari pelvis renal, ureter, vesika urinaria, dan uretra proximal (Romih *et al.*, 2005). Epitel penyusun vesika urinaria yang merupakan epitel transisional, memiliki sifat tidak seperti epitel pada umumnya, epitel ini dapat meregang kembali ke bentuk semula tanpa kerusakan (Martini, Frederic, 2012). Baik epitel maupun otot polos aktif berpartisipasi dalam kemampuan kandung kemih untuk mengakomodasi perubahan besar dalam volume urin (Sherwood, Lauralee, 2009).



Gambar 2.1 Anatomi vesika urinaria wanita

2.3.3 Atrofi Epitel Vesika urinaria

Jaringan urogenital seperti trigonal vesika urinaria dan uretra memiliki reseptor estrogen yang tinggi sama seperti vagina bagian atas (Manonai et al., 2012). Kadar estrogen yang rendah setelah menopause mengakibatkan perubahan fisiologis, biologis, dan perubahan klinis pada jaringan urogenital. Perubahan anatomi seperti perubahan kandungan kolagen & hyalinisasi, penurunan elastin, penipisan epitelium, perubahan fungsi otot polos, peningkatan jaringan ikat & penurunan jumlah pembuluh darah juga terjadi (Portman & Gass, 2014). Perubahan fungsional pada saluran urogenital wanita juga berdampak pada tingginya resiko bakteriuria (Hextall, Hooper, et al., 2001)

Kerusakan dari mukosa vesika urinaria dapat menyebabkan kebocoran protein urin dan toxin ke dinding vesika urinaria, hal ini dapat menyebabkan masalah patologis, salah satunya sistisis Intersisial (Pourmand, 2014).

2.4 Fitoestrogen

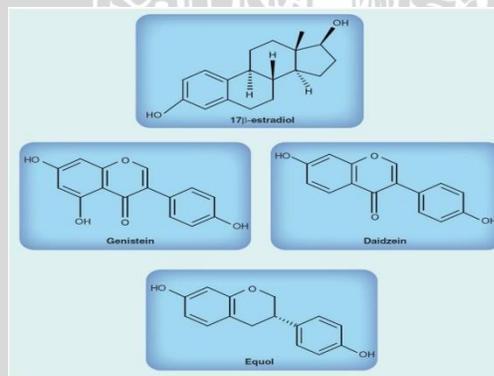
2.4.1 Definisi Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan dekomposisi alami yang ditemukan pada tumbuhan yang memiliki banyak kesamaan dengan estradiol, jenis estrogen yang dominan (Jefferson *et al.*, 2002). Senyawa tersebut dapat secara langsung berikatan dengan reseptor estrogen dan berkompetisi dengan

estrogen endogen, sehingga dapat memberikan efek estrogenik maupun anti estrogenik (Kuiper *et al.*, 1998; Pilsakova *et al.*, 2010; Eden, 2012).

2.4.2 Komponen fitoestrogen

Fitoestrogen terdiri dari isoflavon (genistein, daidzein, glycitein, formononetin, equol dan biochanin A), lignan (enterolactone, enterodiol), para coumestanes (Coumestrol), flavonoid (quercetin, kaempferol), para stilbenes (resveratrol) dan mikotoksin (zearalenol). Keseluruhan senyawa tersebut adalah polifenol yang secara struktural menyerupai estrogen alami. Flavonoid tidak menunjukkan efek estrogenik, namun isoflavon (genistein, daidzein) dan beberapa flavon, flavanon dan flavonol (apigenin, kaempferol dan naringenin) mampu mengaktifkan reseptor estrogen yang dimediasi *signaling* (Moutsatsou, 2007; Proverawati, 2010).



Gambar 2.2 Kesamaan struktural 17β-estradiol dan fitoestrogen

Fitoestrogen memiliki dua gugus hidroksil (OH) yang berjarak 11,0 – 11,5 Å pada intinya, sama persis dengan estrogen (Bhupathy *et al.*, 2010).

Potensi fitoestrogen dalam mengaktifkan transkripsi gen estrogen-responsif adalah $\pm 1000 - 10.000$ kali lipat lebih sedikit dibandingkan dengan 17β -estradiol, hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan dengan 17β -estradiol, genistein dan daidzein memiliki efek estrogen genomik lemah (Bhupathy *et al.*, 2010). Estrogen eksogen memiliki afinitas yang jauh lebih rendah (hingga 100 kali lipat) terhadap nuclear reseptor dibandingkan dengan ligan estrogen endogen (E_2) (Potocka *et al.*, 2013). Fitoestrogen memiliki dua gugus hidroksil (-OH) yang berjarak $11,0 - 11,5 \text{ \AA}$ pada intinya, sama persis dengan estrogen. Jarak 11 \AA dan gugus (-OH) inilah yang menjadi struktur pokok suatu substrat agar mempunyai efek estrogenik, sehingga mampu mengisi, menduduki serta mengambil alih estrogen receptors (ER) (Achadiat, 2007). Elemen struktural yang berperan penting untuk efeknya yang mirip estradiol antara lain:

- 1) Cincin fenolik yang sangat diperlukan untuk mengikat reseptor estrogen
- 2) Cincin isoflavon yang mirip cincin estrogen pada reseptor *binding site*
- 3) Berat molekul yang ringan menyerupai estrogen (BM=272)
- 4) Jarak antara 2 grup hidroksil pada nukleus isoflavon mirip dengan jarak pada estradiol
- 5) Pola hidroksilasi yang optimal (Yildiz, 2005)

Fitoestrogen dikenal dapat bertindak sebagai SERM dan dapat dipertimbangkan untuk pencegahan penyakit kardiovaskular tanpa efek

buruk pada payudara dan rahim. Fitoestrogen mengikat ER β dengan afinitas lebih tinggi daripada ER α , oleh karena itu fitoestrogen memberikan bermanfaat dalam jaringan di mana dimediasi ER β memainkan peran penting seperti dalam ovarium, sistem kardiovaskular, dan otak (Moutsatsou, 2007; Pilsakova, 2010).

2.4.3 Metabolisme fitoestrogen

Fitoestrogen terdapat dalam tanaman sebagai konjugat glikosidik inaktif. Dalam usus, fitoestrogen dihidrolisis oleh aksi UDP-glucuronosyltransferase yang disekresikan oleh bakteri usus ke bentuk aktif aglikon. Aglikon kemudian diserap oleh saluran usus. Memasuki sirkulasi, aglikon mengalami metabolisme yang luas melalui berbagai reaksi seperti demethylation, metilasi, hidroksilasi, klorinasi, iodinasi, dan nitrasi untuk senyawa lainnya. Metabolit ini kemudian diangkut ke hati dimana akan mengalami konjugasi untuk membentuk β -glucuronides dan sulfat ester. Dalam hati beberapa glucuronides mengalami fermentasi lebih lanjut ke metabolit lain yang bervariasi tergantung pada kelas fitoestrogen. Para glucuronides diekskresikan dalam empedu dan sebagian diserap kembali melalui sirkulasi enterohepatik. Fitoestrogen diekskresikan dalam empedu dan urin sebagai glucuronides terkonjugasi dan feses dalam bentuk tak terkonjugasi (Gencel *et al.*, 2013).

2.4.4 Isoflavon

Fitoestrogen yang paling banyak dipelajari dan yang paling dominan adalah isoflavon. Isoflavonoid merupakan subklas dari flavonoid, di mana satu cincin fenolik telah bermigrasi dari C-3 ke C-2. Ada lebih dari 1000 jenis isoflavon termasuk genistein, daidzein, genistin, daidzin, formononetin, biochanin-A dan equol. Isoflavon yang paling sering diteliti adalah genistein, daidzein dan metabolit equol (Gencel *et al.*, 2013). Daidzein dapat dibentuk dari formononetin dan dalam usus selanjutnya dimetabolisme menjadi equol dan 0-desmethylangolensin (0-DMA). Genistein dapat diproduksi dari biochanin-A. Genistein, daidzein, equol and 0-DMA dapat ditemukan dalam darah manusia (Eden, 2012).

Senyawa isoflavon yang terdiri dari genistein dan daidzein terbukti mempunyai efek hormonal, khususnya efek estrogenik. Jalur klasik estrogen dan fitoestrogen dimediasi melalui aktivasi transkripsi oleh gen-gen yang responsive terhadap estrogen antara lain target gen eNOS, MnSOD, dan cytochrom-o-oxidase dan melibatkan reseptor estrogen intraseluler (Mahn *et al.*, 2005). Genistein merupakan isoflavon utama yang ditemukan dalam fitoestrogen, dan memiliki kesamaan struktur dengan 17β -estradiol (Lee *et al.*, 2004).

Pada orang dewasa, konsumsi 50 mg/hari isoflavon dapat meningkatkan konsentrasi plasma mulai dari 200-3000 nM (Moutsatsou, 2007). Dalam serum darah, tingkat tertinggi isoflavon dicapai dalam waktu 2-8 jam setelah dikonsumsi (Pilsakova *et al.*, 2010).

a. Mekanisme kerja isoflavon fitoestrogen secara umum dibagi menjadi 2, yaitu:

1) Mekanisme genomik, yaitu aktivasi / inaktivasi ER (*Receptor-dependent*)

Mekanisme kerja genomik merupakan mekanisme melalui aktivasi estrogen reseptor yang menimbulkan efek estrogenic dan efek antiestrogenik (Darmadi dkk., 2011). Aksi *genomic* melibatkan reseptor estrogen yang terletak di inti nukleus (*nuclear receptors*). Ikatan antara ligan dan reseptor atau molekul agonis akan menyebabkan perubahan formasi pada reseptor estrogen dan akan membentuk dimerisasi yaitu homodimer atau heterodimer kemudian akan berikatan dengan daerah promotor yang dinamakan *Estrogen Response Element* (ERE) pada gen target dan akan mengatur terjadinya proses transkripsi gen. Aksi biologis ini memerlukan waktu yang lama dan sensitif terhadap inhibitor transkripsi demikian halnya dengan inhibitor translasi (Losel *et al*, 2003).

Isoflavon mampu mengikat reseptor estrogen (ER), atas dasar kesamaan struktur dengan 17β -estradiol. ER α memainkan peran utama dalam mediasi aksi estrogen dalam rahim, hipotalamus / hipofisis, kerangka, dan target jaringan estrogen klasik lainnya. Beberapa isoflavon modulator selektif reseptor estrogen memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk ER β daripada ER α (Branham *et al.*, 2002).

Mekanisme genomik fitoestrogen melalui 2 cara yaitu pertama fitoestrogen langsung berikatan dengan reseptor estrogen berupa transkripsi gen sehingga dapat menimbulkan efek seperti estrogen (efek estrogenic), kedua, fitoestrogen tidak langsung berikatan dengan reseptor estrogen

(*indirect genomic*) dengan mempengaruhi kadar estrogen endogen dalam sirkulasi (mekanisme kompetitif inhibitor)(Sutrisno, 2010). Ikatan fitoestrogen dengan reseptor estrogen diklasifikasikan menjadi 3 kelas, yaitu fitoestrogen yang berikatan dengan ER- α adalah prenylnaringenin dan fitoestrogen yang berikatan dengan ER- β adalah genestein atau silibinin. Fitoestrogen yang tidak berikatan dengan ER- α dan ER- β adalah zearalenone (Duffy et al., 2007; Darmadi dkk., 2011). Fitoestrogen yang paling estrogenic adalah genestein dan metabolit daidzein yaitu equal (Darmadi dkk., 2011).

Genistein memiliki afinitas lebih besar daripada deidzein terhadap estrogen receptors β (ER- β), namun efek genistein lebih efektif pada estrogen reseptor α (ER- α) daripada estrogen reseptors β (ER- β). Hal ini terjadi karena ikatan reseptor α bersifat agonis penuh, dan reseptor β agonis parsial (Sutrisno, 2010).

Ketika kadar estrogen rendah yaitu saat pascamenopause, maka isoflavon bersifat estrogenic dengan cara mengambil alih estrogen endogen untuk berikatan dengan reseptor estrogen begitu sebaliknya ketika kadar estrogen tinggi yaitu masa pramenopause, fitoestrogen bekerja sebagai antiestrogen dengan cara berkompetitif dengan estrogen reseptors. Isoflavon pada mekanisme ini diduga mampu mempengaruhi kerja hipotalamus untuk mengendalikan aktivitas estrogen sehingga mengurangi dan menurunkan beberapa keluhan pada wanita menopause (Winarsih, 2004).

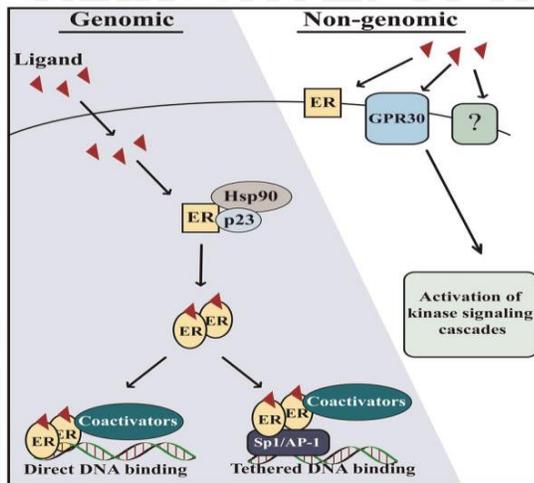
Tabel 2.1 Afinitas ikatan 17β -estradiol dan fitoestrogens untuk reseptor estrogen α dan reseptor estrogen β

Compound	Genomic estrogenic activity
17β -estradiol	100.00
Genistein	0.08
Daidzein	0.013
Equol	0.06

Sumber : Bhupathy *et al.*, 2010

2) Mekanisme non-genomik (aktivasi tidak langsung melalui estrogen reseptors)

Melibatkan reseptor estrogen yang berada di luar nukleus (*extranuclear*) dalam hal ini adalah reseptor estrogen yang berada di membran sel dan sitosol (Razandi *et al.*, 2002). Mekanisme *non genomic* juga bekerja untuk menghambat tyrosin kinase, penghambatan angiogenesis, rangsangan *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG), penghambatan 5α reduktase, 17β -OH-steroid-dehydrogenase dan enzim aromatase (Losel *et al.*, 2003; Cassida,2003; Duffy, 2007).



Gambar 2.3 Jalur sinyal reseptor estrogen

Sinyal genomik terjadi ketika ligan masuk sel dan mengikat ER untuk menginduksi dimerisasi. ER dimer mengikat DNA langsung di urutan ERE atau secara tidak langsung dengan penarikan DNA melalui faktor-faktor transkripsi lain seperti SP1 atau AP-1. Sinyal non-genomik terjadi ketika ligan mengikat reseptor terikat membran, yang mengarah ke aktivasi kaskade kinase signaling (Shanle *and* Xu, 2011).

Pengaruh isoflavon tergantung pada tingkat estradiol endogen. Estrogen eksogen mempengaruhi target melalui jalur genomik atau non-genomik klasik. Kemiripannya dengan hormon estrogen endogen, mengakibatkan senyawa ini dapat berikatan dengan nuclear reseptor. Kecocokan mereka dengan ER α dan ER β relatif lebih lemah dibandingkan dengan E2 endogen, dengan demikian, estrogen eksogen memiliki aktivitas agonis atau antagonis tergantung pada kehadiran E2 (Shanle *and* Xu, 2011), karena isoflavon dan estradiol bersaing untuk mengikat ERs (Pilsakova *et al.*, 2010). Dalam keadaan tingkat tinggi estrogen

endogen (misalnya perempuan dalam fase folikuler dari siklus menstruasi), isoflavon dapat menghambat estrogen dengan menduduki bagian dari ERs. Di lain sisi, dengan tingkat estrogen endogen rendah (pria, wanita menopause, setelah ovariectomi, dll), aktivitas estrogen isoflavon dapat menjadi manifest (Pilsakova *et al.*, 2010).

3) Kemiripan sifat estrogenic estrogen (Estradiol) dengan isoflavon

Sifat estrogenic dari isoflavon disebabkan oleh cincin A-C mirip cincin A-B pada estrogen pada estrogen dan mirip kelompok hidroksil dalam posisi 5, sehingga memainkan peranan penting dalam meningkatkan aktifitas estrogen. Isoflavon pada menopause bersifat estrogenic dengan cara mengambil alih estrogen endogen untuk berikatan dengan reseptor estrogen sehingga memiliki efek positif untuk mengurangi keluhan pada menopause (Darmadi, dkk., 2011).

4) Farmakologi estrogen dan Isoflavon terhadap estrogen reseptors (ER)

Adapun farmakologi kerja isoflavon terhadap estrogen reseptor (ER) hamper sama atau mirip dengan farmakologi kerja estrogen endogen terhadap estrogen reseptors (ER) namun efek estrogeniknya lebih rendah. Berikut ini adalah kerja isoflavon terhadap estrogen reseptor (ER) : isoflavon bekerja melalui estrogen reseptor (ER) yaitu Selecsive Reseptor Estrogen Modulator (SERMs) (Prawirohardjo, 2003) yang mempunyai kemampuan berikatan dengan reseptor estrogen (Setchell and Kenneth, 2001). Isoflavon mempunyai efek estrogenic yang mirip dengan estrogen ketika berikatan dengan reseptor estrogen pada kondisi menopause. Sehingga dapat

mengurangi dan mencegah penyakit kardiovaskuler dan osteoporosis akibat menopause (Proverawati, 2010). Namun jika kadar estrogen dalam tubuh tinggi, isoflavon dapat bersifat antiestrogenik (antagonis), dapat menghilangkan keluhan prahaid pada wanita usia muda, mengurangi pembesaran mioma uterus, mengurangi keluhan akibat endometriosis, dan untuk pengobatan hiperplasia endometrium (Prawirohardjo, 2003). Menurunkan resiko kanker payudara (Proverawati, 2010).

2.5 Kacang Tunggak

2.5.1 Definisi

Vigna unguiculata atau lebih dikenal dengan Kacang Tunggak merupakan salah satu anggota dari genus *Vigna* dan dikenal dengan nama umum *Cowpea*. Di Indonesia *Vigna unguiculata* dikenal dengan nama kacang tunggak atau kacang tolo (Trustinah, 1998).

Tanaman kacang tunggak mempunyai daya adaptasi yang luas terhadap lingkungan tumbuh. Tanaman kacang tunggak dapat tumbuh dan berproduksi baik di dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian \pm 1.500 m dpl (Rukmana dan Oesman, 2004). Kacang tunggak termasuk jenis tanaman setahun, mempunyai kisaran adaptasi yang cukup luas di daerah tropis dan subtropis beriklim kering hingga agak kering serta relatif tahan terhadap kekeringan (Karsono, 1998). Hal ini terkait dengan salah satu sifat unggul tanaman kacang tunggak yang toleran terhadap kekeringan dibanding jenis tanaman kacang-kacangan yang lain.

Suhu merupakan unsur iklim yang cukup penting bagi pertumbuhan tanaman. Suhu optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan kacang tunggak berkisar antara 25-30°C. Di bawah suhu 25°C mengakibatkan tanaman tidak tumbuh normal bahkan dapat mati. Di atas suhu 35°C dapat mengakibatkan kerontokan bunga dan polong (Luadtong, 1993). Tanaman kacang tunggak dapat ditanam pada berbagai jenis tanah baik yang bertekstur ringan/pasir maupun bertekstur berat/liat, tetapi tumbuh optimum pada jenis tanah berpasir dan berdrainase lancar, serta cukup kandungan hara seperti fosfat (P) dan kalium (K). Kacang tunggak tidak tenggang terhadap genangan air (Karsono, 1998)

2.5.2 Kandungan Kacang Tunggak

Kacang tunggak merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang mengandung protein cukup tinggi, selain itu harganya pun relatif terjangkau. Biji kacang tunggak yang telah matang pada pengukuran 100 gram mengandung 10 gram air, 22 gram protein, 1,4 gram lemak, 51 gram karbohidrat, 3,7 gram vitamin, 3,7 karbon, 104 mg kalsium dan nutrisi lainnya. Energi yang dihasilkannya sekitarnya sekitar 1420 kj/100 gram. Pada biji yang masih muda dalam 100 gram mengandung 88,3 air, 3 gram protein, 0,2 gram lemak, 7,9 gram karbohidrat, 1,6 vitamin, 0,6 karbon, dan energi yang dihasilkannya sekitar 155 kj/100 gram, sedangkan setiap 100 gram kacang kedelai mengandung protein 30,2 gram, lemak 15,6 gram dan

karbohidrat 30,1 gram (Purwanti, 2010). Jika dibandingkan, lemak kacang tunggak lebih rendah daripada kacang kedelai.

Kacang tunggak mengandung berbagai isoflavon yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi, antara lain genistein, quercetin, dan daidzein (Kritzinger., 2005). Kacang tunggak merupakan salah satu sumber fitoestrogen. Penggunaan fitoestrogen memiliki efek keamanan yang lebih baik dibandingkan dengan estrogen sintetis atau obat-obatan (*Hormone Replacement Therapy*) (Achadiat, 2003).

2.5.3 Mekanisme kerja fitoestrogen Kacang Tunggak terhadap ER

Ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mempunyai kandungan fitoestrogen (Prawirohardjo, 2003). Fitoestrogen mempengaruhi kesehatan manusia lewat mekanisme *genomic* dan *nongenomic* (Darmadi dkk., 2011). Fitoestrogen dapat melewati membran sel dan berinteraksi dengan reseptor dan enzim karena fitoestrogen mempunyai berat molekul kecil.

2.5.4 Efek isoflavon Kacang Tunggak pada proliferasi epitel vesika urinaria

Ikatan isoflavon (genistein) yang terkandung pada kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan estrogen reseptor dan menghasilkan efek estrogenic yang mirip estrogen endogen walaupun efek estrogeniknya lemah. Isoflavon (genistein) menempati sisi aktif reseptor estrogen dan mengambil alih ikatan estrogen endogen. Sehingga estrogen endogen tidak dapat berikatan dengan reseptor estrogen. Dalam hal ini isoflavon (genistein)

menggantikan peran estrogen endogen dan mengendalikan aktivitasnya untuk mengatasi beberapa sindrom menopause (Prawirohardjo, 2003; Winarsih dkk., 2004).

Genistein dapat mempengaruhi kesehatan manusia lewat mekanisme genomic yaitu efek estrogenic pada estrogen reseptor yang terjadi saat kadar estrogen rendah yang dialami perempuan menopause. Genistein mengambil alih efek estrogen endogen dengan cara berikatan dengan estrogen reseptor (ER- α) pada vagina (Prawirohardjo, 2003). Genistein mampu mengubah konformasi estrogen reseptor (Wang et al, 1999). Perubahan konformasi menyebabkan ikatan genistein dengan estrogen reseptor menjadi aktif sehingga mampu berikatan dengan site binding pada sisi akseptor rantai DNA. Interaksi genistein dengan estrogen reseptor pada sisi akseptor DNA menyebabkan ekspresi gen meningkat. Ekspresi gen dikatalisis oleh enzim RNA polymerase yang menyebabkan peningkatan mRNA. Pada sisi lain, tRNA juga meningkat sehingga pada akhirnya sintesis materi sel menjadi meningkat menyebabkan aktivitas proliferasi sel epitel (Buchanan et al., 1998).

Genistein juga secara tidak langsung dapat berikatan dengan estrogen α stroma reseptor (Cooke et al, 1998), mengaktifkan *Epidermal Growth Factor* (EGF) yang merupakan faktor parakrin. EGF teraktivasi berupa tirosin kinase yang terdapat pada epitel. EGF dan tirosin kinase mengaktifkan protein kinase dalam sitoplasma sel. Protein kinase teraktivasi berupa Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) yang menjadi sinyal utama

pengaktivasi transkripsi dan translasi sehingga terjadi sintesa protein yang diperlukan untuk mitosis sel-sel epitel. Mitosis sel epitel menyebabkan proliferasi sel epitel (Buchanan et al, 1998).

2.6 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar

Hewan model adalah hewan yang memiliki respon alami ataupun respon buatan dan memiliki sifat atau karakteristik yang mirip (sebagian atau keseluruhan) dengan yang terjadi pada manusia (Giri, 2008 dalam Donna, 2010). Ukuran tubuh tikus lebih besar dari pada mencit, kemampuan reproduksi yang tinggi, sehingga membuat tikus lebih disukai untuk berbagai penelitian, disamping itu tikus tidak pernah muntah dan tikus tidak memiliki kelenjar empedu (Kusumawati, 2004). Tikus yang sering digunakan sebagai hewan percobaan merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus* (Putra, 2009).

Rattus norvegicus Wistar sebagai hewan coba mempunyai kelebihan bila dibandingkan dengan mice ataupun marmut, yaitu *Rattus norvegicus* Wistar lebih tahan terhadap perlakuan ovariectomi serta mempunyai ukuran tubuh tidak terlalu kecil sehingga memudahkan untuk dilakukan *ovariectomy*

Galur tikus Wistar, memiliki ciri-ciri berupa kepala yang lebar, telinga yang panjang, dan ekor yang lebih pendek dari panjang badannya. Tikus tergolong sebagai hewan yang makan pada malam hari (*noctural*) dan tidur pada siang hari kecuali bila ada gangguan, misalnya selama percobaan berlangsung. Karakteristik lain dari tikus adalah : tidak mempunyai kantung

empedu (*gall blader*), tidak dapat memuntahkan kembali isi perutnya, tidak pernah berhenti tumbuh, namun kecepatan pertumbuhannya akan menurun setelah berumur 100 hari. Zat-zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan tikus hampir sama dengan manusia yaitu: (1) karbohidrat, terdiri dari pati, gula, dan selulosa, (2) minyak/lemak, asam lemak esensial (terutama linoleat dan linolenat), bila kekurangan asam lemak esensial kulitnya bersisik, pertumbuhannya terhambat, dan dapat menimbulkan kematian, (3) protein, asam-asam amino esensial bagi tikus ada 10 macam, yaitu : lisin, triptofan, histidin, fenilalanin, leusin, isoleusin, treonin, metionin, valin, dan arginin, (4) mineral atau elemen anorganik terdiri dari makro elemen: Ca, P, Mg, K, Na, Cl, S, serta mikro elemen: Fe, Sn, Co, Mn, Se, I, Zn, Mo, (5) vitamin, terdiri dari vitamin larut lemak (A, D, E, dan K), serta vitamin larut air (tiamin/B1, riboflavin, niasin/asam nikotinat, piridoksin/B6, asam pantotenat, asam folat, sianokobalamin/B12, kolin, dan biotin). Klasifikasi sebagai berikut:

Nama ilmiah : *Rattus norvegicus*

Strain : Wistar

Berat badan dewasa : betina 180-220 gr

Rentang usia : 2- 3 tahun

Usia awal kawin : betina 8-10 minggu

Siklus estrus : 4 - 5 hari

Durasi estrus : 9 - 20 jam