



HALAMAN JUDUL

**PERBANDINGAN EFEK *ENDOCRINE DISRUPTOR*
SUPLEMENTASI SUSU KEDELAI DAN GENISTEIN PADA
TIKUS SPRAGUE DAWLEY JANTAN: TINJAUAN
BERDASARKAN KADAR TPO, T3, T4, DAN TSH**

TESIS

**Diajukan Guna Melengkapi Tugas-tugas dan Untuk Memenuhi
Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam**



Oleh

**dr. Rahmad Budiarto
NIM. 158070200111001**

Pembimbing

**Prof. dr. Djoko Wahono Soeatmadji, Sp.PD-KEMD
dr. Rulli Rosandi, Sp.PD-KEMD**

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU PENYAKIT DALAM I

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RUMAH SAKIT UMUM DR. SAIFUL ANWAR MALANG

2019



LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIR

**PERBANDINGAN EFEK *ENDOCRINE DISRUPTOR* SUPLEMENTASI SUSU
KEDELAI DAN GENISTEIN PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* JANTAN :
TINJAUAN BERDASARKAN KADAR TPO, T3, T4, DAN TSH**

Diajukan Guna Melengkapi Tugas-tugas dan Untuk Memenuhi
Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam

Oleh
dr. Rahmad Budianto
NIM.158070200111001

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. dr. Dioko Wahono Soeatmadji, Sp.PD-KEMD
NIK. 91044258

dr. Rulli Rosandi, Sp.PD-KEMD
NIP. 19770912 200312 1 014

Mengetahui,

KPS-PPDS Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
RSUD dr. Saiful Anwar Malang

dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD-KEMD, FINASIM
NIP. 19560503 198403 1 008



PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam karya akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia karya akhir ini digugurkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, Oktober 2019

Penulis

Nama : Rahmad Budiarto

NIM : 158070200111001

PS : Ilmu Kedokteran

Prog : PPDS-1

Fak : Kedokteran UB



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur senantiasa kami panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Kuasa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga karya akhir dengan judul **“Perbandingan Efek *Endocrine Disruptor* Suplementasi Susu Kedelai dan Genistein pada Tikus *Sprague Dawley* Jantan: Tinjauan Berdasarkan Kadar TPO, T3, T4, dan TSH”** ini dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada semua pihak yang telah berjasa dalam pelaksanaan penelitian ini, antara lain kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
2. Direktur RSUD dr. Saiful Anwar Malang
3. dr. Budi Darmawan Machsoos, Sp.PD-KHOM, FINASIM selaku Kepala Departemen SMF Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD dr. Saiful Anwar Malang.
4. dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD-KEMD, FINASIM selaku Ketua Program Studi dan dr. Djoko Heri Hermanto, Sp.PD-KHOM, FINASIM selaku Sekretaris Program Studi Pendidikan PPDS Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD dr. Saiful Anwar Malang.
5. Prof. dr. Djoko Wahono Soeatmadji, Sp.PD-KEMD dan dr. Rulli Rosandi, Sp.PD-KEMD selaku pembimbing penelitian yang senantiasa mengarahkan, memotivasi, dan memberikan jalan keluar atas permasalahan yang muncul dalam proses pengerjaan penelitian ini.
6. Prof. Dr. dr. Handono Kalim, Sp.PD-KR, Prof. dr. Djoko Wahono Soeatmadji, Sp.PD-KEMD, Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, Sp.PD, Sp.JP(K), (Alm) Prof. Dr.



dr. Harijono Achmad, Sp.PD-KGEH, Prof. Dr. dr. A. Rudijanto, Sp.PD-KEMD, dr. Gatot Ismanoe, Sp.PD-KPTI, Dr. dr. Atma Gunawan, Sp.PD-KGH, dr. Nursamsu, Sp.PD-KGH, dr. B.P. Putra Suryana, Sp.PD-KR, Dr. dr. C. Singgih Wahono, Sp.PD-KR, dr. Bogi Pratomo, Sp.PD-KGEH, dr. Supriono, Sp.PD-KGEH, dr. Niniek Budiarti, Sp.PD-KPTI, dr. Sri Sunarti, Sp.PD-KGer, dr. Gadis Nurlaila M., Sp.PD, dr. Laksmi Sasiarini, Sp.PD-KEMD, dr. Didi Candradikusuma, Sp.PD-KPTI, dr. Rulli Rosandi Sp.PD-KEMD, dr. Shinta Oktya Wardhani, Sp.PD dr. Syifa Mustika, Sp.PD-KGEH, dr. Dewi Indiasari, Sp.PD, dr. Heri Sutanto, Sp.PD, dr. Achmad Rifa'i, Sp.PD, dr. Herwindo Pudjo, Sp.PD, dr. Muhammad Anshory, Sp.PD, dr. Perdana Aditya, Sp.PD, dan dr. Siti Fatma, Sp.PD atas segala saran, masukan dan bimbingannya selama saya menempuh pendidikan PPDS Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RUSD dr. Saiful Anwar Malang.

7. Mbak Sari, Mbak Aini, Bu Ketut, Mbak Thia, Mbak Winda, Mbak Heni, Mbak Eme, Mbak Desi, Mbak Datik, Mbak Riska, Mbak Nana, Mbak Laili, Mbak Denis, Mbak Arin, Mbak Mayang, Mbak Ajeng, Mbak Rosi, Mbak Ita, Pak Agus dan karyawan lainnya yang turut membantu selama saya menjalani pendidikan.
8. Rasa syukur, cinta, dan sujud kepada orang tua tercinta H.Djoko Sumpeno, Hj. Nurhayani, S.Pd, H. Tajuin Kibli, Hj. Nursilah, S.Pd (almh) yang memberikan restu, dukungan, dan doa tiada henti.
9. Istri tercinta dr. Nini Takarini serta ananda tersayang Mutiara Amira Aisyah dan Berlian Nur Assyifa, terima kasih atas kesetiaan, kesabaran, pengertian, dan cinta kasih yang menjadi penyemangat selama saya menjalani pendidikan.



10. Teman-teman seperjuangan saya angkatan 38 PPDS IPD FKUB/RSSA antara lain dr. M. Jalalul Marzuki, dr. Aktaruddin Arief Santoso, dr. Rifal Rinaldi, dr. Imanudin Nasution, dr. Bobi Y. Sewow, dr. Fadhila Nurisa, dr. Irma Chadra Pratiwi, dr. Yuni Dian Lestari yang telah senantiasa mendukung, saling mengisi, dan memotivasi sebagai suatu tim dan keluarga.

11. Tim penelitian saya dr. Wardhana, Sp.PD-KEMD, dr. Leny Puspitasari, Sp.PD-KEMD, dr. Aktaruddin Arief Santoso, dr. Imanudin Nasution, dr. Bobi Y. Sewow, dan dr. Fadhila Nuvrisa yang saling mendukung dan memotivasi dalam mengerjakan penelitian ini.

12. Seluruh rekan-rekan PPDS, Dokter Muda, Perawat, Tenaga Farmasi, Ahli Gizi, dan seluruh karyawan FKUB/RSSA yang telah membantu saya menjalankan tugas sebagai PPDS IPD FKUB/RSSA.

13. *The last but not least* kepada semua pasien yang telah mendermakan jiwa dan raganya demi kemajuan ilmu pengetahuan di bidang Ilmu Penyakit Dalam.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Penyakit Dalam serta kepentingan masyarakat, bangsa, dan negara. Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih banyak kekurangan, dengan demikian penulis memohon saran dan masukan demi kesempurnaan penelitian ini.

Malang, Oktober 2019

dr. Rahmad Budianto



Abstrak

Latar belakang: Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu komoditas pangan terpenting di Indonesia. Manfaat konsumsi kedelai bagi kesehatan manusia saat ini tengah diperdebatkan. Konsumsi kedelai dianggap dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler, perlindungan terhadap berbagai jenis kanker, pencegahan osteoporosis, dan merupakan terapi efektif bagi gejala menstruasi. Kedelai mengandung isoflavon yang dapat menghambat enzim peroksidase dan menghambat sintesis hormon tiroid. Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa isoflavon yang terkandung dalam kedelai dapat menghambat sintesis *thyroglobulin* dan hormon tiroid, menghambat absorpsi T4, dan mempengaruhi kerja hormon tiroid. Hal ini dikarenakan kedelai mengandung genistein yang dapat menghambat enzim peroksidase dan menghambat sintesis hormon tiroid.

Tujuan penelitian: Membandingkan efek *endocrine disruptor* suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap status tiroid dengan mengukur kadar serum *triiodothyronine* (T3), *thyroxine* (T4), *thyroid stimulating hormone* (TSH), dan *thyroid peroxidase* (TPO).

Metode penelitian: Sebanyak 25 ekor tikus *Sprague dawley* jantan terbagi atas 7 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan pakan standar, kelompok kontrol positif dengan suplementasi genistein murni dengan dosis kecil, dosis sedang, dan dosis besar, serta kelompok perlakuan dengan suplementasi susu kedelai dengan dosis kecil, dosis sedang, dan dosis besar. Suplementasi genistein dan susu kedelai diberikan selama 60 hari. Pada akhir perlakuan dilakukan pemeriksaan kadar serum T3, T4, TSH, dan TPO. Analisis komparasi variabel dependen dilakukan menggunakan uji *oneway ANOVA* diikuti uji *posthoc test Tukey*.

Hasil: Suplementasi susu kedelai meningkatkan kadar TPO dibandingkan kontrol ($p < 0,05$), sedangkan suplementasi genistein menyebabkan tren penurunan kadar TPO ($p > 0,05$). Suplementasi susu kedelai meningkatkan kadar T3 ($p > 0,05$), sedangkan suplementasi genistein menyebabkan penurunan kadar T3 ($p > 0,05$). Suplementasi suplementasi susu kedelai dan genistein dosis sedang dan dosis tinggi menurunkan kadar serum T4 dibandingkan suplementasi dosis rendah ($p < 0,05$). Akan tetapi, penurunan kadar serum T4 tersebut tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Suplementasi susu kedelai dosis tinggi menurunkan kadar TSH dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Sedangkan suplementasi genistein murni dosis kecil, sedang, dan tinggi menurunkan kadar TSH dibandingkan kontrol ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Suplementasi susu kedelai dan genistein tidak berpengaruh pada status hormon tiroid pada tikus *Sprague dawley* jantan.

Kata kunci: susu kedelai, genistein, T3, T4, TPO, TSH



Abstract

Background: Soy (*Glycine max*) is one of the most important food commodities in Indonesia. The benefits of soy consumption for human health are currently being debated. Soy consumption is considered to reduce the risk of cardiovascular disease, protection against cancer, prevention of osteoporosis, and overcoming menstrual symptoms. Some trials conclude that isoflavones in soy can inhibit the synthesis of thyroglobulin and thyroid hormone, inhibit T4 absorption, and affect thyroid hormone activities. It since soybeans contain genistein which inhibit the peroxidase enzyme and thyroid hormone synthesis.

Objectives : Comparing the endocrine disruptors effect on thyroid status after supplementaion of soymilk and genistein by measuring serum triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), thyroid stimulating hormone (TSH), and thyroid peroxidase (TPO) levels.

Methods : A total of 25 male Sprague dawley rats were divided into 7 groups, ie negative control group which is only given standard feed, the positive control group given pure genistein supplementation at small doses, medium doses, and large doses, and trial group given soy milk supplementation at small doses, medium doses, and large doses. Genistein and soymik supplementation were given for 60 days. At the end of the trial, serum TPO, T3, T4, and TSH levels were measured. Comparative analysis of dependent variables by oneway ANOVA and posthoc test Tukey.

Results : Soymilk supplementation increased TPO levels compared to control ($p < 0,05$), whereas genistein supplementation tend to decrease TPO levels ($p > 0,05$). Soymilk supplementation increased T3 level ($p > 0,05$), while genistein decreased T3 level ($p > 0,05$). Soymilk and genistein supplementation at moderate and high doses reduced serum T4 levels compared to low doses ($p < 0,05$). However, the decrease in serum T4 levels was not significantly different from the control group ($p > 0,05$). Soymilk at high doses significantly reduced TSH levels compared to control group ($p < 0,05$). Whereas, genistein at small, medium, and high doses also significantly reduced TSH levels compared to control ($p < 0,05$).

Conclusion : Supplementation of soymilk and genistein did not affect the status of thyroid hormone in male Sprague dawley rats.

Kata kunci: soymilk, genistein, T3, T4, TPO, TSH



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIR.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
Abstrak.....	vii
<i>Abstract</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB II.....	6
TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Kedelai.....	6
2.2. Konsumsi Kedelai di Indonesia.....	9
2.3. Produk Olahan Kedelai : susu kedelai.....	11
2.4. Kedelai : sumber fitoestrogen dalam diet.....	13
2.5. Fitoestrogen.....	15
2.5.1. Definisi Fitoestrogen.....	15
2.5.2. Klasifikasi Fitoestrogen.....	17
2.5.3. Sumber dan Metabolisme Fitoestrogen.....	20



2.5.4. Mekanisme kerja fitoestrogen	23
2.6. Genistein	26
2.6.1. Struktur Genistein	26
2.6.2. Sumber dan Metabolisme Genistein	28
2.6.3 Manfaat biologis genistein	29
2.6.4. Efek <i>Endocrine Disruptors</i> Genistein	31
2.7. Efek Goitrogenik Genistein	36
2.7.1. Fisiologi Hormon Tiroid	36
2.7.2. Efek Antitiroid Genistein	46
BAB III	49
KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN	49
3.1. Kerangka Teori Penelitian	49
3.2. Kerangka Konsep Penelitian	51
3.3. Hipotesis Penelitian	52
BAB IV	53
METODE PENELITIAN	53
4.1 Desain Penelitian	53
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	53
4.3 Sampel Penelitian	53
4.3.1 Pemilihan Sampel	53
4.3.2 Estimasi Besar Sampel	54
4.4 Variabel Penelitian	55
4.4.1 Variabel Bebas (Variabel Independen)	55
4.4.2 Variabel Terikat (Variabel Dependen)	55
4.5 Definisi Operasional	55
4.6 Bahan dan Alat	57
4.6.1 Bahan dan alat untuk pemeliharaan hewan coba	57
4.6.2 Bahan dan alat untuk pembuatan larutan genistein	57
4.6.3 Bahan dan alat untuk pembuatan susu kedelai	58
4.6.4 Bahan dan Alat untuk Pemeriksaan Serum	58
4.6.5 Bahan dan Alat untuk Pemeriksaan ELISA	58
4.7 Prosedur Penelitian	59
4.7.1 Analisa kandungan genistein pada susu kedelai	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Kandungan utama kedelai	8
Gambar 2. 2	Konsumsi, produksi, impor kedelai Indonesia tahun 1983-2012	11
Gambar 2. 3	Struktur Molekul Isoflavon	14
Gambar 2. 4	Struktur molekul estradiol (E2) dan isoflavon.....	16
Gambar 2. 5	Klasifikasi estrogen yang diperoleh berdasarkan diet	17
Gambar 2. 6	Klasifikasi Fitoestrogen	18
Gambar 2. 7	Struktur Kimiawi 17 β -Estradiol dan beberapa jenis isoflavon.....	19
Gambar 2. 8	Metabolisme Fitoestrogen.....	21
Gambar 2. 9	Mekanisme kerja estrogen dan fitoestrogen	24
Gambar 2. 10	Model skematik mekanisme kerja fitoestrogen	25
Gambar 2. 11	Kemiripan struktur Genistein dan Estradiol.....	27
Gambar 2. 12	Efek molekuler genistein pada proses inflamasi.....	30
Gambar 2. 13	Mekanisme aksi <i>endocrine disruptors</i>	34
Gambar 2. 14	Aksis regulasi sintesis hormon tiroid	37
Gambar 2. 15	Biosintesis hormon tiroid.....	38
Gambar 2. 16	Peran <i>sodium iodide symporter</i> (SIS/NIS) dalam transportasi iodium masuk ke sel folikel.....	39
Gambar 2. 17	Tahap iodinasi tiroglobulin dalam sintesis tiroksin	43
Gambar 2. 18	Aktivitas seluler hormon tiroid.....	45
Gambar 2. 19	Mekanisme Antitirod Genistein	46
Gambar 3. 1	Kerangka Teori Penelitian.....	49
Gambar 3. 2	Kerangka Konsep Penelitian	51
Gambar 4. 1	Alur Penelitian.....	73
Gambar 5. 1	Grafik Perbandingan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian..	76
Gambar 5. 2	Grafik Perbandingan Panjang Tikus Awal dan Akhir Penelitian.....	77
Gambar 5. 3	Histogram Perbandingan Kadar TSH pada Kelompok Perlakuan ..	79
Gambar 5. 4	Hasil uji <i>post hoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar TSH kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.....	81
Gambar 5. 5	Hasil uji <i>post hoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar TSH kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein	81
Gambar 5. 6	Histogram Perbandingan Kadar TPO pada Kelompok Perlakuan...	82



Gambar 5. 7	Hasil uji <i>posthoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar TPO kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.....	84
Gambar 5. 8	Hasil uji <i>posthoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar TPO kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein.....	84
Gambar 5. 9	Histogram Perbandingan Kadar T3 pada Kelompok Perlakuan.....	85
Gambar 5. 10	Hasil uji <i>post hoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar T3 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.....	87
Gambar 5. 11	Hasil uji <i>post hoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar T3 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein.....	87
Gambar 5. 12	Histogram Perbandingan Kadar T4 pada Kelompok Perlakuan.....	88
Gambar 5. 13	Hasil uji <i>post hoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar T4 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.....	90
Gambar 5. 14	Hasil uji <i>post hoc test Tukey HSD</i> yang membandingkan kadar T4 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein.....	90
Gambar 6. 1	Produk <i>in vitro</i> reaksi antara genistein dan TPO.....	98
Gambar 6. 2	Skema sintesis hormon tiroid dan mekanisme pembentukan derivat genistein yang teriodinasi.....	99



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Perkembangan areal panen dan produksi kedelai di Indonesia	10
Tabel 2. 2	Komposisi nutrisi kedelai dan produk olahan per 100 g biji.....	12
Tabel 2. 3	Afinitas pengikatan relatif isoflavin terhadap ER α dan ER β	14
Tabel 2. 4	Isoflavin pada kedelai dan produk olahan kedelai.....	15
Tabel 4. 1	Konversi dosis genistein manusia ke dalam dosis genistein dan dosis susu kedelai pada tikus <i>Sprague dawley</i>	61
Tabel 4. 2	Perlakuan pada Kelompok 1.....	63
Tabel 4. 3	Perlakuan pada Kelompok 2.....	63
Tabel 4. 4	Perlakuan pada Kelompok 3.....	64
Tabel 4. 5	Perlakuan pada Kelompok 4.....	64
Tabel 4. 6	Perlakuan pada Kelompok 5.....	65
Tabel 4. 7	Perlakuan pada Kelompok 6.....	65
Tabel 4. 8	Perlakuan pada Kelompok 7.....	66
Tabel 5. 1	Karakteristik Hewan Coba.....	74
Tabel 5. 2	Perbandingan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian	75
Tabel 5. 3	Perbandingan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian.....	76
Tabel 5. 4	Hasil Uji Asumsi Normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	77
Tabel 5. 5	Hasil Uji Asumsi Homogenitas <i>Levene</i>	78
Tabel 5. 6	Perbandingan Kadar TSH pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji <i>Oneway ANOVA</i>	80
Tabel 5. 7	Perbandingan Kadar TPO pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji <i>Oneway ANOVA</i>	83
Tabel 5. 8	Perbandingan Kadar T3 serum pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji <i>Oneway ANOVA</i>	86
Tabel 5. 9	Perbandingan Kadar T4 serum pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji <i>Oneway ANOVA</i>	89
Tabel 5. 10	Hasil uji SEM pada tiap variabel dependen.....	91
Tabel 6. 1	Konsentrasi berbagai senyawa yang dapat menghambat 50% enzim <i>thyroid peroxidase</i>	100



DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosine Diphosphate
AHR	: the aryl hydrocarbon receptor
BPA	: Bisphenol A
cAMP	: Cyclic Adenosine Monophosphate
5'DI	: 5'deiodinase
DEHAL 1	: Iodotyrosine dehalogenase 1
DES	: Diethylbestrol
DIT	: 3,5-diiodotirosin
DM	: Diabetes Melitus
DUOX2	: Dual oxidase type 2
E2	: Estradiol
ED	: Endocrine Disruptors
EGF	: Epidermal Growth Factor
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	: Estrogen Receptors
ERE	: Estrogen Response Elements
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
GP1R	: G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1
HDL	: High-Density Lipoprotein
IGF I	: Insulin-Like Growth Factor I
IkB	: Inhibitory- κ B



HPLC : *High Performance Liquid Chromatography*

IUPAC : *International Union of Pure and Applied Chemistry*

LDL : *Low-Density Lipoprotein*

LH : *Luteinising Hormone*

MIT : *3-monoiodotirosin*

NADPH : *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*

NF- κ B : *Nuclear Factor- κ B*

NIS : *Na⁺/I⁻ Symporter*

OD : *Optical Density*

PAHs : *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*

PBBs : *Polybrominated Biphenyls*

PCBs : *Polychlorinated Biphenyls*

PCOS : *Polycystic Ovary Syndrome*

P-IRT : *Pangan-Industri Rumah Tangga*

PPAR : *Peroxisome-Proliferator-Activated Receptors*

PTK : *Protein Tyrosine Kinase*

RAR : *Retinoid Acid Receptor*

RBA : *Receptor Binding Affinity*

RS6 K : *Ribosomal S6 Kinase*

RXR : *Retinoid X Receptor*

RXR-DBD : *Retinoid X Receptor DNA-Binding Domain*

RXR-LBD : *Retinoid X Receptor Ligand-Binding Domain*

SEM : *Standard Error of Measurement*



SULT : Sulfotransferase

T3 : Triiodothyronine

T4 : Thyroxine (3,5,3',5'-tetraiodothyronine)

TBG : Thyroxin Binding Globulin

TBPA : Thyroxin Binding Prealbumin

TBPs : Thyroxine-Binding Proteins

Tg : Tiroglobulin

TGF β : Transforming Growth Factor β

THR : Thyroid Hormone Receptors

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

Topo II : Topoisomerase II

TPO : Thyroid Peroxidase/Tiroperoksidase

TR : Thyroid Hormone Receptor

TR-LBD : T_3 Receptor Ligand-Binding Domain

TRE : Thyroid Hormone Responsive Element

TSH : Thyroid Stimulating Hormone

TTR : Transthyretin

UGT : Uridine 5'-diphopho-glucuronosyltransferase

WHO : World Health Organization



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu dari tiga komoditas pangan terpenting setelah padi dan jagung di Indonesia. Komoditas ini digunakan untuk konsumsi pangan rumah tangga, industri, dan benih. Begitu besarnya kontribusi kedelai dalam hal penyediaan bahan pangan bergizi bagi manusia, maka kedelai dijuluki sebagai *Gold from the Soil* mengingat kualitas asam amino proteinnya yang tinggi, seimbang, dan lengkap (Aldillah, 2015). Dalam 13 tahun terakhir, konsumsi dan produk olahannya cenderung meningkat. Pada tahun 2015, konsumsi kedelai di Indonesia mencapai 2,54 juta ton biji kering yang terdiri atas konsumsi langsung penduduk 2,3 juta ton, benih 39.000 ton, industri non makanan 446.000 ton, dan susu kedelai 49.000 ton (Krisnawati, 2017; Natalia et al., 2017). Perkembangan industri pangan berbahan baku kedelai dan industri pakan telah menyebabkan permintaan akan kedelai terus meningkat jauh melampaui produksi dalam negeri (Sudaryanto and Swastika, 2007, Zakaria et al., 2016, Aimon and Satrianto, 2014).

Di negara-negara Asia termasuk Indonesia, kedelai digunakan terutama sebagai bahan pangan dan pakan ternak. Produk olahan kedelai sebagai bahan makanan berasal dari berbagai proses termasuk fortifikasi, fermentasi, dan nonfermentasi. Bahan fortifikasi berasal dari tepung kedelai yang kaya gizi. Produk fermentasi berupa tempe, kecap, tauco, miso, dan tahu. Sedangkan produk



nonfermentasi antara lain kedelai segar, tahu, kembang tahu, burger, es krim, daging sintetik, campuran kue dan roti, dan susu kedelai (Krisnawati, 2017).

Pola hidup dan gaya hidup sehat telah mengalihkan perhatian konsumen dari susu sapi ke susu kedelai. Hal tersebut dikarenakan susu sapi memiliki kandungan lemak yang relatif cukup tinggi dibandingkan susu kedelai. Susu kedelai mengandung protein lebih dari 40%, tidak mengandung kolesterol, kadar asam lemak jenuh rendah, dan 60% kandungannya terdiri dari asam lemak tidak jenuh (linoleat dan linolenat) yang baik bagi kesehatan jantung (Sawitri et al., 2017; Santos et al., 2017). Susu kedelai secara bermakna dapat meningkatkan kadar *high-density lipoprotein* (HDL) dan menurunkan kadar *low-density lipoprotein* (LDL) pada pasien diabetes mellitus (DM) tipe 2 (Feizollahzadeh et al., 2017). Selain itu, susu kedelai yang mengandung isoflavon diketahui dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler pada wanita menopause (Bhuiyan et al., 2016).

Susu kedelai merupakan alternatif bagi anak-anak yang memiliki risiko tinggi terjadinya alergi dan intoleransi laktosa. Susu kedelai direkomendasikan karena kandungan nutrisi berupa fitat dan fitoestrogen yang terkandung di dalamnya (Martin et al., 2016, Muraro et al., 2014). Sebanyak 53-83% anak-anak yang mengalami alergi protein pada susu sapi dapat mentoleransi susu formula berbasis kedelai (Elagamy, 2016).

Manfaat konsumsi kedelai bagi kesehatan manusia saat ini tengah diperdebatkan. Satu sisi konsumsi kedelai dianggap dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler, perlindungan terhadap berbagai jenis kanker, pencegahan osteoporosis, dan merupakan terapi efektif bagi gejala menstruasi. Namun saat ini



berkembang pendapat yang bertolak belakang terkait konsumsi kedelai bagi kesehatan manusia. Susu kedelai dianggap dapat mengganggu fungsi endokrin baik pada pria maupun pada wanita, bahkan dapat meningkatkan risiko kanker. Baru-baru ini muncul pula kekhawatiran terkait pengolahan modern makanan berbahan dasar kedelai dengan pengolahan berbasis gugus heksana serta adanya kandungan oksalat, saponin, lektin dan antinutrien lain yang terkandung di dalam kedelai yang dapat menghambat absorpsi vitamin dan mineral sehingga menyebabkan atau memperberat defisiensi nutrisi tertentu (D'Adamo and Sahin, 2014).

Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa fitoestrogen yang terdapat pada kedelai dapat menurunkan kualitas sperma pada pria. Secara empiris, diet tinggi kandungan fitoestrogen misalnya kedelai dapat merubah aksis hipotalamus-hipofisis-gonad pada pria (Modaresi et al., 2014). Kedelai mengandung isoflavan terutama genistein yang dapat menghambat enzim peroksidase dan menghambat sintesis hormon tiroid. *Thyroid peroxidase* (TPO) terdapat pada membran apikal sel folikel tiroid. TPO mengkatalis reaksi sintesis hormon tiroid. Beberapa obat-obatan antitiroid sintetis dan flavonoid alami memiliki mekanisme penghambatan terhadap aktivitas TPO. Genistein merupakan isoflavan utama yang terdapat pada kedelai. Secara *in vitro*, genistein memiliki aktivitas goitrogenik. Ia dapat menghambat reaksi iodinasi dan *coupling* pada sintesis hormon tiroid yang dikatalisasi oleh TPO (Doerge and Sheehan, 2002, Modaresi et al., 2014, Craig, 2018). Pada beberapa penelitian lain disimpulkan bahwa isoflavan yang terkandung dalam kedelai dapat menghambat sintesis *thyroglobulin* dan hormon tiroid, menghambat absorpsi T₄, dan mempengaruhi kerja hormon tiroid (Tonstad et al., 2016, Bajaj et al., 2016). Hingga



saat ini belum ada penelitian yang mengkaji secara khusus tentang perbandingan efek gangguan produksi hormon tiroid yang diakibatkan oleh konsumsi susu kedelai dan genistein murni. Berdasarkan hal tersebut di atas maka penelitian ini dilakukan untuk membandingkan efek *endocrine disruptors* suplementasi genistein murni dan susu kedelai terhadap hormon tiroid.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah suplementasi genistein murni dapat mempengaruhi status tiroid (kadar TPO, T3, T4, dan TSH) tikus *Sprague Dawley* jantan ?
2. Apakah suplementasi susu kedelai dapat mempengaruhi status tiroid (kadar TPO, T3, T4, dan TSH) tikus *Sprague Dawley* jantan ?
3. Apakah terdapat perbedaan bermakna status tiroid (kadar TPO, T3, T4, dan TSH) pada tikus *Sprague Dawley* jantan pada kelompok kontrol, kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai, dan kelompok yang diberikan suplementasi genistein murni ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek *endocrine disruptor* suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap status tiroid.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar serum TPO, TSH, T3, T4 pada tikus *Sprague Dawley* jantan setelah diberikan suplementasi genistein murni.
2. Mengukur kadar serum TPO, TSH, T3, dan T4 pada tikus *Sprague Dawley* jantan setelah diberikan suplementasi susu kedelai.



3. Membandingkan kadar serum TPO, TSH, T3, dan T4 pada tikus *Sprague Dawley* jantan setelah diberikan suplementasi susu kedelai dan genistein murni.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan pengetahuan dan dasar untuk melakukan penelitian lanjutan dalam meningkatkan dan mengembangkan ilmu pengetahuan di bidang Endokrinologi.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan rekomendasi dalam pengambilan kebijakan terkait konsumsi kedelai dan produk olahannya sehari-hari terkait efek *endocrine disruptor* yang ditimbulkan oleh kandungan fitoestrogen genistein yang terdapat di dalam kedelai.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kedelai

Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill family Leguminosae) dikenal dengan berbagai nama antara lain *sojaboon* (Belanda), *soja*, *soja bohne* (Jerman), *soybean* (Inggris), *kedele* (Jawa), *kacang ramang*, *kacang bulu*, *kacang gimbol*, *retak mejong*, *kaceng bulu*, *kacang jepun*, *dekenana*, *demekun*, *dele*, *ka dele*, *kadang jepun*, *lebu*, *bawak*, *lawui*, *sarupapa tiak*, *dole*, *kadule*, *puwemon*, *kacang kuning* dan *ga dele*.

Berbagai nama ini menunjukkan bahwa kedelai telah lama dikenal di Indonesia.

Kedelai merupakan tanaman pangan berupa semak yang tumbuh tegak. Kedelai jenis liar (*Glycine ururiensis*) merupakan kedelai yang menurunkan kedelai saat ini (*Glycine max* (L) Merrill) dan berkembang menjadi tanaman kosmopolitan (Andayanie, 2016).

Tanaman kedelai berasal dari daerah Manshukuo (Tiongkok Utara). Tidak semua spesies tanaman yang menyebar begitu luas secara cepat seperti kedelai.

Kaisar Sheng Nung dari Tiongkok merupakan “bapak pertanian” yang mengajarkan rakyatnya bagaimana mengolah biji-bijian untuk menghindari membunuh binatang.

Beliau menyebutkan lima “tanaman suci” yaitu kedelai, beras, gandum, barley, millet sebagai makanan dan obat di Tiongkok. Dengan demikian kedelai telah ditanam di bagian selatan Tiongkok dan dalam waktu singkat menjadi makanan pokok pada sekitar 1100 SM. Di Indonesia, sejarah perkembangan kedelai pertama kali ditemukan pada publikasi Rumphius dalam *Herbarium Amboinense* yang



diselesaikan pada tahun 1673, namun tidak dipublikasikan sampai tahun 1747. Buku tersebut menyebutkan bahwa tanaman kedelai ditanam di Amboina (sekarang Ambon). Kedelai mulai ditanam di Indonesia terutama Jawa sekitar tahun 1750. Berdasarkan penemuan Junghun, pada tahun 1853 budidaya kedelai dilakukan di Gunung Gamping (pegunungan kapur selatan Jawa Tengah) dan tahun 1855 ditemukan di sekitar Bandung. Pengolahan makanan berbahan kedelai seperti tempe, tahu, kecap dan tauco pertama kali di Jawa dilakukan oleh Prinsen Geerling pada tahun 1895 (Andayanie, 2016).

Kedelai adalah salah satu tanaman penting di dunia. Ia menempati sekitar 6 persen dari lahan pertanian dunia. Kedelai mempunyai nilai strategis dan penting dalam ketahanan pangan, kesejahteraan masyarakat, dan perekonomian Indonesia.

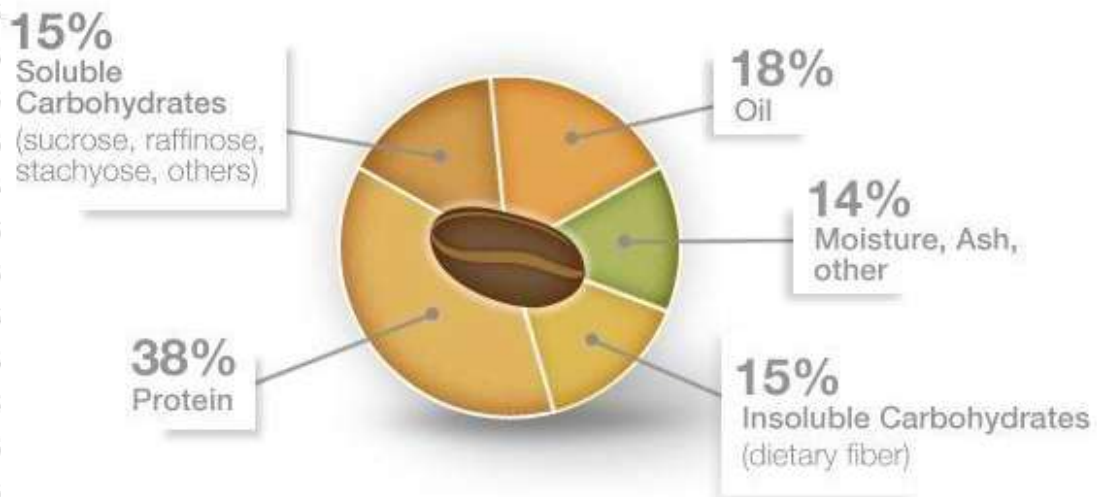
Predikat kedelai sebagai salah satu komoditas pangan terpenting setelah beras layak diberikan karena selain mempunyai potensi yang besar sebagai sumber utama protein bagi masyarakat dalam bentuk tahu dan tempe, kedelai juga telah lama dipakai sebagai bahan produksi kecap, tauco, dan susu kedelai (Bantacut, 2017).

Aspek penting kedelai sebagai sumber pangan fungsional dapat ditinjau dari kandungan gizi pada biji. Berdasarkan basis bobot kering, kedelai mengandung sekitar 38% protein, 18% lemak, dan 30% karbohidrat. Kedelai merupakan sumber vitamin B yang lebih baik dibandingkan dengan komoditas golongan biji-bijian lain.

Terandung pula antioksidan alami berupa α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, dan δ -tocopherol. Selain itu, kedelai mengandung mineral yang kaya Kalium (K), Fosfor (P), Kalsium (Ca), Magnesium (Mg), dan zat besi (Fe) (Krisnawati, 2017).



Komposisi tersebut menunjukkan bahwa kedelai adalah bahan pangan, pakan, dan energi yang sangat potensial. Karbohidrat terlarut, *dietary fiber*, protein dan minyak adalah zat yang sangat diperlukan oleh tubuh untuk pertumbuhan dan pemeliharaan. Kandungan protein yang tinggi menjadikan kedelai sebagai sumber protein nabati yang sangat baik dan menyehatkan (Bantacut, 2017).



Gambar 2. 1 Kandungan utama kedelai (Bantacut, 2017)

Keterangan : Kedelai mengandung sekitar 38% protein, 18% lemak, 15% karbohidrat terlarut, 15% karbohidrat tidak larut, dan 14% komponen lainnya

Berdasarkan kandungan yang dimiliki oleh kedelai, maka kedelai dianggap memiliki manfaat bagi kesehatan. Beberapa manfaat kesehatan yang dimiliki oleh kedelai antara lain menurunkan risiko kanker payudara, memperbaiki kontrol glikemik dan profil lipid pada sindrom metabolik, menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler pada pasien diabetes melitus tipe 2, mencegah osteoporosis, dan mencegah kanker prostat. Peningkatan jumlah penduduk dan kesadaran akan pentingnya hidup sehat berdampak pada meningkatnya kebutuhan kedelai dari tahun ke tahun (Lokuruka, 2010, Feizollahzadeh et al., 2017).



2.2. Konsumsi Kedelai di Indonesia

Pertumbuhan ekonomi negara-negara berkembang telah mengubah pola konsumsi penduduknya dari pangan penghasil energi ke produk penghasil protein. Sehingga kebutuhan protein baik nabati maupun hewani akan terus meningkat seiring dengan penambahan penduduk, urbanisasi, dan peningkatan pendapatan. Salah satu komoditas pangan penghasil protein nabati yang dikenal masyarakat adalah kedelai (Sudaryanto and Swastika, 2007).

Dalam 13 tahun terakhir, konsumsi kedelai di Indonesia dan produk olahannya cenderung meningkat. Peningkatan konsumsi kedelai lebih besar dibandingkan produksinya selama kurun waktu tahun 2002-2013. Menurunnya produksi kedelai di Indonesia mendorong terjadinya peningkatan impor kedelai.

Produksi kedelai dalam negeri hanya dapat memenuhi 30% dari total konsumsi domestik, sebanyak 70% sisanya dipenuhi melalui impor. Pada tahun 2015, konsumsi kedelai mencapai 2,54 juta ton biji kering yang terdiri atas konsumsi langsung penduduk 2,3 juta ton, benih 39.000 ton, industri makanan 446.000 ton, dan susu kedelai 49.000 ton (Krishawati, 2017, Natalia et al., 2017).

Produktivitas kedelai perlahan meningkat dari 0,72 ton/hektar pada tahun 1970 menjadi sekitar 1,11 ton/hektar pada tahun 1990, 1,23 ton/hektar pada tahun 2000, dan sekitar 1,28 ton/hektar pada tahun 2004. Dengan demikian, produktivitas kedelai meningkat rata-rata 1,7% per tahun selama periode 1970-2004. Selama periode 1990-2004, pertumbuhan produktivitas kedelai menurun namun tetap positif, yaitu sekitar 1,01% per tahun. Namun demikian, pertumbuhan produktivitas masih



jauh di bawah laju penurunan areal panen, sehingga produksi kedelai masih menurun tajam selama sekitar 15 tahun terakhir (Sudaryanto and Swastika, 2007).

Tabel 2. 1 Perkembangan areal panen dan produksi kedelai di Indonesia, 1970-2005 (Sudaryanto and Swastika, 2007).

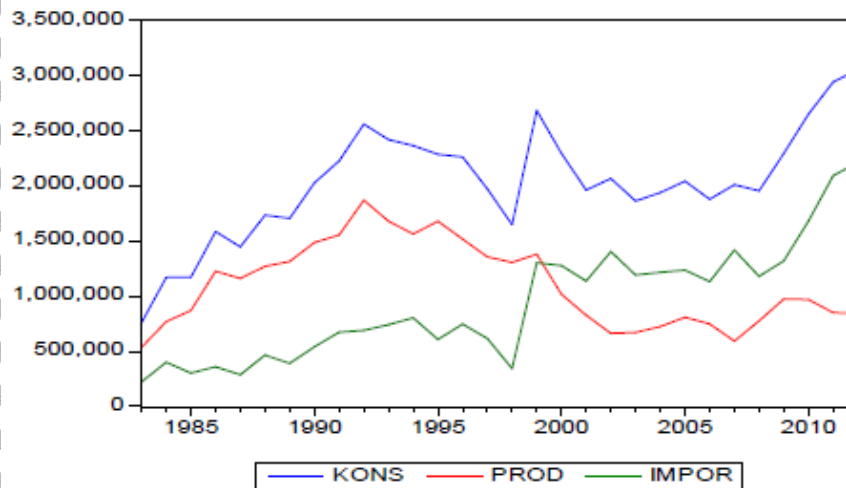
Tahun	Areal panen (ha)	Produktivitas (t/ha)	Produksi (ton)
1970	695.000	0,72	497.883
1972	698.000	0,74	518.229
1974	753.499	0,78	589.239
1976	646.336	0,81	521.777
1978	733.000	0,84	616.599
1980	732.000	0,89	652.762
1982	607.788	0,86	521.394
1984	859.000	0,90	769.384
1986	1.253.767	0,98	1.226.727
1988	1.177.400	1,08	1.270.418
1990	1.334.100	1,11	1.487.433
1992	1.665.000	1,12	1.869.713
1994	1.406.920	1,11	1.564.847
1996	1.273.290	1,19	1.517.180
1998	1.095.070	1,19	1.305.640
2000	825.000	1,23	1.018.000
2002	544.522	1,24	673.056
2004 *	565.155	1,28	723.483
2005 *	621.541	1,30	808.353
Pertumbuhan			
1970-1980	0,52	2,21	2,75
1980-1990	6,19	2,26	8,58
1990-2000	-4,69	1,02	-3,72
2000-2005	-5,51	1,00	-4,51

Sumber: FAO 2006; * = BPS 2006 (diolah).

Sebagai sumber protein nabati, kedelai umumnya dikonsumsi dalam berbagai produk olahan antara lain tahu, tempe, kecap, tauco, susu kedelai, dan berbagai bentuk makanan ringan. Data statistik menunjukkan bahwa konsumsi kedelai secara global selama 35 tahun terakhir berfluktuasi meningkat dari sekitar 4,12 kg/kapita pada tahun 1970 menjadi 11,14 kg/kapita pada tahun 1990 dan 13,6 kg/kapita pada tahun 1992 (Sudaryanto and Swastika, 2007).



Seperti halnya konsumsi perkapita, total konsumsi kedelai juga meningkat selama periode 1970-1992, yaitu dari 0,49 juta ton pada tahun 1970 mejadi 1,54 juta ton pada tahun 1990 dan mencapai puncaknya pada tahun 1992 yaitu sebesar 2,56 juta ton. Sejak itu, total konsumsi kedelai dalam negeri menurun menjadi sekitar 2,3 juta ton pada tahun 2000 dan 1,84 juta ton pada tahun 2005 (Sudaryanto and Swastika, 2007).



Gambar 2. 2 Konsumsi, produksi, dan impor kedelai di Indonesia tahun 1983-2012 (Aimon and Satrianto, 2014)

Keterangan : Konsumsi kedelai di Indonesia yang semakin meningkat tidak diiringi oleh peningkatan produksi kedelai. Untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri maka jumlah impor kedelai semakin ditingkatkan.

2.3. Produk Olahan Kedelai : susu kedelai

Produk olahan kedelai sebagai bahan makanan berasal dari berbagai proses antara lain fermentasi, nonfermentasi, dan fortifikasi. Makanan fermentasi berupa tempe, kecap, tauco, miso, dan tahu. Produk nonfermentasi antara lain kedelai segar, tahu, kembang tahu, es krim, daging sintetik, dan susu kedelai. Sedangkan



produk berdasarkan proses fortifikasi berupa tepung kedelai yang kaya gizi (Krishawati, 2017).

Salah satu produk olahan kacang kedelai yang sering dikonsumsi ialah susu kedelai. Susu kedelai memiliki kandungan fitoestrogen yang cukup tinggi. Susu kedelai merupakan produk diet yang tidak mengandung laktosa, sukrosa, gluten, dan protein susu sapi, sehingga lebih jarang menimbulkan alergi (Zerriouh et al., 2014).

Susu kedelai merupakan minuman bergizi tinggi karena mengandung protein tinggi, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin B kompleks, dan air. Mutu protein susu kedelai tidak kalah dengan susu sapi. Menurut *Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Food*, susu kedelai memiliki jumlah isoflavon total yang cukup besar yaitu 9,56 mg/100 g yang dapat mengurangi aterosclerosis, menurunkan prevalensi kanker payudara dan kanker prostat, dan mencegah osteoporosis. Bahkan kandungannya yang menyerupai susu sapi bisa menjadi alternatif pilihan untuk sebagian konsumen yang alergi atau tidak diperbolehkan mengonsumsi susu sapi (Septifani and Umam, 2017).

Tabel 2. 2 Komposisi nutrisi kedelai dan produk olahan per 100 g biji (Burssens et al., 2011, Krishawati, 2017)

Nutrisi	Kedelai	kedelai	Tahu	Kecambah
Protein (g)	38,0	3,7	12,0	5,5
Lemak (total) (g)	18,0	2,2	7,0	1,0
Asam lemak jenuh (g)	2,5	0,4	-	-
Asam lemak tak jenuh tunggal (g)	4,0	0,5	-	-
Asam lemak tak jenuh ganda (g)	10,7	1,3	-	-
- asam linoleat (Ω -6) (g)	9,8	1,2	-	-
- asam alfa linolenat (Ω -3) (g)	0,9	0,2	-	-
Karbohidrat (g)	6,3	2,8	1,0	4,7
Serat (g)	22,0	0,6	-	2,4
Kalsium (mg)	201,0	120,0	87,0	32,0
Magnesium (mg)	220,0	-	99,0	19,0
Kalium (mg)	-	-	94,0	235,0
Vitamin B12	-	0,2	-	-



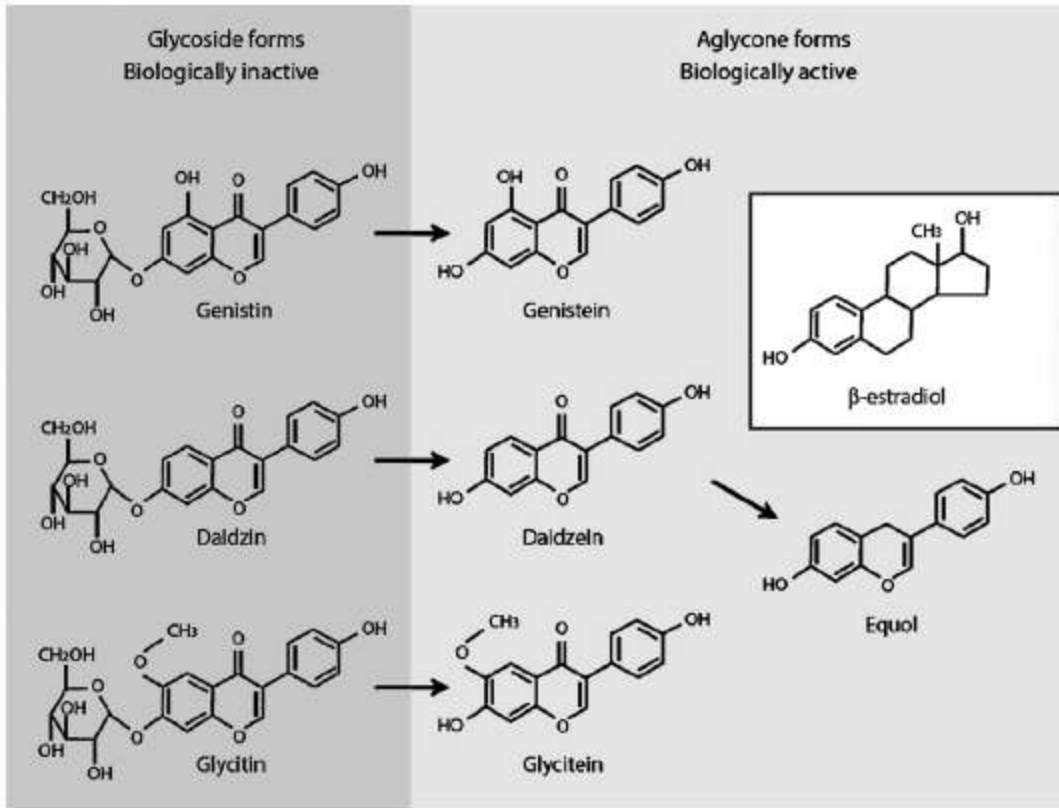
2.4. Kedelai : sumber fitoestrogen dalam diet

Kedelai merupakan salah satu dari jenis kacang-kacangan yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia dan merupakan bahan pangan sumber protein nabati. Kedelai memiliki kandungan protein tertinggi diantara jenis kacang-kacangan. Setiap 100 gram kedelai kering mengandung protein 34,9%, kalori 331,00 kal, lemak 18,10 g serta berbagai vitamin dan mineral lainnya. Di dalam 100 gram bubuk kedelai terkandung 180 mg isoflavon, sedangkan pada 100 gram susu kedelai terkandung 10 mg isoflavon (Krisnawati, 2017).

Diantara berbagai jenis tanaman, kedelai memiliki kandungan terbesar isoflavon (salah satu jenis fitoestrogen). Fitoestrogen memiliki struktur molekul dan fungsi yang mirip dengan estradiol. Fitoestrogen terkandung pada berbagai produk olahan kedelai (terdapat 0,5-1 mg isoflavon/g pada protein kedelai matang, 0,3 mg/g pada protein tempe, 0,1-2 mg/g pada protein tahu dan susu kedelai). Isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesis oleh tanaman salah satunya kedelai. Kedelai merupakan sumber utama senyawa isoflavon di alam.

Diantara berbagai tanaman, kandungan isoflavon yang lebih tinggi terdapat pada tanaman *Leguminoceae*, khususnya pada tanaman kedelai. Pada tanaman ini kandungan isoflavon yang lebih tinggi terdapat pada biji. Kandungan isoflavon pada kedelai dapat berbentuk senyawa aglikon (*aglycone*) dan glikosida (*glycoside*).

Senyawa aglikon utama terdiri atas genistein, daidzein, dan glysitein sedangkan bagian utama senyawa glikosid adalah daidzein, genistin, dan glycetin (Krisnawati, 2017, Cederroth and Nef, 2009).



Gambar 2. 3 Struktur Molekul Isoflavon (Cederroth and Nef, 2009)

Keterangan : Struktur genistein merupakan senyawa aglikon yang memiliki kemiripan struktur dengan β -estradiol (estrogen alami) yang terkandung di dalam susu kedelai.

Tabel 2. 3 Afinitas pengikatan relatif isoflavon terhadap ER α dan ER β (Cederroth and Nef, 2009)

Compound	Relative binding affinity		Relative transactivation	
	ER α	ER β	ER α	ER β
17 β -estradiol	100	100	100	100
Diethylstilbestrol (DES)	236	221	117	69
Tamoxifen	4	3	6	2
Coumestrol	20	140	102	98
Isoflavones	Genistein	4	87	198
	Daidzein	0.1	0.5	97
	Formononetin	<0.01	<0.01	6
	Biochanin A	<0.01	<0.01	36
	Ipriflavone	<0.01	<0.01	11
Endocrine disruptors	Bisphenol A	0.01	0.01	50
	o,p'-DDT	0.01	0.02	54
	Nonylphenol	0.05	0.09	62
	Methoxychlor	<0.01	<0.01	9



Tabel 2. 4 Isoflavon pada kedelai dan produk olahan kedelai (Krisnawati, 2017)

Produk olahan	Total		
	isoflavon (mg/100 g)	Daidzein (mg/100 g)	Genistein (mg/100 g)
Tepung kedelai berlemak penuh	177,89	71,19	96,83
Tepung kedelai bertekstur	148,61	59,62	78,90
Tepung kedelai bebas lemak	131,19	57,47	71,21
Kedelai	128,34	46,46	73,76
Isolat protein kedelai	97,43	33,59	59,62
Natto	58,93	21,85	29,04
Keripik kedelai	54,16	26,71	27,45
Tahu goreng	48,35	17,83	28,00
Tempe	43,52	17,59	24,85
Miso	42,55	16,13	24,56
Kecambah kedelai	40,71	19,12	21,60
Tahu lunak	29,24	8,59	20,65
Tahu sutera	27,91	11,13	15,58
Bubuk susu kedelai	25,00	7,23	14,75
Tahu Cina	22,70	8,00	12,75
Hot dog kedelai	15,00	3,40	8,20
Okara	13,51	5,39	6,48
Bakon tanpa daging	12,10	2,80	6,90
Susu kedelai	9,65	4,45	6,06
Burger sayuran	9,30	2,95	5,28
Minuman sari kedelai	7,01	2,41	4,60
Shoyu	1,64	0,93	0,82
Kacang hitam	0,00	0,00	0,00

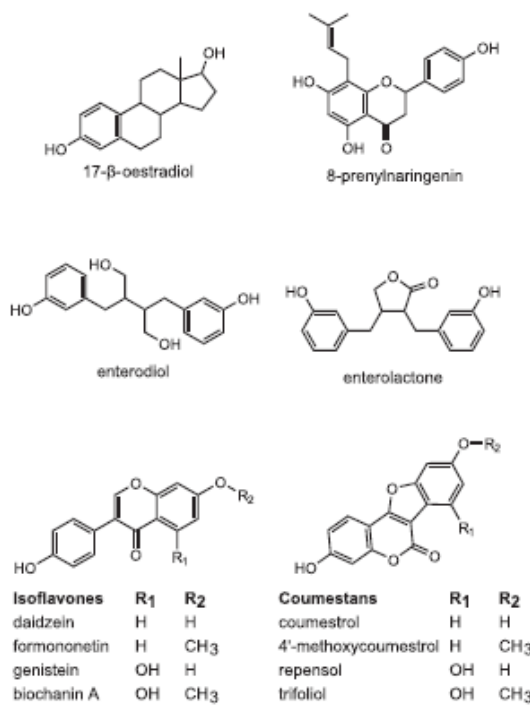
2.5. Fitoestrogen

2.5.1. Definisi Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa nonsteroid yang terdapat pada tumbuhan. Fitoestrogen berasal dari kata "*phyto*" = *plant* + "*oestrous*" = *estrous* + "*gen*" = *to generate*. Struktur fitoestrogen menyerupai estrogen alami, 17β -estradiol, sehingga menyebabkannya dapat terikat pada reseptor estrogen dan efek biologisnya dapat dikenali. Meskipun fitoestrogen dan estradiol (E2) memiliki kemiripan struktur, efek kerjanya tidak benar-benar identik, dikarenakan fitoestrogen memiliki efek estrogenik dan antiestrogenik. Senyawa tersebut berkompetisi dengan



steroid endogen, sehingga keseimbangan aktivitas estrogenik dan antiestrogenik ditentukan oleh rasio fitoestrogen-estrogen (Retana-MÃ et al., 2012).



Gambar 2. 4 Struktur molekul estradiol (E2) dan isoflavon (Rietjens et al., 2017)

Keterangan: Isoflavon memiliki struktur dasar yang mirip dengan estradiol (E2)

Salah satu kelompok utama fitoestrogen adalah lignan, yang merupakan komponen sel tumbuh-tumbuhan yang dapat dijumpai pada tanaman kaya serat misalnya *berries*, padi-padian, gandum, kacang-kacangan, dan buah-buahan.

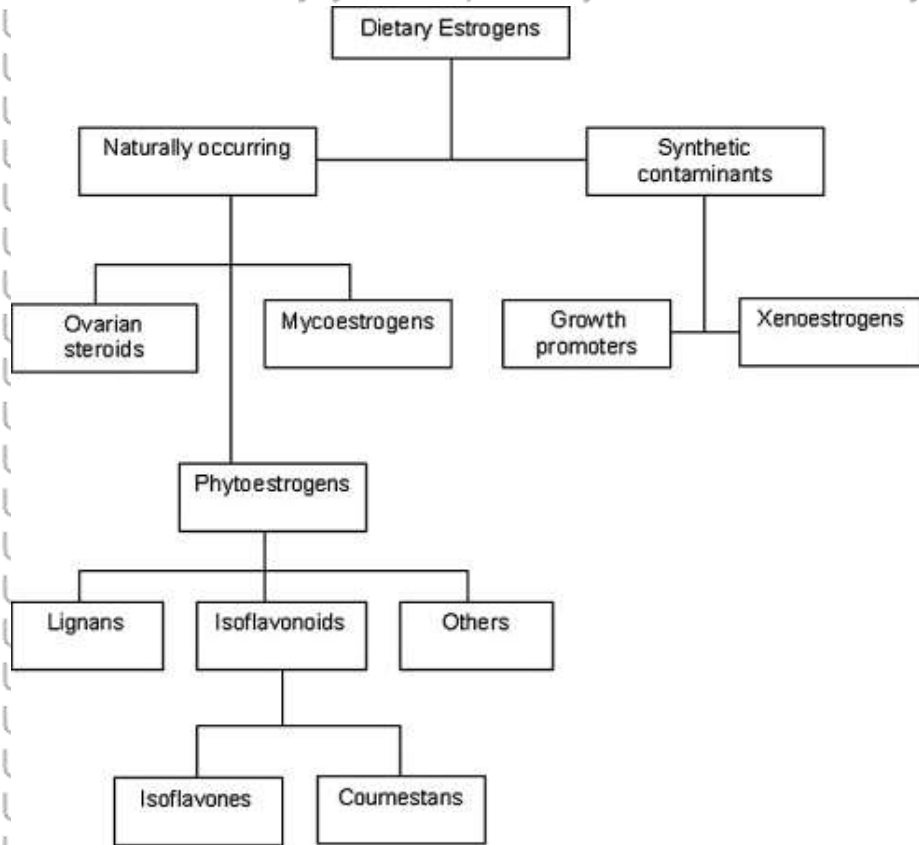
Sebagian besar fitoestrogen merupakan senyawa fenol, antara lain coumestan, flavonoid, dan isoflavon. Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa aktif yang memiliki efek agonis estrogen dan antagonis estrogen. Sebagai agonis estrogen, fitoestrogen memiliki efek menyerupai estrogen endogen sehingga memiliki efek estrogenik. Sebagai antagonis estrogen, fitoestrogen memblokir atau mengubah



estrogen receptors (ER) dan mencegah aktivitas estrogenik sehingga menimbulkan efek antiestrogenik (Patisaul and Jefferson, 2010, Puluputturi and Dayapulae, 2011, Rietjens et al., 2017).

2.5.2. Klasifikasi Fitoestrogen

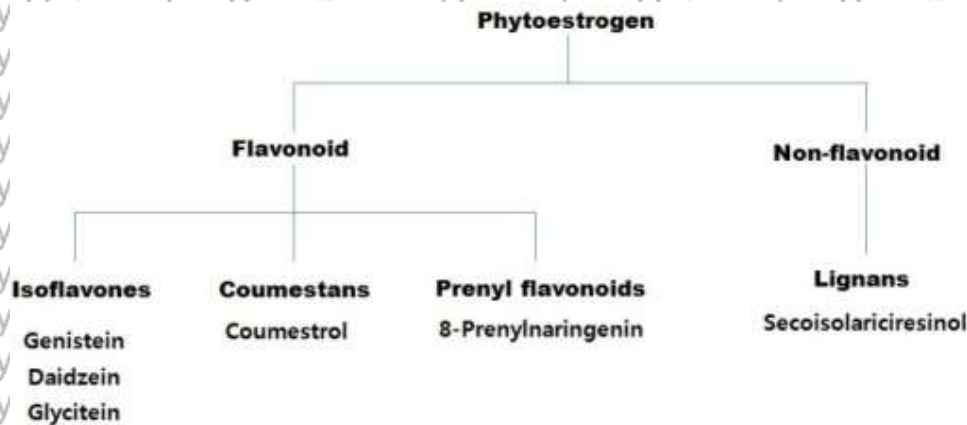
Berdasarkan struktur kimia dasarnya, fitoestrogen memiliki kemiripan struktur dengan estrogen. Fitoestrogen dapat diklasifikasikan menjadi flavonoid (isoflavon, coumestans, dan prenyl flavonoids) dan nonflavonoid (lignans) (Rietjens et al., 2017, Puluputturi and Dayapulae, 2011, Patisaul and Jefferson, 2010).



Gambar 2. 5 Klasifikasi estrogen yang diperoleh berdasarkan diet (Mustafa et al., 2007).



Keterangan : isoflavon merupakan salah satu jenis fitoestrogen yang diperoleh secara alami dari tumbuh-tumbuhan



Gambar 2. 6 Klasifikasi Fitoestrogen (Puluputturi and Dayapulae, 2011)

Isoflavon merupakan fitoestrogen yang paling banyak dikenal. Isoflavon alami yang memiliki aktivitas estrogenik antara lain golongan aglycones: daidzein (4',4'-dihydroxyisoflavone) dan genistein (4',5,5-trihydroxyisoflavone); serta golongan glikosida : daidzein dan genistin (Puluputturi and Dayapulae, 2011).

Coumestans merupakan senyawa fenol yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan yang juga memiliki aktivitas estrogenik. Coumestrol diperkenalkan pertama kali oleh Bickoff dkk. pada tahun 1957 sebagai fitoestrogen baru yang diisolasi dari daun ladino (*Trifolium repens L.*), daun strawberry (*Trifolium fragiferum L.*), dan alfalfa atau lucerne (*Medicago sativa L.*). Secara *in vitro*, coumestrol dapat menghambat resorpsi tulang dan memicu mineralisasi tulang (Puluputturi and Dayapulae, 2011).

Lignan merupakan senyawa yang memiliki struktur rangka dibenzylbutane yang berperan menyusun dinding sel pada tumbuh-tumbuhan. Fitoestrogen lignan yang paling banyak dikenal ialah *secoisolariciresinol* dan *matairesinol* yang diubah



2.5.3. Sumber dan Metabolisme Fitoestrogen

Fitoestrogen terdapat pada buah-buahan, sayur-sayuran, dan gandum yang dikonsumsi oleh manusia. Ia banyak terkandung pada tanaman yang dikonsumsi maupun tanaman obat terutama sebagian besar yang terdapat pada famili *Leguminosae*. Ekstrak tumbuh-tumbuhan yang memiliki efek estrogenik yang potensial antara lain kedelai, semanggi merah, *kudzu*, *hops*, *licorice* (akar manis), *yam*, *rhubarb*, dan *chasteberry*. Isoflavon terdapat pada golongan kacang-kacangan – terutama kedelai. *Flaxseed* merupakan sumber utama lignan dan coumestan yang banyak terdapat pada semanggi, *alfalfa*, dan kacang kedelai. Sedangkan *8-prenyl flavonoids* banyak ditemukan pada sayur-sayuran, *hop* dan *beer* (Sirotkin and Harrath, 2014).

Fitoestrogen yang dikonsumsi dimetabolisme oleh bakteri usus, kemudian diabsorpsi, lalu dikonyugasi di hati, kemudian disirkulasi di plasma, dan di ekskresikan ke dalam urin. Metabolisme usus memegang peran kunci dalam metabolisme fitoestrogen. Efek biologis dari fitoestrogen yang dikonsumsi dihasilkan dari metabolit yang diproduksi oleh mikroflora usus. Contohnya, fitoestrogen mamalia enterodiol dan enterolakton dihasilkan di usus besar oleh bakteri kolon dari prekursor antara lain *matairesinol*, *secoisolariciresinol*, dan prekursor lainnya.

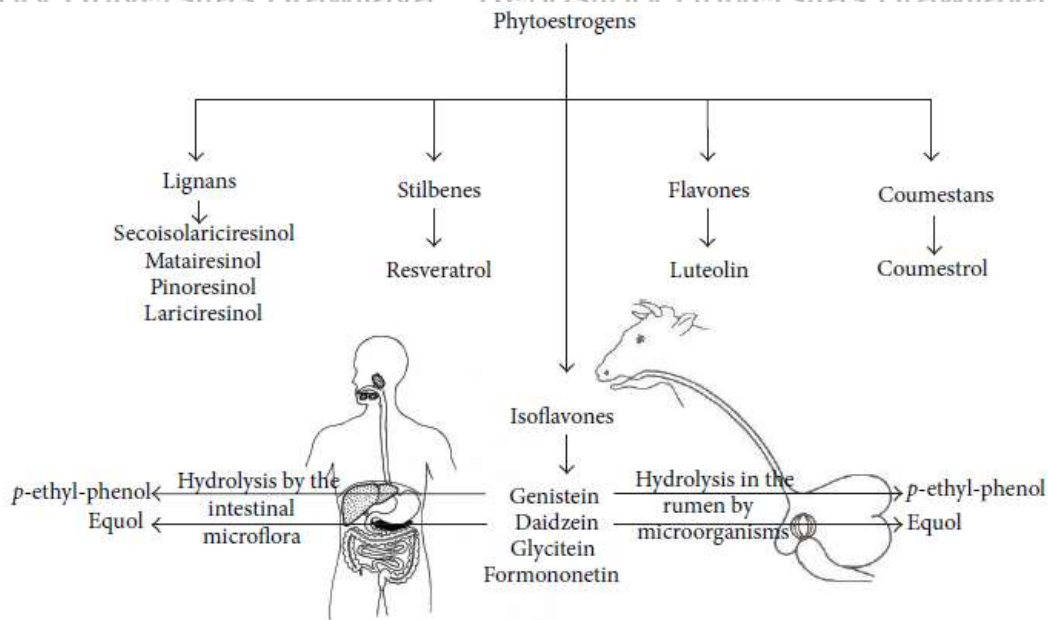
Aktivitas estrogenik dari fitoestrogen genistein dan daidzein dapat ditingkatkan oleh mikroorganisme usus. Misalnya, efek daidzein bervariasi secara individual bergantung pada kemampuannya mengubah daidzein menjadi senyawa equol yang lebih aktif. Bioavailabilitas isoflavon pada awal prosesnya membutuhkan hidrolisis



gula oleh beta glukosidase usus halus yang selanjutnya dapat diikat oleh enterosit yang kemudian dimasukkan ke dalam sirkulasi perifer (Sirotkin and Harrath, 2014).

Metabolisme isoflavon memiliki karakteristik khusus pada domba dan spesies mamalia lainnya, termasuk pula manusia. Isoflavon secara natural ditemukan dalam bentuk konyugasi glikosida inaktif, mengandung senyawa glukosa atau karbohidrat dan menjadi senyawa aktif setelah gugus glukosanya dilepaskan oleh bakteri usus.

Setelah dikonsumsi, isoflavon dimetabolisme dan diabsorpsi secara cepat, kemudian masuk ke dalam sirkulasi sistemik dalam bentuk senyawa terkonjugasi. Setelah diabsorpsi isoflavon kemudian mengalami rekonjugasi dengan asam glukuronat di hati (Retana-MÃ et al., 2012).



Gambar 2. 8 Metabolisme Fitoestrogen (Woclawek-Potocka et al., 2013)

Keterangan: Genistein secara alami ditemukan dalam bentuk konyugasi glikosida inaktif yang kemudian diubah menjadi senyawa aktif setelah gugus glukosanya mengalami hidrolisis oleh mikroflora usus.



Sebagian besar flavonoid yang terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan berada dalam bentuk glikosida, salah satunya adalah genistin (*genistin-7-glucoside*).

Bioavailibilitasnya dari isoflavon yang dikonsumsi bergantung pada kemampuan hidrolisis glikosida oleh bakteri usus halus dan enzim yang terdapat pada dinding usus tikus (Dixon and Ferreira, 2002). Absorpsi intestinal dari genistin merupakan prasyarat utama agar genistein dapat bekerja. Bakteri yang terdapat di dalam usus halus tikus dapat mengubah struktur β -glukosida. Akan tetapi, dikarenakan genistin memiliki sifat yang stabil di dalam lumen usus sehingga perubahan struktur β -glukosida genistin menjadi genistein pada proses hidrolisis sulit terjadi (Andlauer et al., 2000).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maskarinec dkk. (2005), konsentrasi plasma daidzein dan genistein pada dewasa yang mengkonsumsi kedelai berkisar antara 10nM – 10 μ M. Gadis remaja berumur 8-14 tahun memiliki tingkat eksresi isoflavon pada urin yang tinggi (142,1 nmol/mg kreatinin) dibandingkan wanita dewasa (44 nmol/mg kreatinin), yang menandakan degradasi intestinal isoflavon yang lebih kecil atau tingkat absorpsi yang lebih besar pada orang muda (Maskarinec et al., 2005).

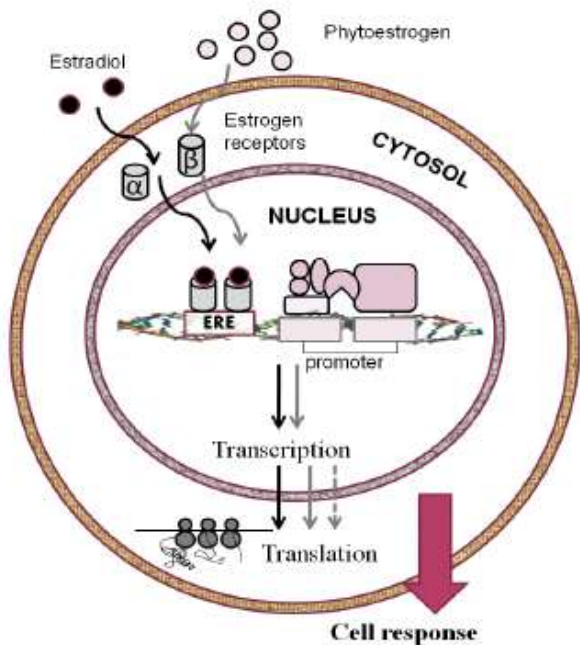
Banyak metabolit fitoestrogen dan flavonoid yang dibentuk di usus dan hati yang secara biologis aktif dan memediasi sinyal estrogen. Dengan demikian, bioavailabilitas fitoestrogen yang dikonsumsi dapat diketahui aktivitasnya secara *in vivo* (Retana-MÃ et al., 2012).



2.5.4. Mekanisme kerja fitoestrogen

Fitostrogen bekerja melalui berbagai mekanisme dengan interaksi baik kepada ER α maupun ER β . Faktor penting yang menyebabkan fitoestrogen dapat terikat pada reseptor dan memiliki efek menyerupai estradiol adalah cincin fenol (*phenolic ring*) yang dapat mengikat reseptor estrogen; cincin yang dimiliki oleh isoflavon mirip dengan estrogen pada *receptor binding site*, memiliki berat molekul rendah yang mirip dengan estrogen (MW=272). Selain itu pula, jarak antara dua gugus hidroksil pada inti isoflavon mirip yang dimiliki estradiol, serta memiliki pola hidroksilasi yang sama (Retana-MÃ et al., 2012).

Estradiol dapat melibatkan kedua jenis reseptor tersebut melalui jalur nonselektif. Kompleks ligan-reseptor yang terbentuk kemudian memicu aktivitas transkripsi (Gambar 2.9). Konsentrasi yang dibutuhkan oleh isoflavon (genistein, daidzein) harus 10^4 kali lebih besar dibanding E2 agar dapat memicu aktivitas transkripsi, dan aktivitasnya lebih rendah dibandingkan steroid. Aktivitas transkripsi fitoestrogen yang lebih rendah ini diimbangi oleh bioavailibilitasnya yang lebih tinggi, dengan fraksi sirkulasinya lebih dari 50%, dibandingkan E2 sebesar 4,5%. Adanya perbedaan afinitas terhadap reseptor estrogen ini menjelaskan fenomena bahwa ketika estrogen endogen tersedia maka isoflavon berperan sebagai antagonis estrogen (anti estrogenik), dan ketika tidak terdapat estrogen endogen, maka isoflavon berperan sebagai agonis estrogen (Retana-MÃ et al., 2012).



Gambar 2. 9 Mekanisme kerja estrogen dan fitoestrogen (Retana-MÃ et al., 2012)

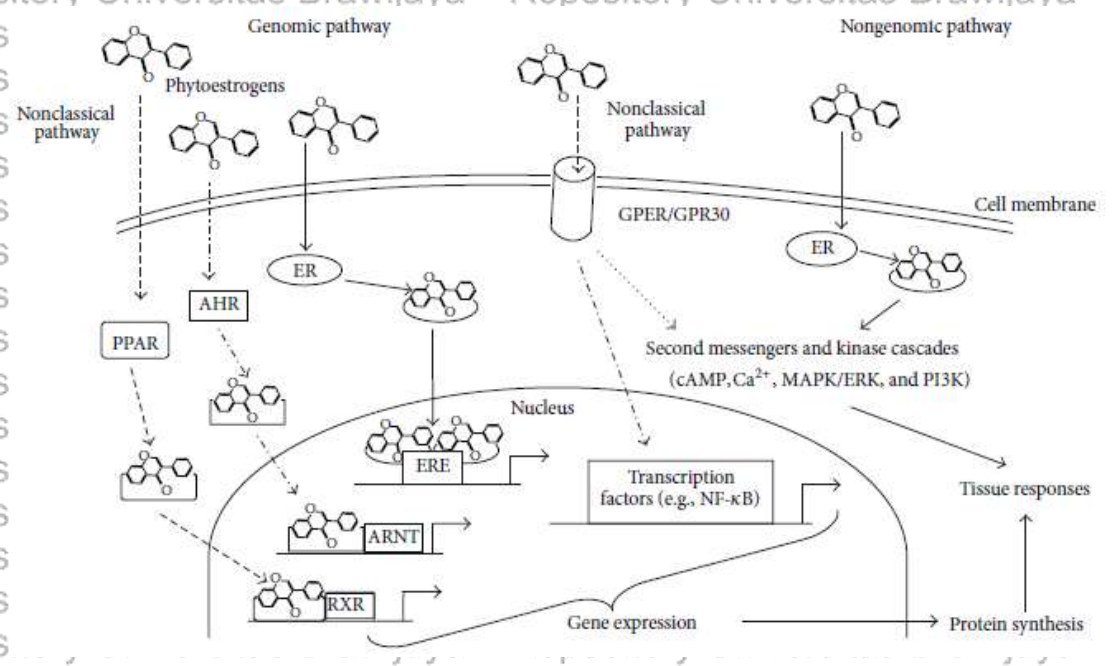
(ERE : *estrogen response elements*. Garis hitam : mekanisme kerja estradiol. Garis abu-abu dan putus-putus : mekanisme kerja fitoestrogen)

Selain berinteraksi dengan reseptor estrogen, fitoestrogen juga memodulasi konsentrasi estrogen endogen dengan mengikat atau menginaktivasi beberapa enzim antara lain P450 aromatase, 5 α -reductase, 17 β -hydroxyestroid dehydrogenase (17 β -OHDH), topoisomerase, dan tirosin kinase (Retana-MÃ et al., 2012).

Fitoestrogen dapat bekerja melalui jalur klasik, genomik, dan nongenomik (Gambar 2.10). Dikarenakan strukturnya mirip dengan estrogen endogen (E2), senyawa tersebut dapat terikat pada reseptor inti (*nuclear receptors*). Akan tetapi afinitasnya terhadap ER α dan ER β relatif lebih lemah dibandingkan E2, sehingga fitoestrogen dapat memiliki aktivitas agonis atau antagonis bergantung pada keberadaan E2. Telah dibuktikan bahwa beberapa isoflavin memiliki afinitas yang



lebih tinggi (30 kali) terhadap ER β dibandingkan ER α . Fitoestrogen memiliki afinitas reseptor inti yang lebih rendah (100 kali lebih) dibandingkan E2. Dengan demikian meskipun kandungan fitoestrogen rendah, ia dapat memicu perubahan respon sistem biologis. Perubahan tersebut diaktivasi melalui jalur nongenomik (Woclawek-Potocka et al., 2013).



Gambar 2. 10 Model skematik mekanisme kerja fitoestrogen (Woclawek-Potocka et al., 2013)

(AHR—aryl hydrocarbon receptor; ARNT—AHR nuclear translocator; ER—estrogen receptor; ERE—estrogen response element; cAMP—cyclic adenosine monophosphate; Ca²⁺—calcium ions; GPER/GPR30—G protein-coupled estrogen receptor 1; MAPK/ERK—mitogen-activated protein kinases/extracellular-signal-regulated kinases; NF- κ B—nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; PI3K—phosphatidylinositol 3-kinases; PPAR—peroxisome-proliferator-activated receptor; RXR—retinoid X receptor).

Terdapat beberapa jalur nongenomik yang dipengaruhi isoflavan, antara lain sinyal nongenomik yang diperantarai jalur stress oksidatif, tirosin kinase, *nuclear factor kappa B*, sinyal ekstraseluler kinase. Pada jalur klasik, isoflavan berperan sebagai ligan bagi *peroxisome-proliferator-activated receptors* (PPAR), sedangkan pada jalur non klasik isoflavan terikat pada reseptor estrogen *G Protein-Coupled*



Estrogen Receptor 1 (GPER1), *the estrogen-related receptors*, dan *the aryl hydrocarbon receptor* (AHR). Disamping aksi langsung dengan modulasi jalur sinyal, isoflavon dapat mengubah tanda epigenetik dengan cara mengubah aktivitas DNA dan *histone methyltransferase*, *NAD-dependent histone deacetylase* dan modifikasi struktur kromatin. Selain itu pula, isoflavon dapat bekerja sebagai inhibitor kompetitif aromatase dalam memproduksi E2 endogen. Efek isoflavon pada tubuh manusia atau hewan lebih kompleks dikarenakan isoflavon yang terdapat secara *in vivo* terdiri dari berbagai komponen diet yang dapat mempengaruhi berbagai jalur sinyal atau dapat melalui jalur yang sama dari arah yang berlawanan (Woclawek-Potocka et al., 2013).

2.6. Genistein

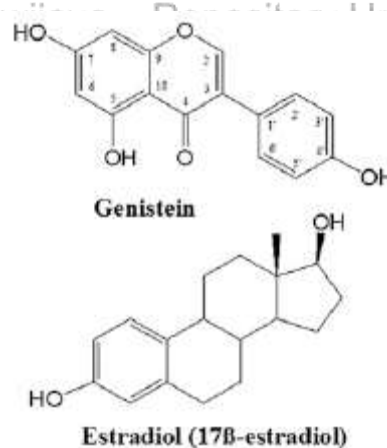
2.6.1. Struktur Genistein

Genistein merupakan fitoestrogen, salah satu senyawa estrogen alami yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan yang seringkali dikonsumsi oleh hewan maupun manusia. Ia tergolong dalam kelompok isoflavon. Genistein pertama kali diidentifikasi dan diisolasi dari tanaman *Genista tinctoria*. Struktur kimiawinya pertama kali ditemukan pada tahun 1928 oleh Baker dan Robinson. Nama kimiawi (*International Union of Pure and Applied Chemistry*/IUPAC) dari genistein adalah *5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) chromen-4-one* dengan nama lain *4,5,7-trihydroxyisoflavone* dengan rumus kimia $C_{15}H_{10}O_5$ dengan sifat tidak larut air (*insoluble*) (Ganai and Farooqi, 2015, Spagnuolo et al., 2015).

Struktur kimiawi gugus karbon 4 dan 7 pada cincin fenol genistein memiliki kemiripan struktur dan fungsi dengan gugus OH pada estradiol (Gambar 2.11).



Gugus OH membentuk ikatan penting dengan ER β antara lain karbon 7 dari gugus fenol terikat pada His475 dan karbon 4 dari gugus fenol terikat pada Glu305 dan Arg306. Karena adanya ikatan tersebut, genistein dapat terikat baik kepada ER α maupun pada ER β yang selanjutnya menstimulasi estrogen (Mukund et al., 2017).



Gambar 2. 11 Kemiripan struktur Genistein dan Estradiol (Spagnuolo et al., 2015)

Isoflavon, yang strukturnya mirip dengan 17- β estradiol memiliki cincin aromatik dengan gugus hidroksil yang memiliki afinitas pengikatan terhadap reseptor estrogen, ER α dan ER β . Akan tetapi, afinitasnya lebih tinggi pada ER β dibandingkan ER α dan afinitasnya jauh lebih rendah dibandingkan estradiol. Aktivitas transkripsi isoflavon lebih rendah dibandingkan estradiol, meskipun pada konsentrasi isoflavon yang tinggi aktivitas transkripsinya dapat menyerupai atau lebih tinggi dibandingkan estradiol. Diantara berbagai jenis isoflavon, genistein memiliki afinitas pengikatan (*receptor binding affinity/RBA*) terhadap reseptor estrogen yang paling kuat. Menurut Kuiper dkk., perbedaan RBA terhadap reseptor estrogen diantara isoflavon dikarenakan jumlah dan posisi gugus hidroksil yang dimilikinya. Genistein, memiliki tiga gugus hidroksil, memiliki RBA yang lebih kuat pada ER β dibandingkan daidzein dan biochanin A yang hanya memiliki dua gugus hidroksil. Formonetin, yang hanya



memiliki satu gugus hidroksil, memiliki RBA yang tentunya lebih lemah (Szkudelska and Nogowski, 2007).

2.6.2. Sumber dan Metabolisme Genistein

Sumber terbanyak ditemukannya isoflavon adalah kedelai dan produk olahannya misalnya tepung kedelai, minyak kedelai, tofu, dan susu kedelai. Isoflavon terbanyak yang terdapat dalam kedelai adalah genistein dan daidzein.

Jumlah isoflavon yang terdapat dalam tepung kedelai berkisar antara 0,5 – 3,0 mg/g, pada tofu antara 0,2 – 0,5 mg/g. Konsentrasi isoflavon dalam susu kedelai sedikit lebih rendah. Setelah dikonsumsi dan dimetabolisme di usus, isoflavon yang berasal dari diet akan didapatkan di dalam plasma. Pada manusia yang mengkonsumsi kedelai, didapatkan konsentrasi genistein plasma sebesar 2.4 μM (Szkudelska and Nogowski, 2007).

Kacang polong (*legumes*) merupakan sumber utama kedua genistein. Terdapat genistein sebanyak 0,2-0,6 mg/100 g kacang polong, yang terkandung pula jenis isoflavon lainnya, daidzein. Kandungan genistein di dalam buah, kacang, dan sayur-sayuran bervariasi dengan rentang 0,03-0,2 mg/100 g (Spagnuolo et al., 2015).

Genistein dimetabolisme melalui proses reduksi, oksidasi, dan konyugasi. Sel intestinal merupakan lokasi utama metabolisme genistein dibandingkan di hati. Genistein dominan dikonyugasi di usus halus dengan asam glukuronat dan sedikit dengan sulfat dengan melewati sel epitel usus halus. Setelah memasuki hati, glukuronida diekskresikan ke dalam empedu yang kemudian memasuki usus halus



sehingga genistein mengalami dekonjugasi, absorpsi, dan metabolisme yang kedua kali (Mazumder and Hongsprabhas, 2016).

Genistein dimetabolisme secara cepat di hati dan usus dengan waktu paruh plasma kurang dari 30 menit setelah diberikan per oral atau intravena. Metabolisme cepat genistein pada enterosit dikarenakan peningkatan kadar *UDP-glucuronosyltransferases* (UGTs) dan *sulfotransferases* (SULTs) di usus. Setelah genistein memasuki sirkulasi vena porta, maka ia segera diproses dalam metabolisme hati. Ginjal, paru, dan jantung juga diketahui dapat meningkatkan kadar UGTs dan SULTs sehingga organ tersebut juga berperan dalam metabolisme genistein secara efektif (Mukund et al., 2017).

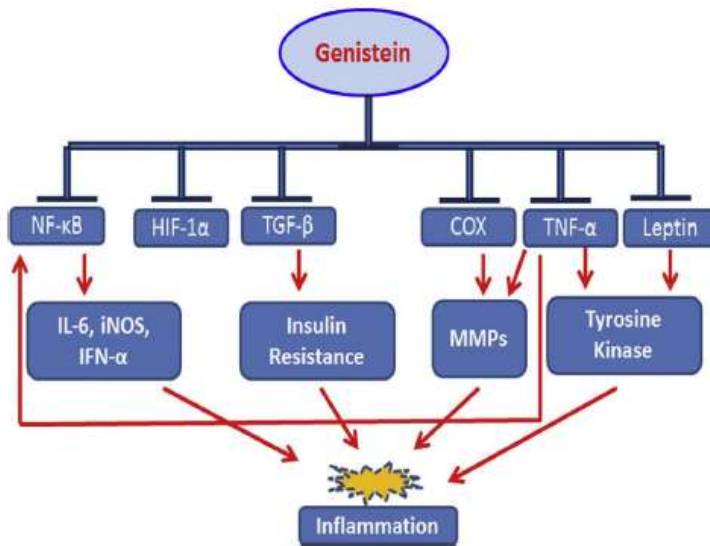
2.6.3 Manfaat biologis genistein

Genistein dapat menghambat hemolisis sel darah merah yang diakibatkan oleh hidrogen peroksida dikarenakan komponen antioksidan yang dimilikinya. Genistein juga dapat menghambat peroksidasi lipid yang diinduksi *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) dan kompleks Fe^{2+} , *adenosine diphosphate* (ADP) pada mitokondria hati tikus (Mazumder and Hongsprabhas, 2016).

Genistein dapat menghambat aktivitas *protein tyrosine kinase* (PTK), *topoisomerase II* (Topo II), *ribosomal S6 kinase* (RS6 K), memodulasi apoptosis sel ganas dan meredam aktivitas senyawa oksigen reaktif. Genistein juga dapat mencegah aktivasi faktor transkripsi NF- κ B pada sel kanker in vitro (Mazumder and Hongsprabhas, 2016).



Berbagai jenis flavonoid memiliki peran sebagai antiinflamasi. Salah satunya adalah genistein. Beberapa mekanisme aksi yang menjelaskan mekanisme antiinflamasi flavonoid antara lain : (1) aktivitas antioksidan dan scavenging senyawa radikal, (2) memodulasi aktivitas sel yang terkait dengan proses inflamasi, (3) meregulasi enzim yang berperan pada metabolisme asam arakidonat (fosfolipase A2, siklooksigenase, lipooksigenase) dan *nitric oxide synthase*, (4) memodulasi produksi molekul proinflamasi, dan (5) meregulasi ekspresi gen proinflamasi (dos Santos et al., 2011).



Gambar 2. 12 Efek molekuler genistein pada proses inflamasi (Mukund et al., 2017)

("↓": menginduksi, "⊥": menghambat)

Genistein dapat memodulasi imunitas humoral dan seluler. Ia dapat menghambat migrasi sel inflamasi dengan cara mengurangi perlekatan leukosit pada sel endotel. *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α) memiliki peran utama pada terjadinya beberapa penyakit inflamasi. TNF-α mengaktivasi faktor transkripsi *nuclear factor κB* (NF-κB). NF-κB merupakan faktor transkripsi yang memiliki peran



penting pada kontrol pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan stimulasi apoptosis sel.

Pada kondisi basal, NF- κ B terdapat di dalam sitoplasma dan terikat pada *inhibitory- κ B* (I κ B). Pada kondisi terjadinya jejas seluler, molekul I κ B akan melalui proses fosforilasi dan degradasi. Hal tersebut menyebabkan aktivasi NF- κ B dan translokasinya ke dalam nukleus yang kemudian menginisiasi proses transkripsi beberapa gen yang terlibat dalam keberlangsungan hidup, proliferasi, migrasi sel dan angiogenesis, sehingga secara molekuler terkait dengan terjadinya inflamasi, gangguan degeneratif, sindrom metabolik, dan karsinogenesis. Pada dasarnya, berbagai jenis keganasan misalnya kanker payudara, kanker kolon, kanker pankreas, kanker prostat, kanker hati, limfoma, dan leukemia terkait dengan aktivasi NF- κ B. Berbagai strategi pengembangan inhibitor NF- κ B saat ini tengah dikembangkan. Genistein dapat menghambat aktivasi NF- κ B pada sel limfe perifer (Gambar 2.12) (Mukund et al., 2017).

2.6.4. Efek *Endocrine Disruptors* Genistein

Definisi *endocrine disruptors* (ED) menurut *the U.S Environmental Protection Agency* (EPA) adalah agen eksogen yang mempengaruhi sintesis, sekresi, transportasi, pengikatan, atau eliminasi hormon alami di dalam tubuh yang berperan dalam menjaga homeostasis, reproduksi, perkembangan dan/atau tingkah laku (gambar 2.13) (Kabir et al., 2015). Menurut Uni Eropa (*European Union*), ED adalah substansi eksogen yang menimbulkan efek samping kesehatan bagi organisme atau keturunannya, yang diakibatkan oleh perubahan sekunder dari fungsi endokrin. Sedangkan menurut badan kesehatan dunia WHO, ED adalah substansi eksogen



yang mengubah fungsi sistem endokrin sehingga menimbulkan efek samping bagi organisme atau keturunannya atau bagi populasi (subpopulasi) (Zoeller et al., 2012).

Endocrine disruptors (ED) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Kabir et al., 2015):

(i). ED yang terbentuk secara alami

- Senyawa alami yang terdapat pada sumber makanan baik manusia maupun hewan (misal, fitoestrogen : genistein dan coumestrol)

(ii). ED yang terbentuk melalui proses sintesis

- Senyawa sintetik yang digunakan pada industri pelarut cairan atau pelubrican dan produk turunannya (misal, *polychlorinated biphenyls* (PCBs), *polybrominated biphenyls* (PBBs), dioxin)
- Plastik (misal, *bisphenol A* (BPA))
- Fungisida (misal, vinclozolin)
- Bahan farmasi (misal, *diethylbestrol* (DES))

ED dapat pula diklasifikasikan berdasarkan asalnya antara lain (Kabir et al., 2015):

(i). Hormon alamiah atau artifisial (misal, fitoestrogen, asam lemak omega-3, pil kontrasepsi, dan obat-obatan tiroid)

(ii). Obat-obatan yang memiliki efek samping hormonal (misal, naproxen, metoprolol dan clofibrate)

(iii). Bahan kimia industri dan rumah tangga (misal, *phthalates*, deterjen *alkylphenolaetoxilate*, *1,4-dichloro-benzene*, dan *polychlorinated biphenyls* (PCBs))



(iv). Produk sampingan dari proses industri dan rumah tangga (misal, *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAHs), dioxins, *pentachlorobenzene*).

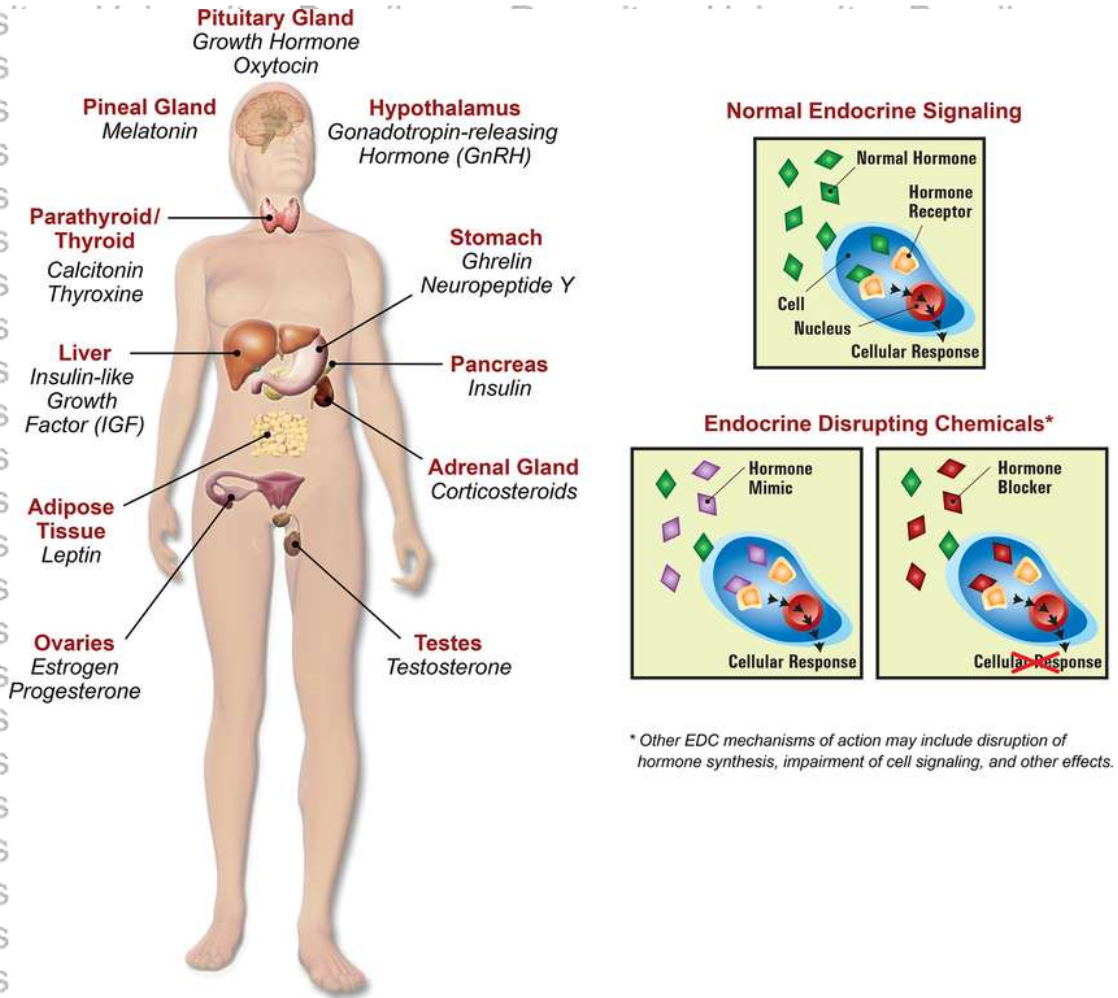
ED memiliki beberapa mekanisme kerja dasar antara lain: (1) memiliki efek menyerupai hormon alamiah yang berperan sebagai ligan pada *binding sites*; (2) memiliki efek antagonis terhadap hormon alamiah dengan cara memblokir interaksi hormon tersebut dengan *binding sites*; (3) bereaksi secara langsung maupun tidak langsung dengan hormon alamiah tersebut; (4) mengubah pola alamiah sintesis dan degradasi hormon; atau (5) mengubah kadar reseptor hormon pada tingkat seluler. Mekanisme utama isoflavon sebagai ED adalah mempengaruhi kerja hormon estrogen. Ia mempengaruhi kerja reseptor estrogen pada inti sel yang disebut dengan ER β . Isoflavon terikat dan mengaktifkan transkripsi baik pada ER α maupun ER β , tetapi secara umum memiliki afinitas pengikatan lebih besar pada ER β (Patisaul, 2017).

Genistein memiliki ciri khas sebagai inhibitor kompetitif dari *11 β -hydroxysteroid dehydrogenase* tipe 1, yang menghasilkan bioaktif glukokortikoid, misal kortisol, dari prekursor inaktif (Tagawa et al., 2015). Ia memiliki peran dalam mengatur homeostasis lipid dan karbohidrat. Genistein diketahui memiliki efek "*obesogens*", yang dapat memicu adipogenesis dan menimbulkan kenaikan berat badan (Darbre, 2017).

Genistein dapat mempengaruhi dua jenis hormon di dalam tubuh antara lain insulin dan leptin, yang terkait erat dengan konsumsi makanan dan metabolisme tubuh. Pada penelitian yang dilakukan Nogowski dkk. (2007) didapatkan bahwa



paparan genistein menyebabkan penurunan kadar insulin dan leptin pada tikus betina yang belum matang secara seksual (Nogowski et al., 2007).



* Other EDC mechanisms of action may include disruption of hormone synthesis, impairment of cell signaling, and other effects.

Gambar 2. 13 Mekanisme aksi *endocrine disruptors* (Schug et al., 2016)

Genistein merupakan isoflavon terbanyak yang terkandung dalam kedelai berperan besar pada perubahan metabolik dan merupakan regulator adipogenik salah satunya ialah *Peroxisome-Proliferator-Activated Receptors* γ (PPAR γ), yang memicu akumulasi lemak dalam jaringan adiposa. (Gul and Bakir, 2018). Penelitian eksperimental terkini menyimpulkan bahwa genistein menimbulkan gangguan



regulasi sinyal jaringan adiposa dengan mempengaruhi gen *Wnt10b*, gen kunci yang berperan pada adipogenesis (Nappi et al., 2016).

Paparan *endocrine disruptors* (salah satunya fitoestrogen) juga diketahui dapat menimbulkan gangguan seksual dismorfik antara lain *cryptorchidism*, hipospadia, oligospermia, kanker testis, dan hiperplasia prostat pada pria. Sedangkan pada wanita didapatkan pubertas dini, seksual prekoks, gangguan ovulasi (misal *polycystic ovary syndrome*, PCOS) yang terjadi akibat paparan ED. ED diketahui memiliki efek mirip estrogen dan/atau androgen yang menimbulkan gangguan hormonal sehingga terjadi gangguan dismorfik seksual dan gangguan sistem reproduksi manusia (Chevalier and Fénelichel, 2015).

Suplementasi genistein dapat memicu respon umpan balik negatif pada kelenjar hipofisis sehingga terjadi penurunan sintesis androgen (Sweeney et al., 2015). Suplementasi genistein dengan dosis 25 ppm atau lebih secara bermakna menyebabkan hiperplasia dan hipertrofi duktus dan alveolar kelenjar payudara pada tikus *Sprague dawley* jantan (Delclos et al., 2001).

Pada penelitian yang dilakukan Awobajo dkk. (2013) didapatkan bahwa paparan genistein oral pada tikus betina menyebabkan perubahan siklus estrus dan gangguan fertilisasi oosit pada masa ovulasi, selain itu paparan genistein oral pada tikus pada masa kehamilan menimbulkan gangguan pada janin dikarenakan adanya efek inhibisi pada kelangsungan hidup korpus luteum dan produksi progesteron (Awobajo et al., 2013).

Sebuah metaanalisis yang dilakukan Hooper dkk. (2009) disimpulkan bahwa suplementasi isoflavon dapat menghambat stimulasi *luteinizing hormone* (LH) dan



follicle stimulating hormone (FSH) (Hooper et al., 2009). Sebuah studi kohort retrospektif yang dilakukan di *University of Iowa* melibatkan 811 wanita muda, didapatkan sebanyak 248 wanita yang diberikan susu formula berbasis soya pada masa bayi, mengalami perdarahan menstrual yang lebih panjang dan mengalami nyeri haid yang lebih lama dibandingkan wanita muda (563 orang) yang mendapatkan susu formula non-soya saat bayi (Strom et al., 2001).

2.7. Efek Goitrogenik Genistein

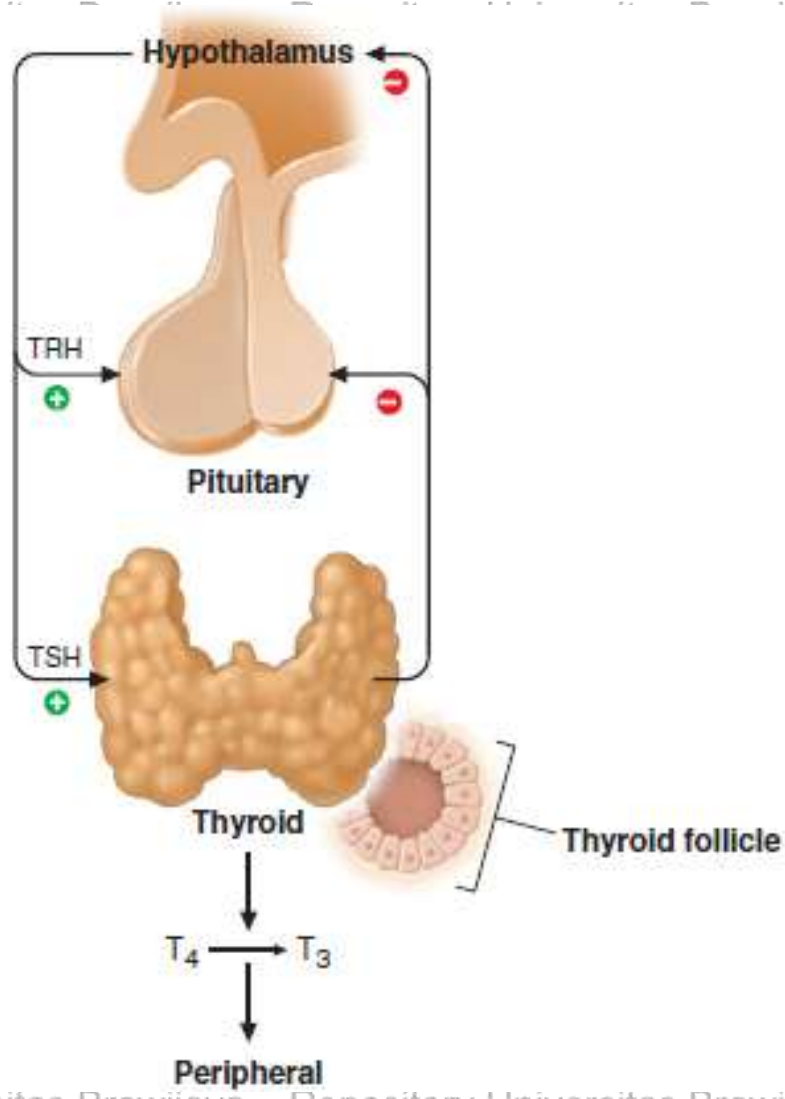
2.7.1. Fisiologi Hormon Tiroid

Biosintesis Hormon Tiroid

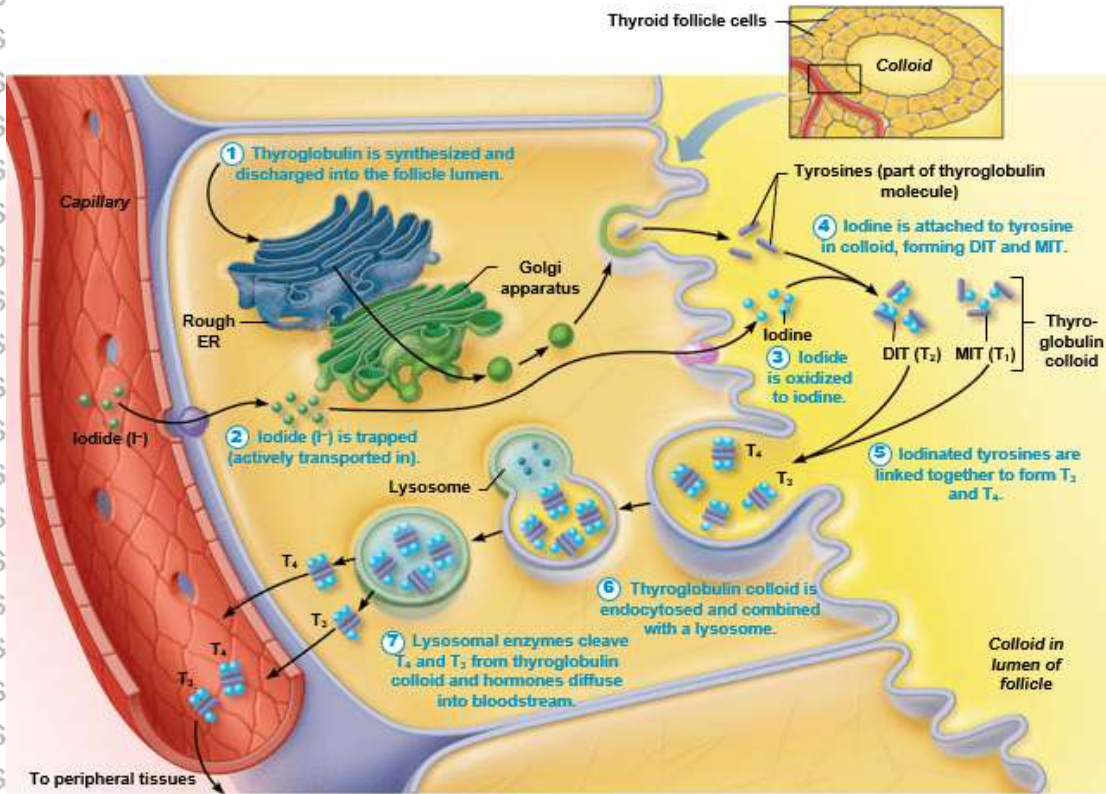
Hormon tiroid memiliki peran penting dalam diferensiasi, pertumbuhan, perkembangan, dan fungsi dari berbagai jaringan tubuh. Ia diketahui merupakan regulator kunci yang mengatur konsumsi oksigen dan metabolisme basal. Efek langsung hormon tiroid dapat ditemukan pada jantung, dan jaringan metabolik aktif yang meliputi hati, jaringan adiposa, dan otot skeletal. Hormon tiroid juga terlibat dalam regulasi sentral keseimbangan energi pada tingkat hipotalamus (Palkowska-Goździk et al., 2017).

Proses biosintesis hormon tiroid secara skematis terdiri dari beberapa tahap antara lain a). tahap *trapping*; b). tahap oksidasi; c). tahap *coupling*; d). tahap penimbunan atau *storage*; e). tahap deiodinasi; f). tahap proteolisis dan g). tahap sekresi hormon dari kelenjar tiroid. Hormon tiroid amat istimewa karena mengandung 59-65% elemen iodium. Hormon T_3 dan T_4 , berasal dari iodinasi cincin fenol residu tirosin yang ada di tiroglobulin. Awalnya terbentuk mono- dan

diiodotirosin, yang kemudian mengalami proses penggabungan (*coupling*) menjadi T_3 dan T_4 (Jameson, 2010).

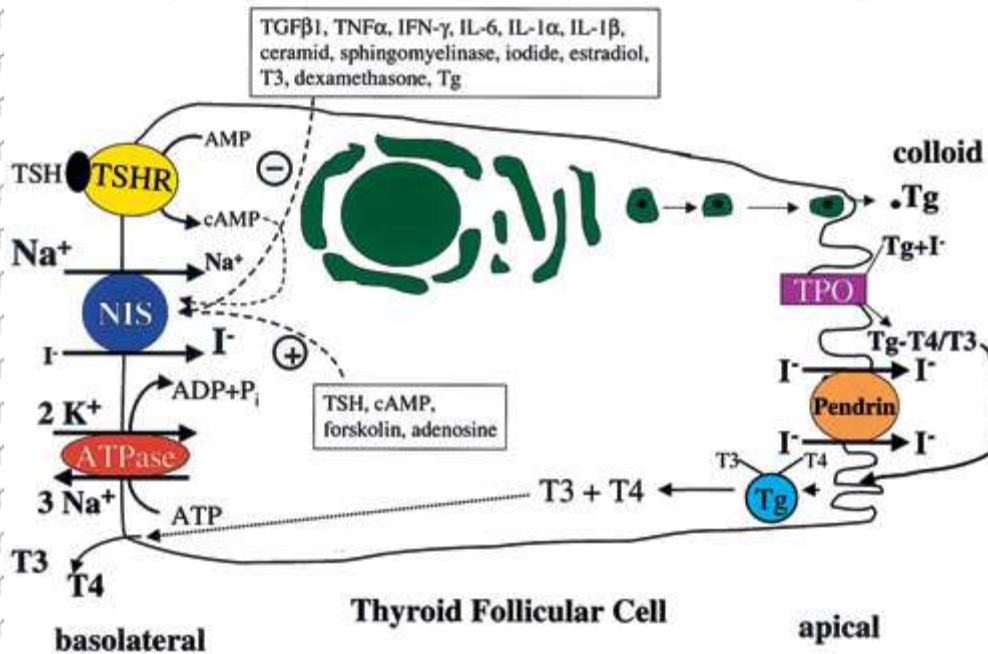


Gambar 2. 14 Aksis regulasi sintesis hormon tiroid (Jameson, 2010)



Gambar 2. 15 Biosintesis hormon tiroid (Arrangoiz et al., 2018)

Iodida (I⁻) yang memasuki kelenjar tiroid kemudian mengalami *trapping* yang kemudian diangkut ke membran apikal sel folikel tiroid bersama dengan ion Na⁺ dengan bantuan protein transporter. Protein transporter ini disebut *Na⁺/I⁻ symporter* (NIS), yang berada di membran basal. Aktivasinya bergantung pada ketersediaan O₂ dan energi yang diperoleh dari ATP. Proses ini distimulasi oleh TSH sehingga mampu meningkatkan konsentrasi iodium intrasel 100-500X lebih tinggi dibanding kadar ekstrasel. Hal ini dipengaruhi juga oleh tersedianya iodium dan aktivitas tiroid. Ion iodida tersebut kemudian mengalami oksidasi yang melibatkan tiroperoksidase dan hidrogen peroksida (Spitzweg and Morris, 2002, Jameson, 2010).



Gambar 2. 16 Peran sodium iodide symporter (SIS/NIS) dalam transportasi iodium masuk ke sel folikel (Spitzweg and Morris, 2002)

Atom iodida reaktif yang telah melangami oksidasi tersebut kemudian terikat kepada residu tirosil di dalam tiroglobulin (Tg). Proses tersebut dinamakan organifikasi (*organification*). Tg merupakan protein terbanyak yang terdapat di dalam kelenjar tiroid yang disintesis di dalam retikulum endoplasmik dan glikosilasinya disempurnakan di dalam aparatus golgi sel folikel tiroid. Ia merupakan salah satu protein terbesar di dalam tubuh manusia dengan berat molekul 660 kDa yang terdiri atas 2750 residu asam amino. Molekul tiroglobulin, melalui proses oksidasi (*folding process*), glikosilasi, dan dimerisasi. Hanya molekul Tg tertentu (*folded molecule*) yang dapat mencapai membran apikal, dimana peristiwa selanjutnya terjadi. Adapun protein kunci lain yang akan berperan adalah tiroperoksidase (TPO). Proses di apeks melibatkan iodida, Tg, TPO dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Produksi H_2O_2 ,



membutuhkan kalsium, NADPH dan NADPH oksidase. Iodida dioksidasi oleh H_2O_2 dan TPO yang selanjutnya menempel pada residu tirosil yang ada dalam rantai peptida Tg, membentuk *3-monoiodotirosin* (MIT) atau *3,5-diiodotirosin* (DIT). Proses selanjutnya berupa reaksi *coupling* yaitu dua residu DIT bergabung membentuk T_4 (*tetraiodothyronine*) atau satu residu MIT bergabung dengan satu residu DIT membentuk T_3 (*triiodothyronine*). Reaksi ini juga dikatalisasi oleh TPO dan dimediasi oleh hidrogen peroksida (Arrangoiz et al., 2018).

Sesudah pembentukan hormon selesai, Tg disimpan ekstrasel yaitu di lumen folikel tiroid. Umumnya sepertiga iodium disimpan sebagai T_3 dan T_4 , dan sisanya dalam bentuk MIT dan DIT. Bahan koloid yang ada dalam lumen sebagian besar terdiri dari Tg. Koloid merupakan tempat penyimpanan hormon maupun iodium, yang akan dikeluarkan apabila dibutuhkan. Apabila sel folikel tiroid terstimulasi oleh TSH, maka selanjutnya Tg dimobilisasi dari koloid menuju sel tiroid melalui proses yang dinamakan *micropinocytosis*. Molekul Tg intraseluler melalui sekurang-kurangnya satu dari tiga jalur yang berbeda meliputi destruksi proteolitik, *recycle* ke dalam lumen folikuler, atau *transcytosis*. Pada jalur pertama, Tg memasuki sistem endosomal ke lisosom, dimana residu MIT, DIT, T_3 , dan T_4 dipilih secara selektif.

Residu MIT dan DIT bebas dilepaskan dari lisosom dan tidak dapat digabungkan untuk membentuk T_4 dan T_3 akan mengalami deiodinasi membentuk ion iodida (I^-) dan tirosin yang kemudian digunakan ulang untuk mensintesis dan organifikasi tiroglobulin yang baru. Enzim utama yang bertanggungjawab pada proses daur ulang iodida adalah *iodotyrosine dehalogenase 1* (DEHAL 1). Selain itu, cathepsins D, B, dan L, yang merupakan protease lisosom, berperan pada lokasi pembelahan di



Tg sehingga dapat menghasilkan hormon yang kaya polipeptida. Selanjutnya, hormon tersebut dihidrolisis oleh eksopeptidase (*lysosomal dipeptidase I*) yang kemudian dilepaskan T_3 dan T_4 (iodotiroinin) bebas ke sirkulasi, sedangkan Tg-MIT dan Tg-DIT (iodotirosin) tidak dikeluarkan tetapi mengalami deiodinasi oleh iodotirosin deiodinase, dan iodidanya masuk kembali ke simpanan iodium intratiroid (*intrathyroidal pool*) sebagai upaya untuk konservasi iodium (Arrangoiz et al., 2018).

Meskipun TSH merupakan regulator hormonal dihasilkan oleh hipotalamus yang paling dominan dalam mengatur fungsi hormon tiroid. Terdapat berbagai faktor yang mempengaruhi sintesis hormon tiroid. Faktor tersebut antara lain *insulin-like growth factor I* (IGF-I), *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor β* (TGF- β), endotelin, dan berbagai jenis sitokin. Defisiensi iodium meningkatkan ambilan NIS dan hormon tiroid sirkulasi. Kelebihan iodium menghambat organifikasi iodida. Hal ini dikenal sebagai autoregulasi kelenjar tiroid. Fenomena ini dikenal sebagai efek *Wolff-Chaikoff* (Carvalho and Dupuy, 2017).

Transportasi Hormon Tiroid

Pada kondisi normal, sebanyak 90% hormon tiroid disekresikan oleh kelenjar tiroid dalam bentuk T_4 dan 10% dalam bentuk T_3 . Hampir semua hormon tiroid yang terdapat dalam sirkulasi terikat pada protein serum, hanya 0,3% dari T_3 dan 0,03% dari T_4 dalam bentuk bebas. T_3 memiliki waktu paruh kurang lebih 24 jam, dan T_4 memiliki waktu paruh 6-7 hari. Mayoritas hormon tiroid yang bersirkulasi terkait pada protein pembawa, sebanyak 95% terikat pada *thyroid binding globulin* (TBG), *transthyretin* (TTR), atau albumin. TBG memiliki afinitas tertinggi pada hormon tiroid.

Sisanya sebanyak 4-5% hormon tiroid terikat pada pembawa hormon lainnya antara



lain lipoprotein, imunoglobulin, dan lipocalins. *Transthyretin*, sebelumnya disebut *thyroxine-binding prealbumin* atau TBPA terdapat baik di dalam serum maupun cairan serebrospinal dan memiliki afinitas lebih rendah dibandingkan TBG. Albumin memiliki afinitas terhadap hormon tiroid yang paling rendah tetapi jumlahnya terbanyak di dalam serum (Arrangoiz et al., 2018).

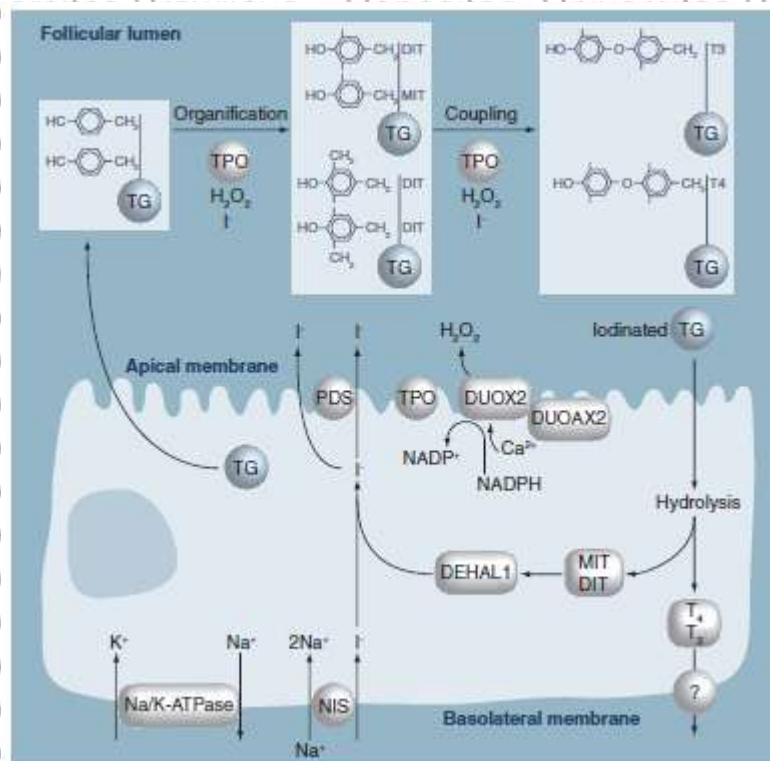
Dalam keadaan normal, kadar iodotironin total menggambarkan kadar hormon bebas, namun pada keadaan tertentu jumlah *protein binding* dapat berubah. *Protein binding* meningkat pada neonatus, penggunaan estrogen termasuk kontrasepsi oral, penyakit hati kronik dan akut, naiknya sintesis di hati karena pemakaian kortikosteroid dan kehamilan. Sedangkan penurunannya didapatkan pada penyakit ginjal dan hati kronik, penggunaan androgen dan steroid anabolik, sindrom nefrotik, dan dalam keadaan sakit berat. Penggunaan obat tertentu misalnya salisilat dan beberapa obat anti inflamasi menyebabkan kadar hormon total menurun karena obat tersebut mengikat protein secara kompetitif, akibatnya kadar hormon bebas meningkat. Arti klinis kadar hormon perlu diinterpretasikan dengan memperhatikan faktor faktor tersebut (Jameson, 2010).

Metabolisme T_3 dan T_4

Waktu paruh T_4 di plasma ialah 6 hari sedangkan T_3 24-30 jam. T_4 dianggap sebagai prekursor T_3 yang poten. Sebagian T_4 endogen (5-17%) mengalami konversi lewat proses monodeiodinasi menjadi T_3 oleh enzim deiodinase. Jaringan yang mempunyai kapasitas mengadakan perubahan (konversi) ini ialah jaringan hati, ginjal, jantung, dan hipofisis. Dalam proses konversi ini terbentuk juga rT_3 (*reversed T_3 , 3,3,5' triiodotiroinin*) yang secara metabolik tidak aktif. Karena hormon aktif ialah



T₃, bukan T₄, maka harus terjadi dulu konversi menjadi T₃ dahulu supaya mampu berfungsi dengan baik. Dengan adanya deiodinase, hormon aktif dapat dipertahankan guna mendukung kebutuhan manusia (Jameson, 2010, Leung et al., 2010).



Gambar 2. 17 Tahap iodinasi tiroglobulin dalam sintesis tiroksin (Leung et al., 2010)

DEHAL1: *Iodotyrosine dehalogenase 1*; DIT: *Diiodotyrosine*; DUOX2: *Dual oxidase type 2*; MIT: *Monoiodotyrosine*; NIS: *Sodium/iodide symporter*; PDS: *Pendrin*; TG: *Thyroglobulin*; TPO: *Thyroid peroxidase*.

Dikenal 3 macam deiodinase utama: DI, DII and DIII masing masing dengan fungsi khusus. Deiodinase tipe I, terutama terdapat pada kelenjar tiroid, hati, dan ginjal memiliki afinitas yang rendah terhadap T₄. Deiodinase tipe II memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap T₄ dan terutama ditemukan pada kelenjar hipofisis, otak,



brown fat, dan kelenjar tiroid. Ekspresi deiodinase tipe II berperan mengatur konsentrasi T_3 secara lokal. Deiodinase tipe II juga berperan mengatur hormon tiroid; hipotiroid menginduksi enzim, menyebabkan peningkatan konversi $T_4 \rightarrow T_3$ pada jaringan otak dan hipofisis. Konversi $T_4 \rightarrow T_3$ terganggu akibat kondisi puasa, penyakit sistemik atau trauma akut, obat-obatan kontras oral, dan berbagai obat-obatan (misal propiltiourasil, propranolol, amiodaron, glukokortikod). Deiodinasi tipe III : mengubah T_4 menjadi rT_3 (*reverse T₃*), T_3 menjadi T_2 khususnya di plasenta dengan tujuan untuk mengurangi masuknya hormon berlebihan dari ibu ke fetus (Jameson, 2010, Leung et al., 2010).

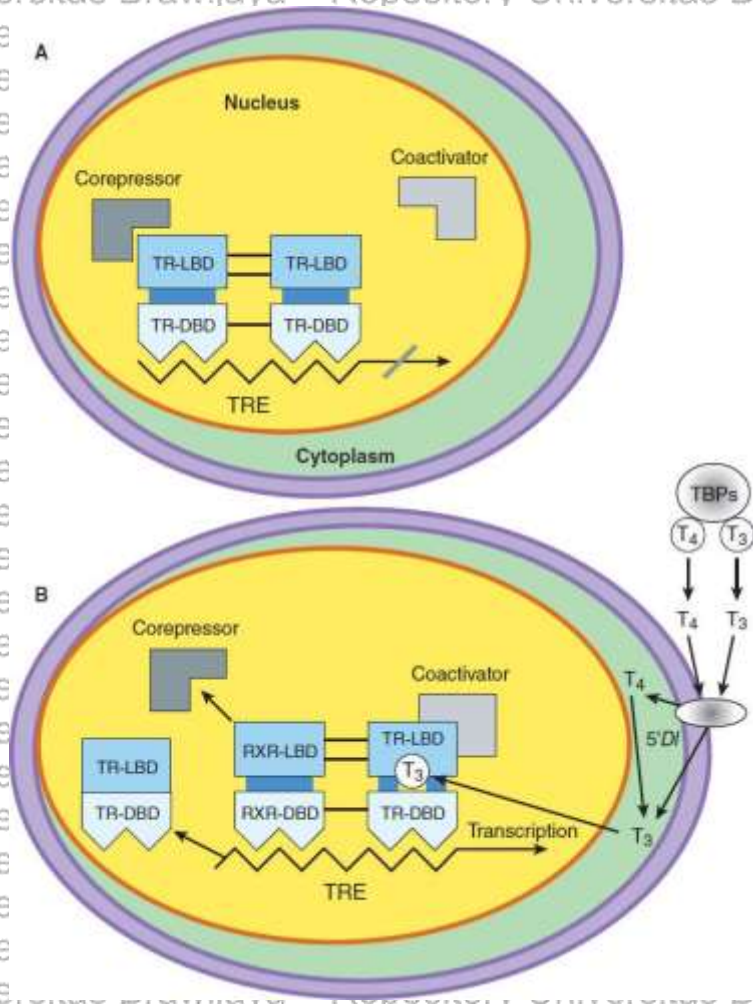
Aksi Seluler Hormon Tiroid

Hormon tiroid terikat dengan afinitas tinggi ke *thyroid hormone receptors* (TRs) α dan β . TR α dan TR β diekspresikan hampir di semua jaringan. TR α paling banyak didapatkan di otak, ginjal, gonad, otot, dan jantung, sedangkan TR β paling banyak ditemukan di hipofisis dan hati. Kerja hormon tiroid di perifer dapat dilihat pada Gambar 2.18 dalam Panel A dan Panel B. Keduanya menggambarkan sel dalam keadaan pasif, sebelum dimasuki hormon tiroid, dan fase aktif, dimana hormon T_3 , baik langsung dari sirkulasi maupun T_3 , yang masih harus dikonversi dari T_4 menjadi T_3 , mempengaruhi transkripsi gen, sehingga terjadi efek khusus sel (Jameson, 2010).

Panel A. Fase inaktif: ikatan TR dimer pada TRE bersama korepresor menghambat transkripsi gen. **Panel B.** Fase aktif : hormon bebas masuk ke sel dengan sistem transpor khusus. Di sel terjadi konversi T_4 menjadi T_3 oleh 5'-deiodinase, kemudian T_3 bergerak ke arah inti dan berikatan dengan TR-LBD dari



monomer TR. Ikatan ini menyebabkan lepasnya TR homodimer dan heterodimerisasi dengan RXR pada TRE dan dilepasnya korepresor. Sebaliknya terjadi ikatan dengan koaktivator. Dengan adanya kompleks TR-koaktivator ini terjadi transkripsi gen yang menyebabkan sintesis protein khas sel tersebut (Jameson, 2010).



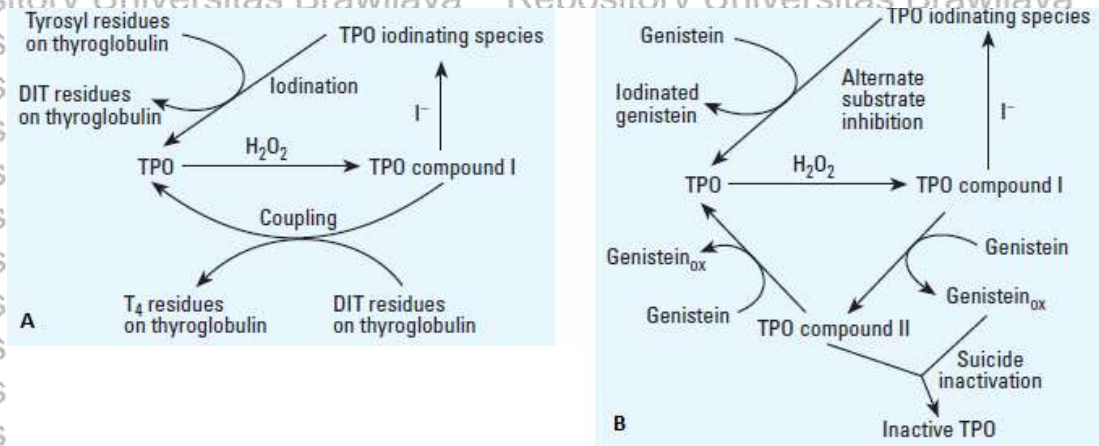
Gambar 2. 18 Aktivitas seluler hormon tiroid (Jameson, 2010)

(TR-LBD = T_3 receptor ligand-binding domain, TR-DBD = T_3 receptor DNA-binding domain, RXR-LBD = retinoid X receptor ligand-binding domain; RXR-DBD = retinoid X receptor DNA-binding domain; TRE = thyroid hormone responsive element; TBPs = thyroxine-binding proteins; 5'DI = 5'deiodinase)



2.7.2. Efek Antitiroid Genistein

Laporan awal terkait efek antitiroid flavonoid dipublikasikan pada tahun 1950an. Berdasarkan penelitian Moudgal dkk. (1958) diketahui bahwa tikus yang diberikan diet yang mengandung 20 mg *arachidoside* dan *anacardioside*, pigmen yang diisolasi dari kacang tanah, menyebabkan terjadinya goiter pada tikus tersebut. Pada penelitian tersebut disimpulkan bahwa flavonoid tidak hanya menghambat biosintesis hormon tiroid tetapi pula menurunkan ambilan iodium (*iodide uptake*) *in vitro*. Divi dkk. (1997) menemukan bahwa dua jenis flavonoid yang ditemukan pada kedelai, genistein dan daidzein, dapat menghambat aktivitas tiroid peroksidase. Selain itu pula, flavonoid memiliki efek antioksidan yang dapat meredam (*scavenge*) H_2O_2 , yang merupakan kofaktor tiroperoksidase (gambar 2.19) (dos Santos et al., 2011).



Gambar 2. 19 Mekanisme Antitiroid Genistein (A). Mekanisme sintesis T_4 yang dikatalisasi TPO, (B). Mekanisme inhibisi TPO oleh Genistein (Doerge and Sheehan, 2002)

(DIT, diiodotyrosine, TPO, thyroid peroxidase)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Milerova (2006) yang melibatkan 268 anak-anak di Republik Ceko yang rutin mengonsumsi susu kedelai disimpulkan



bahwa genistein dan daidzein dapat menghambat biosintesis hormon tiroid. Sehingga genistein dianggap memiliki efek goitrogenik (Milerová et al., 2006).

Terdapat penurunan bermakna aktivitas TPO pada tikus yang diberikan konsumsi genistein. Hal tersebut menimbulkan kondisi hipotiroid yang ditandai dengan penurunan kadar T₃/T₄ dan peningkatan kadar TSH. Pada penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Chang dkk. (2000) didapatkan kesimpulan bahwa konsumsi susu kedelai yang mengandung isoflavon dapat menurunkan kadar TPO secara bermakna (Chang and Doerge, 2000). Menurut Kimura dkk. pakan tikus yang kaya soya dapat menyebabkan hipotiroid berat yang ditandai dengan penurunan T₄, peningkatan TSH dan berat kelenjar tiroid, peningkatan proliferasi sel, dan perubahan histopatologis dari kelenjar tiroid yang normal (Doerge and Chang, 2002).

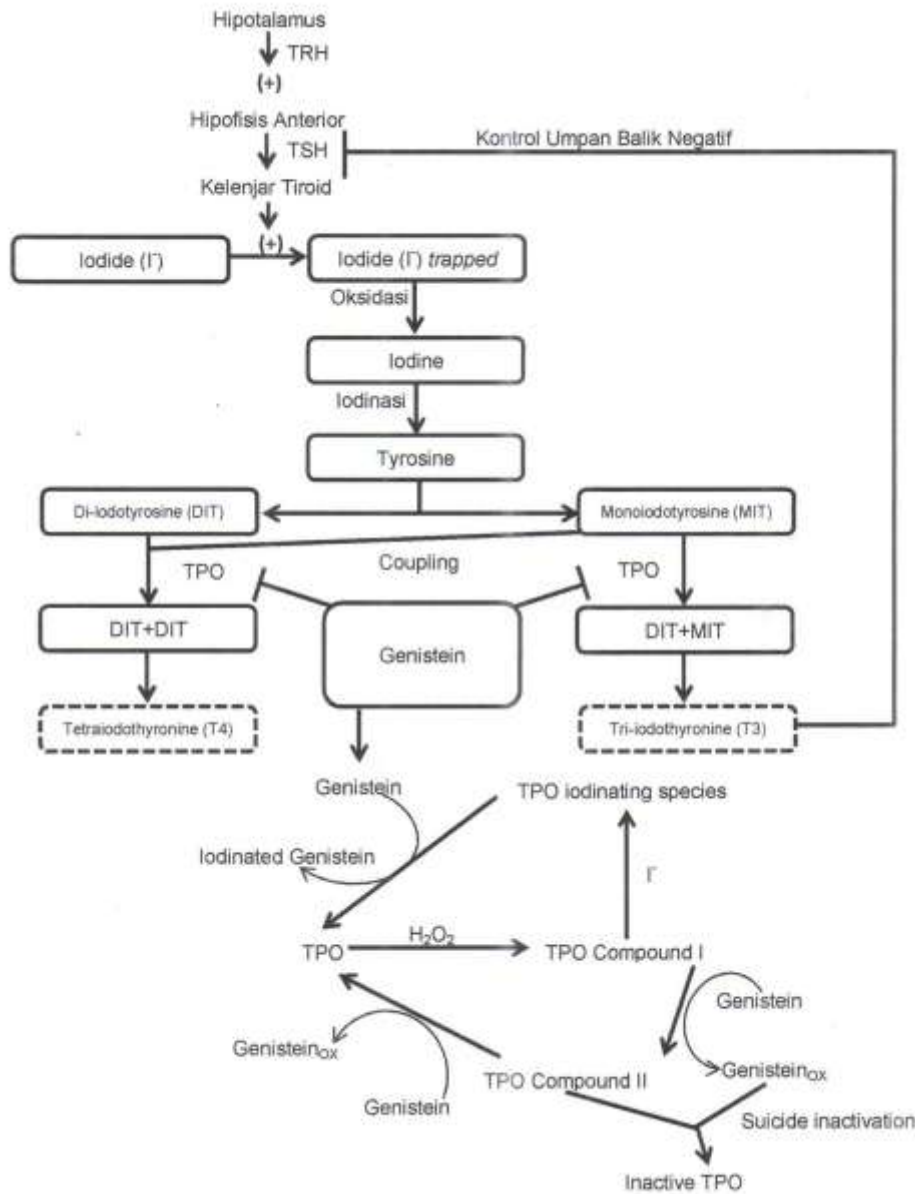
Efek goitrogenik susu kedelai diperankan oleh genistein dan daidzein, yang memiliki aktivitas antitiroid yang poten. Hal tersebut dikarenakan genistein mampu menurunkan kadar TPO dengan kemampuan yang lebih poten dibandingkan apigenin, luteolin, dan obat-obatan antitiroid seperti metimazole dan propiltiourasil (Fitzpatrick, 2000).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Jurvevic dkk. (2010), pada tikus Wistar berusia 16 bulan diberikan diet genistein 10 mg/kg dibandingkan dengan kelompok kontrol tikus Wistar yang hanya diberikan pakan tanpa kandungan kedelai kemudian dilakukan pemeriksaan kadar serum TSH, T₄ dan T₃ total. Pada kelompok yang diberikan genistein didapatkan peningkatan bermakna kadar TSH, penurunan bermakna kadar T₄ dan T₃ dibandingkan kelompok kontrol. Sehingga pada penelitian

BAB III

KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori Penelitian



Gambar.3. 1 Kerangka Teori Penelitian



Keterangan:

Biosintesis hormon tiroid terdiri dari beberapa tahap antara lain *trapping*, oksidasi, *coupling*, *storage*, deiodinasi, dan sekresi hormon dari kelenjar tiroid.

Regulasi biosintesis hormon tiroid dipengaruhi oleh aksis Hipotalamus-Hipofisis-

Kelenjar Tiroid. Hipotalamus menghasilkan *thyroid releasing hormone* (TRH) yang memicu hipofisis anterior untuk menghasilkan *thyroid stimulating hormone* (TSH).

TSH memicu kelenjar tiroid untuk mensintesis dan mensekresikan hormon tiroid.

Hormon tiroid memiliki umpan balik negatif untuk menghambat produksi TRH dan

TSH. TSH memicu Iodida (I⁻) memasuki kelenjar tiroid kemudian mengalami *trapping*

yang kemudian ditransportasikan ke membran apikal sel folikel tiroid bersama

dengan ion Na⁺ dengan bantuan protein transporter. Iodida kemudian mengalami

oksidasi menjadi Iodine. Iodine selanjutnya menempel pada tyrosine di koloid

membentuk *3-monoiodotirosin* (MIT) dan *3,5-diiodotirosin* (DIT). Proses selanjutnya

berupa reaksi *coupling* yaitu dua residu DIT bergabung membentuk T₄

(*tetraiodothyronine*) atau satu residu MIT bergabung dengan satu residu DIT

membentuk T₃ (*triiodothyronine*) yang dikatalisasi oleh *Thyroid Peroxidase* (TPO)

dan dimediasi oleh hidrogen peroksida (H₂O₂). Sebagian T₃ dan T₄ yang dihasilkan

selanjutnya akan dilepaskan ke dalam sirkulasi darah sesuai stimulasi yang

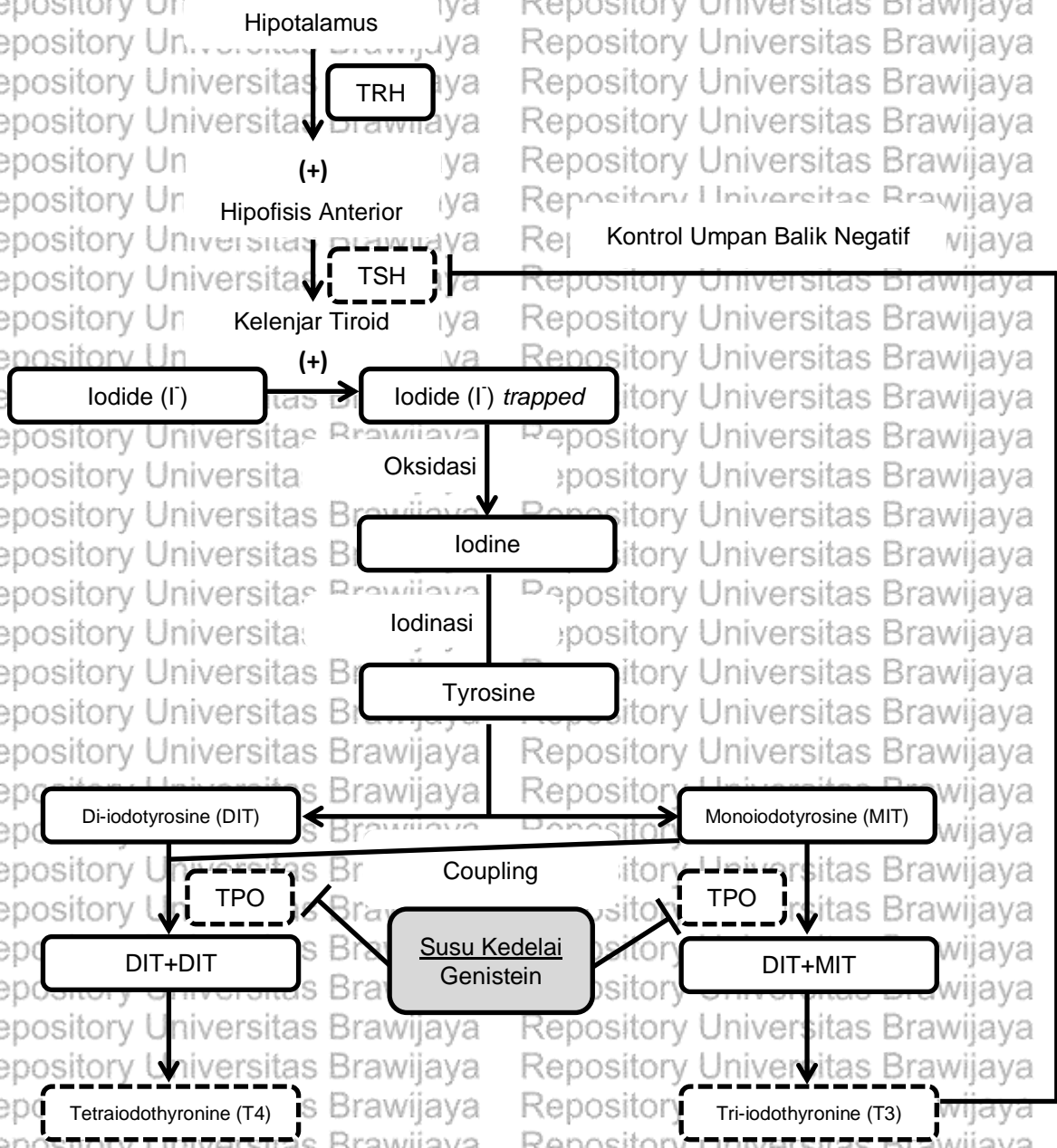
dihasilkan oleh TSH. Genistein, merupakan flavonoid yang terkandung pada kedelai

dapat menghambat aktivitas TPO. Genistein juga dapat meredam (*scavenge*) H₂O₂

yang merupakan kofaktor TPO. Apabila aktivitas H₂O₂ dan TPO dihambat oleh

genistein maka sintesis T₃ dan T₄ juga akan terganggu.

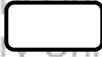
3.2: Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3. 2 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :



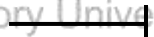
: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti



(+): Menginduksi



: Menghambat



: Perlakuan (intervensi)

3.3. Hipotesis Penelitian

1. Suplementasi genistein murni dapat menurunkan kadar serum TPO, T3, dan T4 serta meningkatkan kadar TSH pada tikus *Sprague Dawley* jantan.
2. Suplementasi susu kedelai dapat menurunkan kadar serum TPO, T3, dan T4 serta meningkatkan kadar TSH pada tikus *Sprague Dawley* jantan.



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *true experimental*. Metode penelitian yang digunakan adalah *randomized posttest only controlled group design* untuk mengetahui efek suplementasi genistein murni dan susu kedelai terhadap kadar serum TPO, T3, T4, dan TSH pada tikus *Sprague dawley* jantan.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembedahan dan pemeriksaan variabel penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2019.

4.3 Sampel Penelitian

4.3.1 Pemilihan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus jenis *Sprague Dawley*.

1. Kriteria inklusi: jenis kelamin jantan, umur 6-8 minggu, berat badan 160-200 gram, belum mengalami perlakuan apapun atau belum mendapat *intake* bahan kimia apapun, dan dalam keadaan sehat dengan ditandai bergerak aktif serta bulu tidak rontok.
2. Kriteria eksklusi: tikus tidak mau makan, tikus yang mengalami penurunan kondisi fisik atau mati.



4.3.2 Estimasi Besar Sampel

Besar sampel penelitian dihitung dengan menggunakan estimasi besar subjek penelitian. Estimasi besar sampel untuk subjek penelitian dihitung dengan menggunakan 7 kelompok perlakuan.

Rumus jumlah sampel menurut Federer (Supriyadi, 2014) :

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(7 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$6 (r - 1) \geq 15$$

$$r \geq (15/6) + 1$$

$$r \geq 3$$

t = banyak kelompok perlakuan

r = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Pada tiap kelompok diperlukan jumlah sampel sedikitnya 3 ekor untuk masing-masing perlakuan. Untuk mengantisipasi sampel yang sakit atau mati maka dilakukan koreksi dengan rumus (Supriyadi, 2014, Irmawartini and Nurhaedah, 2017):

$$1 = x$$

$$(1 - f)$$

$$(1 - 0,3)$$

$$1,4 = x$$

f = proporsi sampel yang drop out (10%),

x = penambahan sampel



Sehingga jumlah sampel 4 ekor untuk masing-masing perlakuan atau total sampel sebanyak 28 ekor.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas (Variabel Independen)

1. Suplementasi susu kedelai pada berbagai dosis
2. Suplementasi genistein pada berbagai dosis

4.4.2 Variabel Terikat (Variabel Dependen)

1. Kadar serum TPO (*thyroid peroxidase*)
2. Kadar serum TSH (*thyroid stimulating hormone*)
3. Kadar serum T4
4. Kadar serum T3

4.5 Definisi Operasional

1. Pakan standar, merupakan pakan standar Comfeed PARS. Komposisi Comfeed PARS/100 gram terdiri atas energi 344 kkal, protein 19 gram, lemak 4 gram, dan karbohidrat 59 gram. Pemberian sebanyak 70-80 gram per kandang/hari.
2. Susu kedelai, merupakan larutan dengan perbandingan 20 gr bubuk kedelai dan akuades 160 ml. Konsentrasi larutan adalah 125 mg/ml. Bubuk kedelai menggunakan Fressoya dengan nomor izin Pangan-Industri Rumah Tangga (PIRT) 815350701862 yang diproduksi oleh CV. Fresco Food Industry.
3. Genistein, merupakan larutan sebanyak 15 mg genistein murni dengan aquades 30 ml. Konsentrasi larutan 0,5 mg/ml. Genistein murni diproduksi oleh Wuhan Economic and Technological Development Zone, Wuhan, Hubei dengan nomor kalatog CFN98681.



4. Paparan subkronis, yaitu paparan perlakuan yang diberikan pada tikus dalam kurun waktu 28-90 hari (BPOM_RI, 2014). Pada penelitian ini menggunakan waktu selama 60 hari, yaitu setiap hari tikus dipapar dengan susu kedelai atau genistein melalui sonde.
5. Dosis susu kedelai, yaitu pemberian susu kedelai dengan dosis kecil 91 mg/hari, dosis sedang 182 mg/hari, dan dosis besar 364 mg/hari.
6. Dosis genistein, yaitu pemberian genistein dengan dosis kecil 0,4 mg/hari, dosis sedang 0,8 mg/hari, dan dosis besar 1,6 mg/hari.
7. Berat badan tikus, merupakan berat tikus yang diukur menggunakan neraca digital OHAUS Serie CL, pada hari ke-1 sebelum perlakuan, setiap minggu, dan sebelum tikus dikorbankan. Berat tikus dicatat dalam satuan gram (g).
8. Panjang badan tikus, merupakan panjang tikus yang diukur dari ujung hidung sampai ujung ekor dengan pita ukur metlin, pada hari ke-1 sebelum perlakuan, setiap minggu, dan sebelum tikus dikorbankan. Panjang tikus dicatat dalam satuan centimeter (cm).
9. Kadar TPO, merupakan kadar serum enzim *thyroid peroxidase* yang diukur menggunakan metode ELISA dengan nomor katalog ELISA Kit E0335Ra BT-lab. Kadar TPO dicatat dalam satuan ng/ml.
10. Kadar TSH, merupakan kadar serum *thyroid stimulating hormone* yang diukur menggunakan metode ELISA dengan nomor katalog ELISA Kit E0180Ra BT-lab. (TSH). Kadar TSH dicatat dalam satuan mIU/ml.



11. Kadar T₄ merupakan kadar serum *tetraiodothyronine* yang diukur menggunakan metode ELISA dengan nomor katalog ELISA Kit E0337Ra BT-lab. Satuan kadar T₄ dicatat dalam satuan ng/ml.

12. Kadar T₃ merupakan kadar serum *triiodothyronine* yang diukur menggunakan metode ELISA dengan nomor katalog ELISA Kit E0534Ra BT-lab. Satuan kadar T₃ dicatat dalam satuan pg/ml.

4.6 Bahan dan Alat

4.6.1 Bahan dan alat untuk pemeliharaan hewan coba

a. Alat pemeliharaan hewan coba (tikus *Sprague dawley*)

Tikus dipelihara di kandang tikus yang masing-masing berisi dua ekor tikus. Kandang dilengkapi dengan tempat pakan dan air minum. Kandang berukuran 15x30x42 cm.

b. Alat dan bahan untuk pembuatan pakan tikus

Alat yang dibutuhkan untuk pembuatan pakan harian adalah timbangan, neraca analitik, waskom, pengaduk, gelas ukur, penggilingan pakan dan nampan. Pakan tikus terdiri atas campuran antara pakan ayam/PARS 66,6% dan tepung terigu 33,4%. Sedangkan air minum yang digunakan adalah air yang berasal dari perusahaan air minum lokal.

4.6.2 Bahan dan alat untuk pembuatan larutan genistein

a. Alat untuk pembuatan genistein

Alat untuk pembuatan larutan genistein adalah timbangan, gelas ukur, sendok, pengaduk, spuit 3 ml, spuit 5 ml, dan sonde untuk memasukkan larutan genistein.



b. Bahan pembuatan larutan genistein

Genistein murni diproduksi oleh *Wuhan Economic and Technological Development Zone, Wuhan, Hubei* dengan nomor kalatog CFN98681 dan akuades.

4.6.3 . Bahan dan alat untuk pembuatan susu kedelai

a. Alat untuk pembuatan susu kedelai

Alat untuk pembuatan susu kedelai adalah timbangan, gelas ukur, sendok, pengaduk, spuit 3 ml, spuit 5 ml, dan sonde untuk memasukkan susu kedelai.

b. Bahan pembuatan susu kedelai

Kedelai bubuk fres soya dengan P-IRT nomor. 815350701862 yang diproduksi oleh CV. Fresco Food Industri dan akuades.

4.6.4 Bahan dan Alat untuk Pemeriksaan Serum

Alat yang digunakan adalah spuit 10 cc, tabung *Eppendorf*, pipet, mikropipet, dan sentrifuse.

4.6.5 Bahan dan Alat untuk Pemeriksaan ELISA

a. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan ELISA

- 1) *Microplate reader* dengan filter 450 ± 10 nm
- 2) *Multi channel* pipet dan *disposable tips*
- 3) Tabung *Eppendorf*
- 4) Kontainer
- 5) Vortex
- 6) *ELISA reader*
- 7) Pencatat waktu (*timer*)

b. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan ELISA



- 1) Larutan *buffer*, BSA 1 %, PBS, Tween, Ab primer, Ab sekunder (Ig G, biotin), *surblue* TMB, HCL 1 N
- 2) Akuades steril
- 3) *Absorbent paper*
- 4) Serum tikus
- 5) ELISA Kit :
 - ELISA Kit TPO E0335Ra BT-lab
 - ELISA Kit TSH E0180Ra BT-lab
 - ELISA Kit T4 E0337Ra BT-lab
 - ELISA Kit T3 E0534Ra BT-lab

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Analisa kandungan genistein pada susu kedelai

4.7.1.1 Pemesanan susu kedelai dan genistein

- 1) Bubuk kedelai murni (merk Fressoya dengan P-IRT nomor 815350701862 diproduksi oleh CV. Fresco Food Industri)
- 2) Genistein murni (diproduksi oleh *Wuhan Economic and Technological Development Zone*, Wuhan, Hubei dengan nomor kalatog CFN98681).

4.7.1.2 Tempat analisa susu kedelai

Analisa kandungan genistein pada susu kedelai dilakukan di Laboratorium Uji Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

4.7.1.3 Metode analisa susu kedelai

Analisa kandungan genistein pada susu kedelai dilakukan dengan menggunakan metode *high performance liquid chromatography* (HPLC).



4.7.2 Sebelum perlakuan pada subyek

4.7.2.1 Pemesanan ELISA Kit

- ELISA Kit TPO E0335Ra BT-lab
- ELISA Kit TSH E0180Ra BT-lab
- ELISA Kit T4 E0337Ra BT-lab
- ELISA Kit T3 E0534Ra BT-lab

ELISA Kit disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan

4.7.2.2 Pemesanan tikus

Sampel tikus sesuai kriteria inklusi yaitu tikus *Sprague Dawley* sebanyak 28 ekor, jenis kelamin jantan, umur 6-8 minggu, berat badan antara 160–200 gram, warna bulu putih dan aktif.

Dari penghitungan rumus besar sampel diperlukan 3 ekor untuk tiap perlakuan (sebanyak 7 perlakuan) dan ditambahkan 1 ekor untuk tiap kelompok untuk mengantisipasi bila ada tikus yang sakit/mati.

4.7.2.3 Pembuatan pakan

Pakan yang digunakan adalah pakan standar *Comfeed PARS*. Komposisi *comfeed PARS*/100 gram terdiri atas energi 344 kkal, protein 19 gram, lemak 4 gram, dan karbohidrat 59 gram (Luthfiah and Widjanto, 2013).

4.7.2.4 Pembuatan larutan genistein

Genistein diberikan pada tikus dalam bentuk larutan genistein. Larutan genistein dibuat dengan melarutkan bubuk genistein sebanyak 15 mg ke dalam akuades 30 ml. Dosis genistein yang digunakan dalam perlakuan pada penelitian ini berdasarkan dosis konsumsi genistein manusia (berat standar 60 kg) di negara-



negara Asia dengan rentang dosis 20-80 mg/hari (Pihlajamaa et al., 2011). Dosis yang diujikan pada tikus adalah 20 mg/hari, 40 mg/hari, dan 80 mg/hari pada manusia. Sehingga dosis konversi pada tikus menggunakan rumus konversi (Nair and Jacob, 2016):

$$\text{Dosis hewan tikus (mg/kg)} = \text{dosis manusia/hari (mg/kg)} \times \text{Km (konstanta)}$$

(Km untuk tikus = 6,2),

maka dosis yang akan diberikan pada tikus sebesar 0,4 mg , 0,8 mg, dan 1,6 mg/200 g berat tikus/hari.

Tabel 4.1. Konversi dosis genistein manusia ke dalam dosis genistein dan dosis susu kedelai pada tikus *Sprague dawley*

Dosis Genistein Manusia	Dosis Genistein Hewan Coba	Dosis Susu Kedelai Hewan Coba
20 mg/hari	0,4 mg/hari	91 mg/hari
40 mg/hari	0,8 mg/hari	182 mg/hari
80 mg/hari	1,6 mg/hari	364 mg/hari

4.7.2.5 Pembuatan susu kedelai

Susu kedelai dibuat dengan melarutkan bubuk kedelai murni dicampur dengan akuades dengan perbandingan 20 gr kedelai bubuk dengan akuades 160 ml. Berdasarkan hasil analisa kandungan genistein pada bahan baku bubuk kedelai, maka perlakuan diberikan susu kedelai sebanyak 0,8 cc sekali per hari, 1,6 cc sekali per hari dan, 1,6 cc dua kali per hari.

4.7.2.5 Persiapan kandang dan aklimatisasi

Selama perawatan tikus dimasukkan 2 ekor dalam satu kandang. Tiap kandang berukuran 15x30x42 cm. Kandang ditutup dengan jaring kawat dan diberi sekam serbuk kayu yang diganti tiap minggu.

Tikus *Sprague dawley* jantan yang dilibatkan dalam penelitian ini sebanyak 28 ekor, berusia 6-8 minggu dengan berat badan 160 – 200 gram dan



sehat pada pemeriksaan fisik. Tikus sehat ditandai dengan mata jernih, bulu mengkilap, gerakan aktif atau lincah, dan feses tidak lembek. Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi dengan kondisi laboratorium selama 7 hari, dengan tujuan untuk menyesuaikan dengan lingkungan. Selama aklimatisasi, tikus diberi pakan (diet standar (diet normal) dan minuman yang diberikan secara *ad libitum*. Temperatur ruangan 22–25^o C, dan diberikan penerangan cahaya selama 12 jam bergantian 12 jam dalam keadaan gelap.

Tikus dibagi menjadi 7 kelompok, masing-masing 4 ekor tikus. Pembagian kelompok pada tikus ini dilakukan secara acak. Lalu masing-masing kelompok diberi label 1 hingga 7 untuk membedakan perlakuan yang diberikan. Adapun pembagian kelompok:

- Kelompok 1 : Kontrol negatif
- Kelompok 2 : Perlakuan dengan susu kedelai dosis rendah
- Kelompok 3 : Perlakuan dengan susu kedelai dosis sedang
- Kelompok 4 : Perlakuan dengan susu kedelai dosis tinggi
- Kelompok 5 : Kontrol positif, dengan genistein dosis kecil
- Kelompok 6 : Kontrol positif, dengan genistein dosis sedang
- Kelompok 7 : Kontrol positif, dengan genistein dosis tinggi

Sebelum dimulai perlakuan, masing-masing tikus diukur berat badannya dan diamati gerakannya untuk memastikan tikus sehat pada saat dimulainya perlakuan.



4.7.3 Selama perlakuan pada subyek

4.7.3.1 Pengelompokan Subyek

Setelah aklimatisasi, 28 ekor tikus (*Sprague dawley*) dikelompokkan menjadi 7 kelompok (kelompok I, II, III, IV, V, VI, dan VII) dan setiap kelompok terdiri atas 4 ekor tikus. Pengelompokan tikus tersebut dalam *timeline* penelitian dihitung sebagai hari ke-1.

4.7.3.2 Perlakuan pada kelompok 1

Tabel 4. 2 Perlakuan pada Kelompok 1

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>). Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu
Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> Berat badan tikus ditimbang dan dicatat Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. Sampel darah diambil melalui <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus diberi formalin 10%

4.7.3.2 Perlakuan pada kelompok 2

Tabel 4. 3 Perlakuan pada Kelompok 2

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>). Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu
Hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> Diberikan tambahan berupa susu kedelai sebanyak 0,8 ml sekali sehari pada pagi hari dengan menggunakan sonde. Setelah pemberian susu kedelai tikus diamati selama 15 menit untuk mengamati apakah tikus muntah



Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat • Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. • Sampel darah diambil dengan <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C • Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus di beri formalin 10%
------------	--

4.7.3.3 Perlakuan pada kelompok 3

Tabel 4. 4 Perlakuan pada Kelompok 3

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>) • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu
Hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Diberikan tambahan berupa susu kedelai sebanyak 1,6 ml sekali sehari pada pagi hari dengan menggunakan sonde • Setelah pemberian susu kedelai tikus diamati selama 15 menit untuk mengamati apakah tikus muntah
Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat • Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. • Sampel darah diambil dengan <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C • Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus di beri formalin 10%

4.7.3.4 Perlakuan pada kelompok 4

Tabel 4. 5 Perlakuan pada Kelompok 4

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>) • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu
Hari ke-1	<ul style="list-style-type: none"> • Diberikan tambahan berupa susu kedelai sebanyak 1,6 ml dua kali



sd ke-60	<p>sehari dengan menggunakan sonde</p> <ul style="list-style-type: none"> • Setelah pemberian susu kedelai tikus diamati selama 15 menit untuk mengamati apakah tikus muntah
Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat • Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. • Sampel darah diambil dengan <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C • Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus di beri formalin 10%

4.7.3.5 Perlakuan pada kelompok 5

Tabel 4. 6 Perlakuan pada Kelompok 5

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>) • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu
Hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Diberikan tambahan berupa larutan genistein sebanyak 0,8 ml sekali sehari pada pagi hari dengan menggunakan sonde • Setelah pemberian susu kedelai tikus diamati selama 15 menit untuk mengamati apakah tikus muntah
Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat • Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. • Sampel darah diambil dengan <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C • Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus di beri formalin 10%

4.7.3.6 Perlakuan pada kelompok 6

Tabel 4. 7 Perlakuan pada Kelompok 6

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1	<ul style="list-style-type: none"> • Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>) • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu



sd ke-60	
Hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Diberikan tambahan berupa larutan genistein sebanyak 1,6 ml sekali sehari pada pagi hari dengan menggunakan sonde • Setelah pemberian susu kedelai tikus diamati selama 15 menit untuk mengamati apakah tikus muntah
Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat • Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. • Sampel darah diambil dengan <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C • Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus di beri formalin 10%

4.7.3.7 Perlakuan pada kelompok 7

Tabel 4. 8 Perlakuan pada Kelompok 7

Hari	Perlakuan
Selama perawatan hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Tikus diberikan pakan standar (diet normal) dan minum sesuai kebutuhan (<i>ad libitum</i>) • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat setiap minggu
Hari ke-1 sd ke-60	<ul style="list-style-type: none"> • Diberikan tambahan berupa larutan genistein sebanyak 1,6 ml dua kali sehari dengan menggunakan sonde • Setelah pemberian susu kedelai tikus diamati selama 15 menit untuk mengamati apakah tikus muntah
Hari ke-61	<ul style="list-style-type: none"> • Berat badan tikus ditimbang dan dicatat • Tikus dikorbankan (<i>euthanasia</i>) dengan cara dislokasi tulang leher dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah. • Sampel darah diambil dengan <i>cardiac puncture</i> untuk diambil serumnya. Lalu serum yang didapat digunakan untuk pemeriksaan TPO, TSH, T4, dan T3. Serum yang tersisa disimpan ditabung <i>Eppendorf</i> pada suhu -70°C • Organ jantung, hati, otak, paru-paru, ginjal dikoleksi dan disimpan dalam satu tabung untuk masing-masing tikus di beri formalin 10%

4.7.4 Setelah perlakuan pada subyek

4.7.4.1 Prosedur mengorbankan tikus (*euthanasia*)

Tikus dikorbankan pada hari ke-61. Metode yang digunakan adalah dislokasi *cervical*. Metode ini telah lama digunakan, dan akan dilakukan oleh tenaga yang



terlatih. Cara melakukannya adalah dengan meletakkan tongkat pada dasar kepala.

Lalu dengan tangan yang lain segera tarik ekor dan badan belakang ke atas,

sehingga terjadi pemisahan vertebra cervical dari kepala. Sebelum dilakukan

dislokasi cervical dilakukan tindakan anestesia terlebih dahulu dengan memberikan

injeksi ketamine 75 mg/kg intraperitoneal (Leary et al., 2013, Koolhaas, 2010).

Prosedur ini akan dilakukan dilaboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya.

4.7.4.2 Prosedur pengambilan serum

a) Darah tikus diambil dengan menggunakan spuit 10 ml dari jantung (*cardiac puncture*) setelah tikus dikorbankan.

b) Darah dimasukkan kedalam tabung *ependorf* yang tidak mengandung antikoagulan. Tabung *ependorf* ditutup dan dibiarkan pada suhu ruangan selama 1 jam.

c) Lakukan sentrifuse pada sampel selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm dengan suhu 4°C.

d) Ambil supernatan menggunakan pipet dengan hati-hati pada suhu ruangan. Lalu memindahkan pada tabung *ependorf* lain yang bersih. Hati-hati saat mengambil supernatan, jangan sampai mengenai lapisan yang keruh.

Digunakan pipet yang bersih dan berbeda untuk tiap sampel. Tiap sampel dimasukkan menjadi dua *ependorf* yang berbeda.

e) Serum kemudian diperiksa. Bila masih keruh, maka tindakan sentrifuse diulang kembali.



- f) Serum yang didapatkan diberi label sesuai dengan perlakuan yang didapatkan dan kelompok perlakuan.

4.7.4.3 Prosedur penyimpanan serum

Serum dimasukkan pada tabung *eppendorf* minimal 2 tabung dan disimpan pada suhu -80°C . Serum tersebut dicairkan saat akan dilakukan pemeriksaan.

4.7.4.4 Prosedur pemeriksaan TPO

- 1) Mempersiapkan reagen, larutan standar, dan sampel pada suhu kamar.
- 2) Memasukkan 50 μl larutan standar ke cawan larutan standar.
- 3) Memasukkan 40 μl larutan sampel ke cawan sampel, kemudian menambahkan 10 μl antibodi anti-TPO pada cawan tersebut, lalu menambahkan 50 μl streptavidin-HRP pada cawan sampel dan cawan standar (kecuali pada cawan kosong/kontrol) kemudian aduk merata. Panel ditutup menggunakan *sealer* dan selanjutnya diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C .
- 4) Melepaskan *sealer* dan mencuci masing-masing cawan dengan 0,35 ml larutan *buffer* selama 30 detik sampai 1 menit dan diulang sebanyak 5 kali. Selanjutnya panel dikeringkan dengan bahan absorben.
- 5) Menambahkan larutan substrat A 50 μl ke tiap cawan lalu larutan substrat B 50 μl ke tiap cawan tersebut. Panel cawan tersebut diinkubasi dan ditutup dengan *sealer* baru di ruang gelap selama 10 menit pada suhu 37°C .
- 6) Menambahkan larutan *stop* sebanyak 50 μl pada tiap cawan. Larutan berwarna biru kemudian berubah menjadi warna kuning.



- 7) Menentukan nilai *optical density* (OD) dari tiap cawan menggunakan *microplate reader set* dengan panjang gelombang 450 nm setelah 30 menit pemberian larutan *stop*.

4.7.4.5 Prosedur pemeriksaan TSH

- 1) Menambahkan 50 μ l larutan standar ke dalam cawan standar.
- 2) Menambahkan 40 μ l sampel ke dalam cawan sampel kemudian menambahkan 10 μ l antibodi anti-TSH cawan sampel, lalu menambahkan 50 μ l streptavidin-HRP ke dalam cawan sampel dan cawan standar (kecuali cawan kosong/kontrol). Tutup panel dengan *sealer*. Goyangkan panel secara perlahan agar larutan tercampur. Dilakukan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.
- 3) Melepaskan *sealer* dan mencuci masing-masing cawan dengan 0,35 ml larutan *buffer* selama 30 detik sampai 1 menit dan diulang sebanyak 5 kali. Selanjutnya panel dikeringkan dengan bahan absorben.
- 4) Menambahkan larutan substrat A 50 μ l ke tiap cawan lalu larutan substrat B 50 μ l ke tiap cawan tersebut. Panel cawan tersebut diinkubasi dan ditutup dengan *sealer* baru di ruang gelap selama 10 menit pada suhu 37°C.
- 5) Menambahkan larutan *stop* sebanyak 50 μ l pada tiap cawan. Larutan berwarna biru kemudian berubah menjadi warna kuning.
- 6) Menentukan nilai *optical density* (OD) dari tiap cawan menggunakan *microplate reader set* dengan panjang gelombang 450 nm setelah 30 menit pemberian larutan *stop*.

4.7.4.6 Prosedur pemeriksaan T4

- 1) Menambahkan 50 μ l larutan standar ke dalam cawan standar.



- Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya 70 Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya
- 2) Menambahkan 40 μ l sampel ke dalam cawan sampel kemudian menambahkan 10 μ l antibodi anti-T4 cawan sampel, lalu menambahkan 50 μ l streptavidin-HRP ke dalam cawan sampel dan cawan standar (kecuali cawan kosong/kontrol). Tutup panel dengan *sealer*. Goyangkan panel secara perlahan agar larutan tercampur. Dilakukan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.
 - 3) Melepaskan *sealer* dan mencuci masing-masing cawan dengan 0,35 ml larutan *buffer* selama 30 detik sampai 1 menit dan diulang sebanyak 5 kali. Selanjutnya panel dikeringkan dengan bahan absorben.
 - 4) Menambahkan larutan substrat A 50 μ l ke tiap cawan lalu larutan substrat B 50 μ l ke tiap cawan tersebut. Panel cawan tersebut diinkubasi dan ditutup dengan *sealer* baru di ruang gelap selama 10 menit pada suhu 37°C.
 - 5) Menambahkan larutan *stop* sebanyak 50 μ l pada tiap cawan. Larutan berwarna biru kemudian berubah menjadi warna kuning.
 - 6) Menentukan nilai *optical density* (OD) dari tiap cawan menggunakan *microplate reader set* dengan panjang gelombang 450 nm setelah 30 menit pemberian larutan *stop*.

4.7.4.7 Prosedur pemeriksaan T3

- Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya Repository Universitas Brawijaya
- 1) Menambahkan 50 μ l larutan standar ke dalam cawan standar.
 - 2) Menambahkan 40 μ l sampel ke dalam cawan sampel kemudian menambahkan 10 μ l antibodi anti-T3 cawan sampel, lalu menambahkan 50 μ l streptavidin-HRP ke dalam cawan sampel dan cawan standar (kecuali cawan kosong/kontrol). Tutup panel dengan *sealer*. Goyangkan panel secara perlahan agar larutan tercampur. Dilakukan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.



- 3) Melepaskan *sealer* dan mencuci masing-masing cawan dengan 0,35 ml larutan *buffer* selama 30 detik sampai 1 menit dan diulang sebanyak 5 kali. Selanjutnya panel dikeringkan dengan bahan absorben.
- 4) Menambahkan larutan substrat A 50 μ l ke tiap cawan lalu larutan substrat B 50 μ l ke tiap cawan tersebut. Panel cawan tersebut diinkubasi dan ditutup dengan *sealer* baru di ruang gelap selama 10 menit pada suhu 37°C.
- 5) Menambahkan larutan *stop* sebanyak 50 μ l pada tiap cawan. Larutan berwarna biru kemudian berubah menjadi warna kuning.
- 6) Menentukan nilai *optical density* (OD) dari tiap cawan menggunakan *microplate reader set* dengan panjang gelombang 450 nm setelah 30 menit pemberian larutan *stop*.

4.8 Analisis Data

Seluruh teknis pengolahan data hasil penelitian dianalisis secara komputerisasi dengan menggunakan piranti statistik IBM *Statistical Product and Service Solution Statistics* (SPSS) *version 20.0 for Windows* dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Data terkait karakteristik sampel berupa berat tikus dan panjang tikus pada awal penelitian dan akhir penelitian dianalisis menggunakan uji T berpasangan. Langkah-langkah uji hipotesis pada penelitian ini meliputi uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas ragam menggunakan uji homogenitas *Levene*. Kemudian perbandingan nilai rerata variabel terikat pada tiap kelompok perlakuan dilakukan uji komparasi melalui uji *One-way ANOVA*, dan *post hoc test*



menggunakan uji *Tukey HSD*. Selain itu, data rerata variabel terikat juga dianalisis menggunakan uji *standard error of measurement* (SEM) terkait terbatasnya jumlah sampel yang mewakili populasi. SEM dapat dihitung menggunakan rumus (Harvill, 1991, Patterson, 1955):

$$SEM = STDEV \times \sqrt{(1-r)}$$

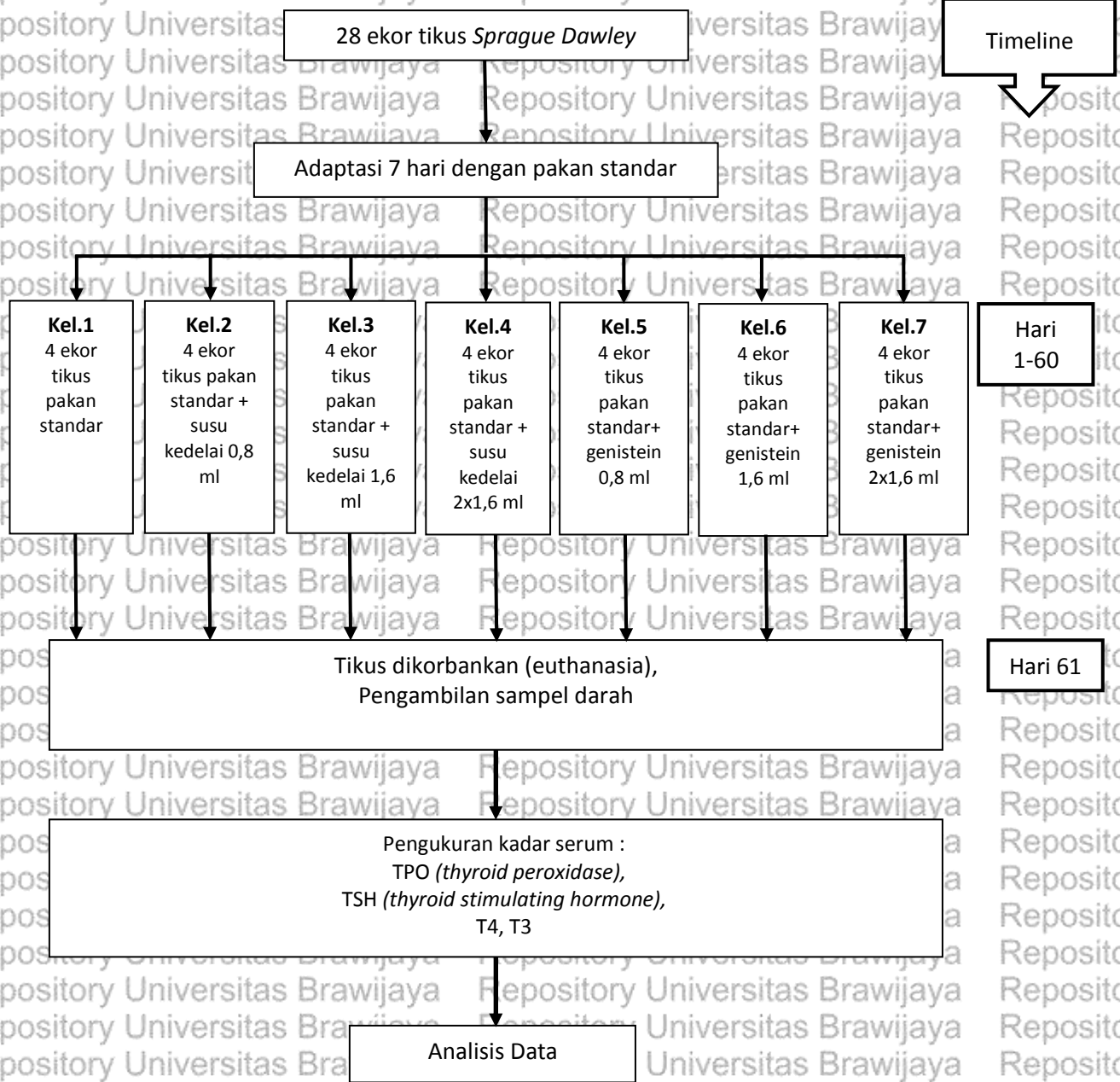
SEM : Standard Error of Measurement

STDEV : Standar Deviasi

r : Reliabilitas



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4. 1 Alur Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini subyek penelitian menggunakan tikus *Sprague dawley* jantan berjumlah 28 ekor sesuai dengan perhitungan berdasarkan rumus Federer. Sebanyak 3 ekor tikus dieksklusi karena mati dengan tanda-tanda infeksi selama periode pengamatan. Dengan demikian, subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 25 ekor. Hewan coba dipelihara dalam kandang individu.

Tabel 5.1 Karakteristik Hewan Coba

Karakteristik	Kel.1	Kel.2	Kel.3	Kel.4	Kel.5	Kel.6	Kel.7
Jumlah (ekor)	4	3	4	4	3	3	4
Diet	Pakan Standar						
Usia	6-8 minggu						
Jenis Kelamin	Jantan						
Keadaan Umum	Sehat, perilaku normal						

Keterangan : Kel.1 = kontrol negatif; Kel.2 = perlakuan susu kedelai 0,8 mL; Kel.3 = perlakuan susu kedelai 1,6 mL; Kel.4 = perlakuan susu kedelai 2x1,6 mL; Kel.5 = perlakuan genistein 0,8 mL; Kel.6 = perlakuan genistein 1,6 mL; Kel.7 = perlakuan genistein 2x1,6 mL.

Pada penelitian ini menggunakan 28 ekor tikus *Sprague dawley* jantan yang dibagi dalam 7 kelompok perlakuan. Tiap kelompok perlakuan terdiri atas 4 ekor tikus. Kelompok 1 merupakan kontrol negatif yang hanya diberikan pakan standar tanpa diberikan perlakuan apapun. Kelompok 2 merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan diberikan suplementasi susu kedelai 0,8 mL selama 60 hari. Kelompok 3 merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan diberikan suplementasi susu kedelai 1,6 mL selama 60 hari. Kelompok 4 merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan diberikan suplementasi susu



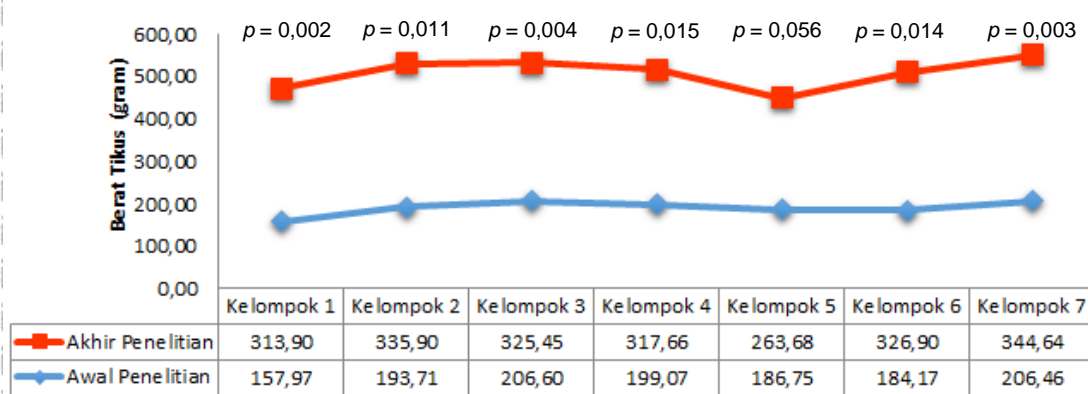
kedelai 2 x 1,6 mL selama 60 hari. Kelompok 5 merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan diberikan suplementasi genistein murni 0,8 mL selama 60 hari. Kelompok 6 merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan diberikan suplementasi genistein murni 1,6 mL selama 60 hari. Kelompok 7 merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan diberikan suplementasi genistein murni 2 x 1,6 mL selama 60 hari.

Tabel 5. 2 Perbandingan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian

	n (ekor)	Berat tikus (gram)		p
		Awal penelitian	Akhir penelitian	
Kelompok 1	4	157,97±18,20	313,90±35,07	0,002
Kelompok 2	3	193,71±19,23	335,90±22,74	0,011
Kelompok 3	4	206,60±19,3	325,45±26,24	0,004
Kelompok 4	4	199,07±10,73	317,66±51,08	0,015
Kelompok 5	3	186,75±12,77	263,68±32,54	0,056
Kelompok 6	3	184,17±10,95	326,90±37,29	0,014
Kelompok 7	4	206,46±10,98	344,64±26,86	0,003

Keterangan : Kelompok 1 = kontrol negatif; Kelompok 2 = perlakuan susu kedelai 0,8 mL; Kelompok 3 = perlakuan susu kedelai 1,6 mL; Kelompok 4 = perlakuan susu kedelai 2x1,6 mL; Kelompok 5 = perlakuan genistein 0,8 mL; Kelompok 6 = perlakuan genistein 1,6 mL; Kelompok 7 = perlakuan genistein 2x1,6 mL

Pada pengamatan berat tikus pada awal penelitian dan akhir penelitian tampak bahwa berat tikus mengalami kenaikan. Kenaikan berat tikus terjadi secara bermakna secara statistik pada hampir semua kelompok perlakuan yaitu pada kelompok 1 ($p = 0,002$), kelompok 2 ($p = 0,011$), kelompok 3 ($p = 0,004$), kelompok 4 ($p = 0,015$), kelompok 6 ($p = 0,014$), dan kelompok 7 ($p = 0,003$). Kenaikan berat tikus juga terjadi pada kelompok 5 pada akhir penelitian akan tetapi peningkatan tersebut tidak bermakna secara statistik ($p = 0,056$).



Gambar 5. 1 Grafik Perbandingan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian

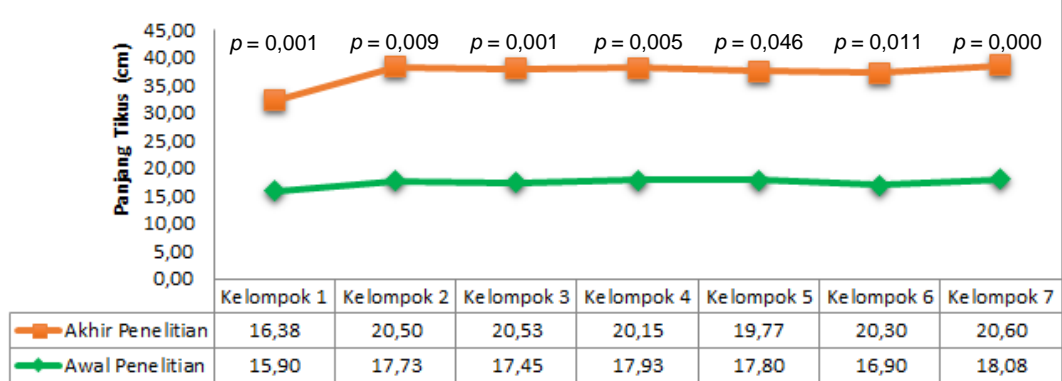
Keterangan : Kelompok 1 = kontrol negatif; Kelompok 2 = perlakuan susu kedelai 0,8 mL; Kelompok 3 = perlakuan susu kedelai 1,6 mL; Kelompok 4 = perlakuan susu kedelai 2x1,6 mL; Kelompok 5 = perlakuan genistein 0,8 mL; Kelompok 6 = perlakuan genistein 1,6 mL; Kelompok 7 = perlakuan genistein 2x1,6 mL.

Tabel 5. 3 Perbandingan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian

	n (ekor)	Panjang tikus (cm)		p
		Awal penelitian	Akhir penelitian	
Kelompok 1	4	15,90±0,45	16,38±0,45	0,001
Kelompok 2	3	17,73±0,32	20,50±0,36	0,009
Kelompok 3	4	17,45±0,49	20,53±0,41	0,001
Kelompok 4	4	17,93±0,30	20,15±0,31	0,005
Kelompok 5	3	17,80±0,36	19,77±0,87	0,046
Kelompok 6	3	16,90±0,53	20,30±0,26	0,011
Kelompok 7	4	18,08±0,43	20,60±0,34	0,000

Keterangan : Kelompok 1 = kontrol negatif; Kelompok 2 = perlakuan susu kedelai 0,8 mL; Kelompok 3 = perlakuan susu kedelai 1,6 mL; Kelompok 4 = perlakuan susu kedelai 2x1,6 mL; Kelompok 5 = perlakuan genistein 0,8 mL; Kelompok 6 = perlakuan genistein 1,6 mL; Kelompok 7 = perlakuan genistein 2x1,6 mL.

Pada pengamatan panjang tikus pada awal penelitian dan akhir penelitian tampak bahwa panjang tikus mengalami peningkatan. Peningkatan panjang tikus terjadi secara bermakna secara statistik pada semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$).



Gambar 5. 2 Grafik Perbandingan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian

Keterangan : Kelompok 1 = kontrol negatif; Kelompok 2 = perlakuan susu kedelai 0,8 mL; Kelompok 3 = perlakuan susu kedelai 1,6 mL; Kelompok 4 = perlakuan susu kedelai 2x1,6 mL; Kelompok 5 = perlakuan genistein 0,8 mL; Kelompok 6 = perlakuan genistein 1,6 mL; Kelompok 7 = perlakuan genistein 2x1,6 mL.

5.2 Pengujian Asumsi yang Melandasi Oneway ANOVA

Perbandingan pengaruh suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar T3, T4, TSH, dan TPO pada tikus *Sprague dawley* dilakukan dengan menggunakan uji *oneway ANOVA*. Sebelum dilakukan pengujian dengan uji *oneway ANOVA*, terlebih dahulu dilakukan pengujian asumsi yang melandasi *oneway ANOVA*. Terdapat dua asumsi yang melandasi uji *oneway ANOVA*, yakni asumsi normalitas dan homogenitas ragam. Pengujian asumsi normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Asumsi normalitas terpenuhi bila nilai *p* (*p value*) lebih besar dari 0,05. Hasil pengujian asumsi normalitas menggunakan piranti lunak SPSS sebagai berikut :

Tabel 5. 4 Hasil Uji Asumsi Normalitas *Kolmogorov-Smirnov*

Variabel	<i>p</i>	Normalitas
Kadar T3	0,947	Normal
Kadar T4	0,201	Normal
Kadar TSH	0,432	Normal
Kadar TPO	0,502	Normal



Berdasarkan tabel di atas, nilai p pada variabel kadar T3, kadar T4, kadar TSH, dan kadar TPO lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa asumsi normalitas pada variabel tersebut telah terpenuhi.

Pengujian asumsi homogenitas ragam dilakukan menggunakan uji homogenitas *Levene*. Asumsi homogenitas ragam dikatakan terpenuhi jika nilai p (p value) lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Berikut hasil pengujian asumsi homogenitas ragam :

Tabel 5. 5 Hasil Uji Asumsi Homogenitas *Levene*

Variabel	p	Homogenitas
Kadar T3	0,336	Homogen
Kadar T4	0,329	Homogen
Kadar TSH	0,087	Homogen
Kadar TPO	0,139	Homogen

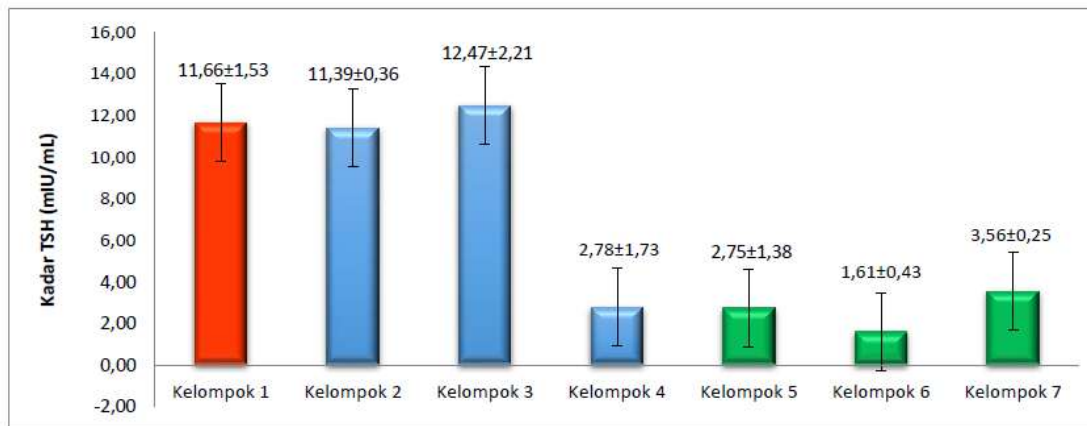
Berdasarkan hasil uji asumsi homogenitas ragam pada tabel di atas, tampak bahwa pada variabel kadar T3, kadar T4, kadar TSH, dan kadar TPO memiliki nilai p lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa asumsi homogenitas ragam pada variabel tersebut telah terpenuhi. Dengan demikian, proses pengujian statistik pada variabel kadar T3, kadar T4, kadar TSH, dan kadar TPO dapat dilakukan dengan menggunakan uji *oneway ANOVA*.

5.3 Perbandingan Kadar TSH pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Untuk membandingkan kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH) pada tikus *Sprague dawley*, dilakukan menggunakan uji *oneway ANOVA*. Uji tersebut dilakukan untuk membandingkan kadar TSH pada tikus *Sprague dawley* yang hanya diberikan pakan standar sebagai kontrol negatif (kelompok 1), kelompok perlakuan meliputi : suplementasi susu kedelai 1 x 0,8 mL (kelompok 2); suplementasi susu kedelai 1 x



1,6 mL (kelompok 3); suplementasi susu kedelai 2 x 1,6 mL (kelompok 4); serta kelompok kontrol positif meliputi : suplementasi genistein murni 1 x 0,8 mL (kelompok 5); suplementasi genistein murni 1 x 1,6 mL (kelompok 6); suplementasi genistein murni 2 x 1,6 mL (kelompok 7). Secara deskriptif, kadar TSH pada berbagai kelompok perlakuan disajikan pada diagram berikut ini :



Gambar 5. 3 Histogram Perbandingan Kadar TSH pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan bahwa rerata kadar TSH serum pada kelompok kontrol negatif (kelompok 1) sebesar 11,66±3,1 mIU/mL, kelompok perlakuan (kelompok 2 11,39±0,6 mIU/mL; kelompok 3 12,47±4,4 mIU/mL; kelompok 4 2,78±2,5 mIU/mL), serta kelompok kontrol positif (kelompok 5 2,75±2,4 mIU/mL; kelompok 6 1,61±0,7 mIU/mL; kelompok 7 3,56±0,5 mIU/mL). Secara deskriptif tampak bahwa kadar TSH serum terdapat tren penurunan seiring dengan peningkatan dosis susu kedelai dan genistein. Untuk mengetahui signifikansi perbandingan rerata kadar TSH serum pada berbagai kelompok perlakuan dilakukan



uji parametrik *oneway* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc test* *Tukey HSD* dengan hasil sebagai berikut :

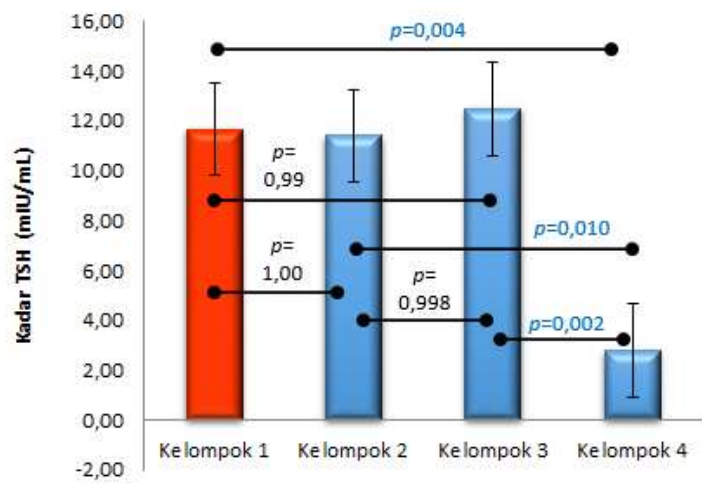
Tabel 5. 6 Perbandingan Kadar TSH pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji *Oneway* ANOVA

Perlakuan	Rerata \pm SEM (mIU/mL)	Nilai <i>p</i>
Kelompok 1	11,66 \pm 1,53	
Kelompok 2	11,39 \pm 0,36	
Kelompok 3	12,47 \pm 2,21	
Kelompok 4	2,78 \pm 1,73	0,000
Kelompok 5	2,75 \pm 1,38	
Kelompok 6	1,61 \pm 0,43	
Kelompok 7	3,56 \pm 0,25	

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

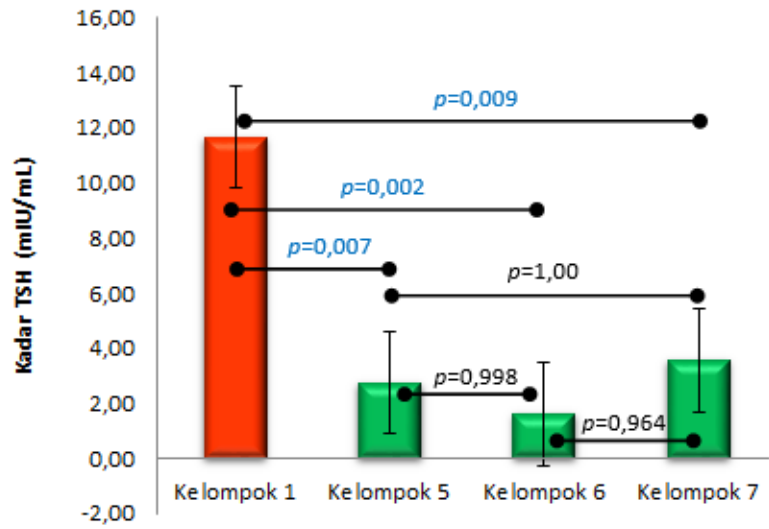
Hasil analisis menggunakan uji *oneway* ANOVA, didapatkan nilai *p* sebesar 0,000 lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$). Dengan demikian, berdasarkan hasil analisis tersebut disimpulkan bahwa terdapat pengaruh signifikan suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis terhadap kadar serum TSH pada tikus *Sprague dawley*. Dengan kata lain dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar TSH serum akibat suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis.

Berdasarkan hasil uji *post hoc test* *Tukey HSD*, diketahui bahwa terdapat penurunan bermakna kadar TSH serum pada kelompok 4, kelompok 5, kelompok 6, dan kelompok 7 dibandingkan kelompok 1 (kontrol negatif).



Gambar 5.4 Hasil uji *post hoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar TSH kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL



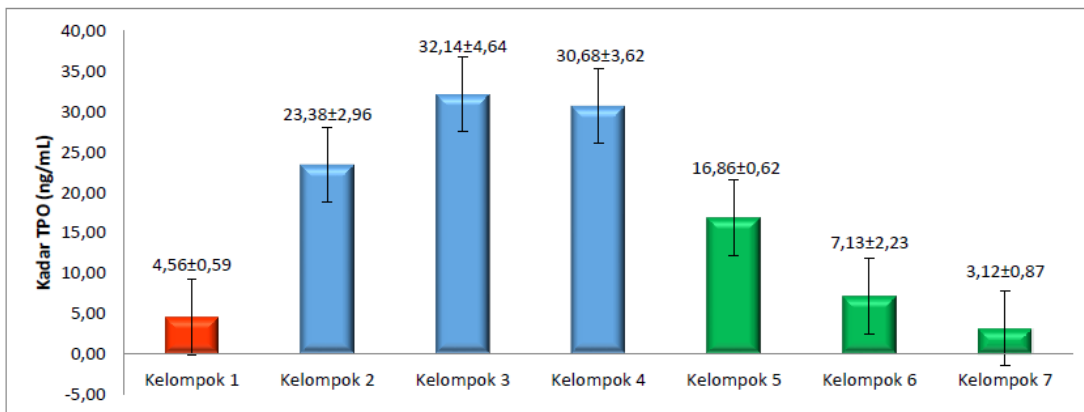
Gambar 5.5 Hasil uji *post hoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar TSH kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.



5.4 Perbandingan Kadar TPO pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Untuk membandingkan kadar *thyroid peroxidase* (TPO) pada tikus *Sprague dawley*, dilakukan menggunakan uji *oneway* ANOVA. Secara deskriptif, kadar TPO pada berbagai kelompok perlakuan disajikan pada diagram berikut ini :



Gambar 5. 6 Histogram Perbandingan Kadar TPO pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL, kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL, kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL, kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan bahwa rerata kadar TPO serum pada kelompok kontrol negatif (kelompok 1) sebesar $4,56 \pm 1,18$ ng/mL, kelompok perlakuan (kelompok 2 $23,38 \pm 5,13$ ng/mL; kelompok 3 $32,14 \pm 9,29$ ng/mL; kelompok 4 $30,68 \pm 7,24$ ng/mL), serta kelompok kontrol positif (kelompok 5 $16,86 \pm 1,08$ ng/mL; kelompok 6 $7,13 \pm 3,9$ ng/mL; kelompok 7 $3,12 \pm 1,75$ ng/mL). Secara deskriptif tampak bahwa kadar TPO serum terdapat tren penurunan seiring dengan peningkatan dosis genistein dan tampak pula tren peningkatan kadar TPO serum seiring dengan peningkatan dosis susu kedelai. Untuk mengetahui signifikansi



perbandingan rerata kadar TPO serum pada berbagai kelompok perlakuan dilakukan uji parametrik *oneway* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc test Tukey HSD* dengan hasil sebagai berikut :

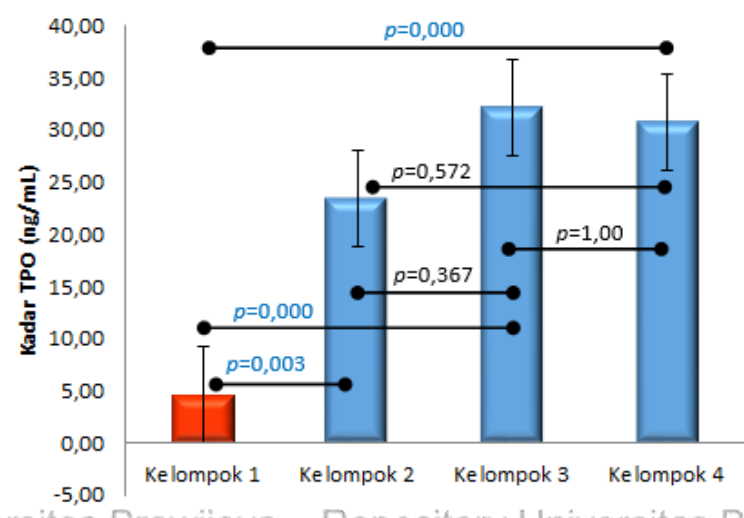
Tabel 5. 7 Perbandingan Kadar TPO pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji *Oneway* ANOVA

Perlakuan	Rerata \pm SEM (ng/mL)	Nilai <i>p</i>
Kelompok 1	4,56 \pm 0,59	
Kelompok 2	23,38 \pm 2,96	
Kelompok 3	32,14 \pm 4,64	
Kelompok 4	30,68 \pm 3,62	0,000
Kelompok 5	16,86 \pm 0,62	
Kelompok 6	7,13 \pm 2,23	
Kelompok 7	3,12 \pm 0,87	

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL, kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL, kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

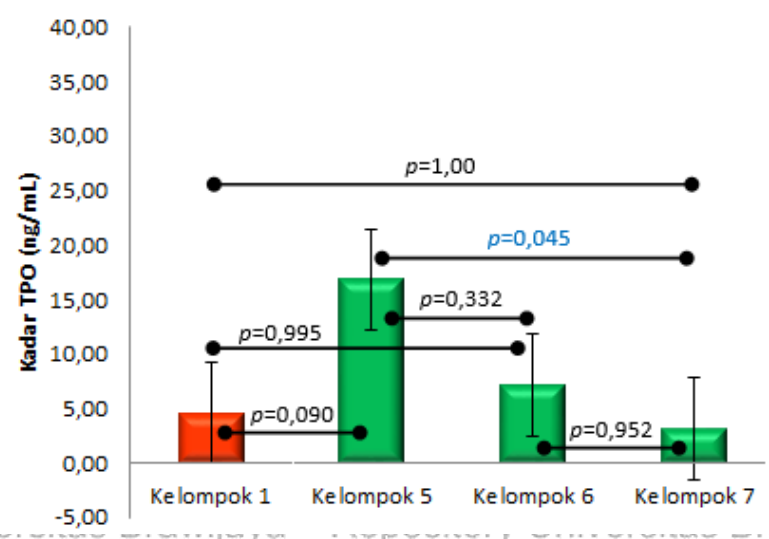
Hasil analisis menggunakan uji *oneway* ANOVA, didapatkan nilai *p* sebesar 0,000 lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$). Dengan demikian, berdasarkan hasil analisis tersebut disimpulkan bahwa terdapat pengaruh signifikan suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis terhadap kadar TPO serum pada tikus *Sprague dawley*. Dengan kata lain dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar TPO serum akibat suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis.

Berdasarkan hasil uji *post hoc test Tukey HSD*, diketahui bahwa terdapat penurunan bermakna kadar TPO serum pada kelompok 2, kelompok 3, dan kelompok 4 dibandingkan kelompok 1 (kontrol negatif).



Gambar 5.7 Hasil uji *posthoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar TPO kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL.



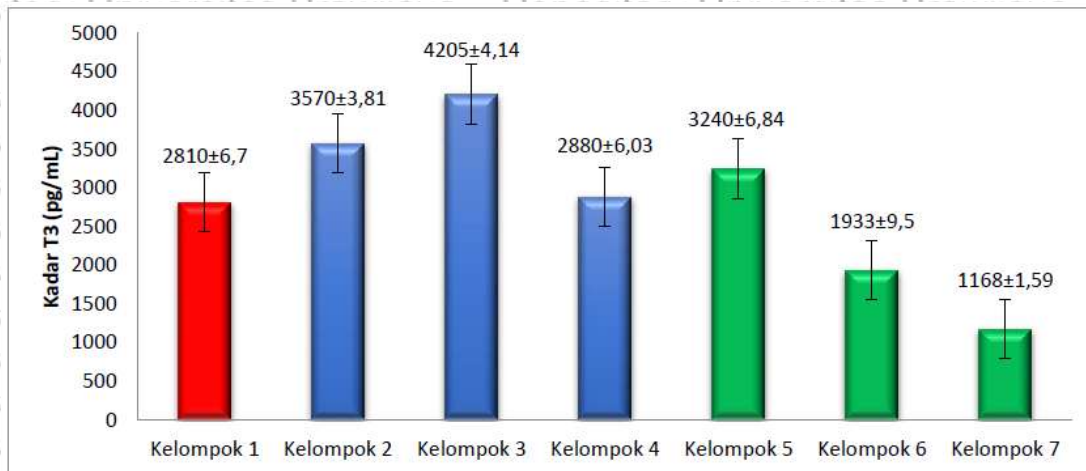
Gambar 5.8 Hasil uji *posthoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar TPO kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.



5.5 Perbandingan Kadar T3 pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Untuk membandingkan kadar *triiodothyronine* (T3) pada tikus *Sprague dawley*, dilakukan menggunakan uji *oneway*-ANOVA. Secara deskriptif, kadar T3 pada berbagai kelompok perlakuan disajikan pada diagram berikut ini :



Gambar 5.9 Histogram Perbandingan Kadar T3 pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan bahwa rerata kadar T3 serum pada kelompok kontrol negatif (kelompok 1) sebesar 2810±1340 pg/mL, kelompok perlakuan (kelompok 2 3570±661 pg/mL; kelompok 3 4205±828 pg/mL; kelompok 4 2880±1206 pg/mL), serta kelompok kontrol positif (kelompok 5 3240±1185 pg/mL; kelompok 6 1933±1584 pg/mL; kelompok 7 1168±318 pg/mL). Secara deskriptif tampak bahwa kadar T3 serum terdapat tren penurunan seiring dengan peningkatan dosis susu kedelai dan genistein. Untuk mengetahui signifikansi perbandingan rerata



kadar T3 serum pada berbagai kelompok perlakuan dilakukan uji parametrik *oneway* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc test Tukey HSD* dengan hasil sebagai berikut :

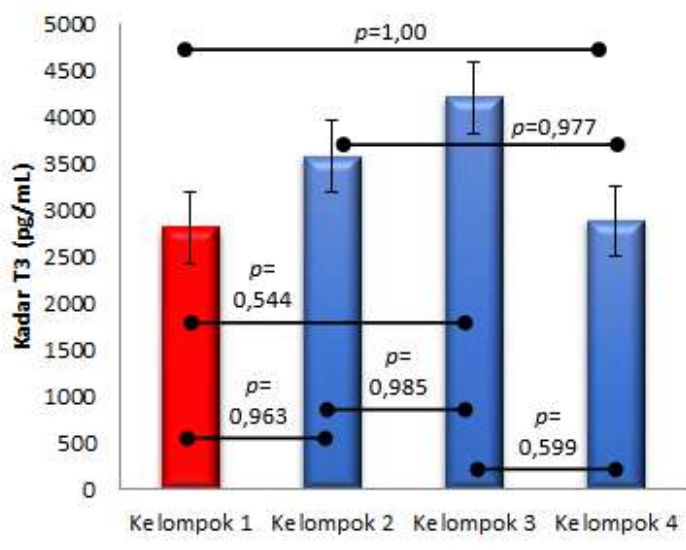
Tabel 5. 8 Perbandingan Kadar T3 serum pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji *Oneway* ANOVA

Perlakuan	Rerata ± SEM (pg/mL)	Nilai <i>p</i>
Kelompok 1	2810±6,7	
Kelompok 2	3570±3,81	
Kelompok 3	4205±4,14	
Kelompok 4	2880±6,03	0,022
Kelompok 5	3240±6,84	
Kelompok 6	1933±9,5	
Kelompok 7	1168±1,59	

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL, kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL, kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

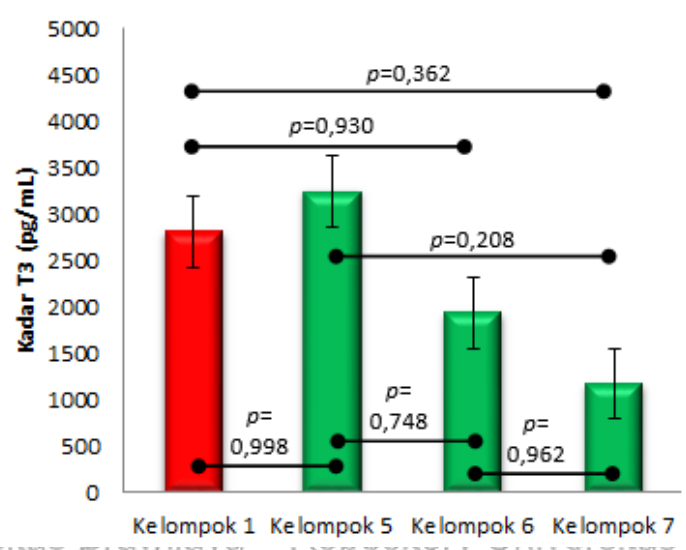
Hasil analisis menggunakan uji *oneway* ANOVA, didapatkan nilai *p* sebesar 0,022 lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$). Dengan demikian, berdasarkan hasil analisis tersebut disimpulkan bahwa terdapat pengaruh signifikan suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis terhadap kadar T3 serum pada tikus *Sprague dawley*. Dengan kata lain dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar T3 serum akibat suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis.

Akan tetapi, berdasarkan hasil uji *posthoc test Tukey HSD*, diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna kadar T3 serum pada kelompok perlakuan yang diberikan susu kedelai maupun genistein murni.



Gambar 5. 10 Hasil uji *post hoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar T3 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL



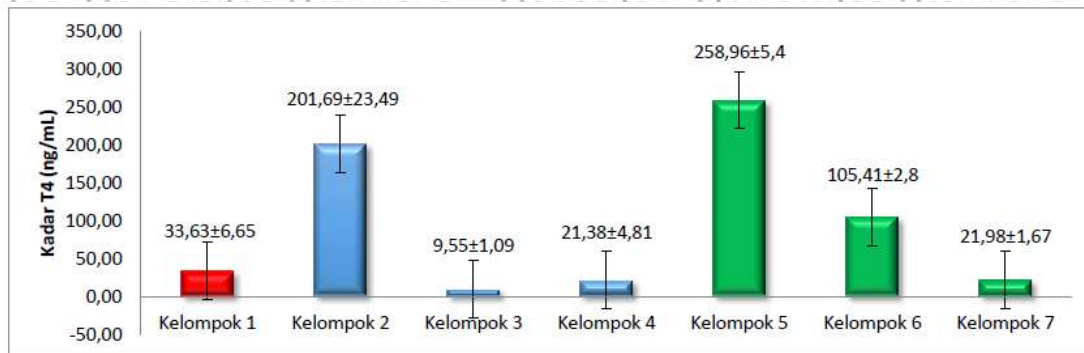
Gambar 5. 11 Hasil uji *post hoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar T3 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.



5.6 Perbandingan Kadar T4 pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Untuk membandingkan kadar *thyroxine* (T4) pada tikus *Sprague dawley*, dilakukan menggunakan uji *oneway* ANOVA. Secara deskriptif, kadar T4 pada berbagai kelompok perlakuan disajikan pada diagram berikut ini :



Gambar 5. 12 Histogram Perbandingan Kadar T4 pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL, kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL, kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL, kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan bahwa rerata kadar T4 serum pada kelompok kontrol negatif (kelompok 1) sebesar $3,63 \pm 13,31$ ng/mL, kelompok perlakuan (kelompok 2 $201,69 \pm 40,68$ ng/mL; kelompok 3 $9,55 \pm 2,21$ ng/mL; kelompok 4 $21,38 \pm 9,61$ ng/mL), serta kelompok kontrol positif (kelompok 5 $258,96 \pm 79,73$ ng/mL; kelompok 6 $105,41 \pm 4,86$ ng/mL; kelompok 7 $21,98 \pm 3,34$ ng/mL). Secara deskriptif tampak bahwa kadar T4 serum terdapat tren penurunan seiring dengan peningkatan dosis genistein. Untuk mengetahui signifikansi perbandingan rerata kadar T4 serum pada berbagai kelompok perlakuan dilakukan



uji parametrik *oneway* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc test* *Tukey HSD* dengan hasil sebagai berikut :

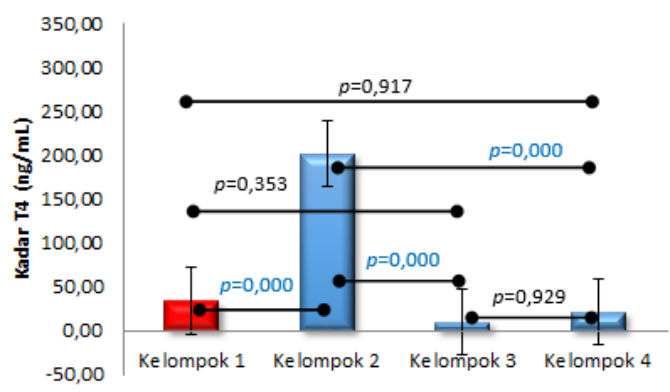
Tabel 5. 9 Perbandingan Kadar T4 serum pada berbagai Kelompok Perlakuan Melalui Uji *Oneway* ANOVA

Perlakuan	Rerata \pm SEM (ng/mL)	Nilai <i>p</i>
Kelompok 1	3,63 \pm 6,65	0,000
Kelompok 2	201,69 \pm 23,49	
Kelompok 3	9,55 \pm 1,09	
Kelompok 4	21,38 \pm 4,81	
Kelompok 5	258,96 \pm 5,4	
Kelompok 6	105,41 \pm 2,8	
Kelompok 7	21,98 \pm 1,67	

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

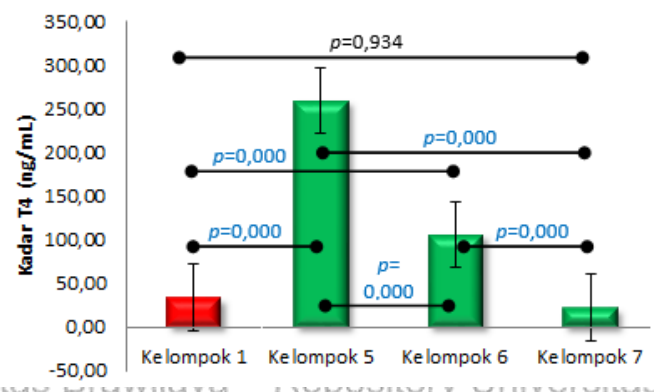
Hasil analisis menggunakan uji *oneway* ANOVA, didapatkan nilai *p* sebesar 0,000 lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$). Dengan demikian, berdasarkan hasil analisis tersebut disimpulkan bahwa terdapat pengaruh signifikan suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis terhadap kadar T4 serum pada tikus *Sprague dawley*. Dengan kata lain dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar T4 serum akibat suplementasi susu kedelai dan genistein murni pada berbagai dosis.

Berdasarkan hasil uji *post hoc test* *Tukey HSD*, diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar T4 serum pada kelompok 2, kelompok 5, dan kelompok 6 dibandingkan kelompok 1 (kontrol negatif).



Gambar 5.13 Hasil uji *post hoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar T4 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi susu kedelai.

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 2 : susu kedelai 1 x 0,8 mL; kelompok 3 : susu kedelai 1 x 1,6 mL; kelompok 4 : susu kedelai 2 x 1,6 mL



Gambar 5.14 Hasil uji *post hoc test Tukey HSD* yang membandingkan kadar T4 kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan suplementasi genistein

Keterangan: kelompok 1 : kontrol negatif; kelompok 5 : genistein 1 x 0,8 mL; kelompok 6 : genistein 1 x 1,6 mL; kelompok 7 : genistein 2 x 1,6 mL.

5.7. Hasil uji *standard error of measurement (SEM)*

Dikarenakan subyek penelitian hanya berjumlah 4 ekor tikus pada tiap kelompok perlakuan, maka tiap variabel terikat pada penelitian ini perlu dilakukan uji *standard error of measurement (SEM)*. Hasil uji SEM pada penelitian ini antara lain :

Tabel 5. 10 Hasil uji *standard error of measurement* (SEM) pada tiap variabel dependen

Variabel Dependen	Standar Deviasi	Reliabilitas (r)	SEM
Kadar TSH (mIU/mL)	5,24	0,88	1,82
Kadar TPO (ng/mL)	12,88	0,94	3,18
Kadar T3 (pg/mL)	1354,08	0,76	670,24
Kadar T4 (ng/mL)	91,84	0,46	67,49



BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *true experimental laboratory* dan metode *randomized post-test only controlled group design* untuk membandingkan efek suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar TSH, TPO, T3, dan T4. Suplementasi via sonde susu kedelai dan genistein dengan dosis kecil, dosis menengah, dan dosis besar merupakan variabel bebas. Hewan coba pada penelitian ini dibagi dalam 7 (tujuh) kelompok perlakuan. Masing-masing hewan coba diadaptasikan selama 7 hari sebelum mendapatkan perlakuan.

Penelitian ini menggunakan subyek penelitian berupa 28 ekor tikus *Sprague dawley* jantan dengan perincian 4 ekor tikus pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan pakan standar, 12 ekor tikus pada kelompok perlakuan dengan suplementasi susu kedelai namun 1 ekor tikus mati, dan 12 ekor tikus pada kelompok kontrol positif yang diberikan suplementasi genistein murni namun 2 ekor tikus mati. Kematian tikus disebabkan oleh adanya infeksi yang ditandai dengan ditemukannya ulkus pada telinga dan ekor.

Perlakuan dan pemantauan pada subyek penelitian dilakukan selama 60 hari. Pemantauan rutin yang dilakukan adalah pemantauan berat tikus dan panjang tikus. Berdasarkan pemantauan di akhir penelitian terdapat peningkatan bermakna berat tikus pada hampir semua kelompok perlakuan dengan hasil uji T berpasangan didapatkan nilai $p < 0,05$ pada kelompok 1 $p = 0,002$, kelompok 2 $p = 0,011$, kelompok 3 $p = 0,004$, kelompok 4 $p = 0,015$, kelompok 6 $p = 0,014$, dan kelompok 7 $p = 0,003$.



Peningkatan berat badan terjadi pada akhir perlakuan tetapi tidak signifikan didapatkan pada kelompok 5 (tikus diberikan suplementasi genistein dengan dosis kecil) dengan nilai $p=0,056$.

Pemantauan rutin juga dilakukan pada panjang tikus. Pada akhir penelitian didapatkan panjang tikus meningkat secara signifikan pada seluruh kelompok perlakuan dibandingkan pada awal penelitian dengan hasil uji T berpasangan didapatkan nilai $p<0,05$. Pada kelompok 1 didapatkan nilai $p=0,001$, kelompok 2 nilai $p=0,009$, kelompok 3 nilai $p=0,001$, kelompok 4 nilai $p=0,005$, kelompok 5 nilai $p=0,046$, kelompok 6 nilai $p=0,011$, dan kelompok 7 nilai $p=0,000$. Peningkatan berat

tikus dan panjang tikus disebabkan oleh beberapa hal antara lain adanya kandungan dari pakan yang diberikan kepada tikus model yang mengandung karbohidrat. Selain itu pula, berdasarkan uji kandungan bubuk kedelai yang diberikan kepada tikus model didapatkan adanya kandungan karbohidrat, lemak, dan protein (lampiran 3).

Menurut Darbre dkk. (2017), genistein memiliki efek "obesogens", yang dapat memicu adipogenesis dan menimbulkan kenaikan berat badan. Proses yang terjadi adalah dengan meningkatkan jumlah adiposit, bertambahnya ukuran adiposit dan mengubah pola hormon yang berperan dalam pertumbuhan jaringan adiposa.

Mekanisme yang mendasari aktivitas pro-adipogenik genistein adalah jalur yang dimediasi oleh *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPARs) yang berperan mengubah pre-adiposit menjadi adiposit (Darbre, 2017). Selain itu pula, genistein diketahui dapat meningkatkan ekspresi gen yang berperan meningkatkan pembentukan miosin dan hormon pertumbuhan (*growth hormone*) (Zengpeng et al.,



2018). Pada hari ke-61 tikus dikorbankan kemudian dilakukan pengambilan sampel serum darah untuk selanjutnya diperiksa kadar serum TSH, TPO, T3, dan T4.

6.1 Efek suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar TSH

Pada analisis kadar TSH tampak bahwa pada kelompok perlakuan, yaitu kelompok hewan coba tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi susu kedelai selama 8 minggu terjadi peningkatan kadar TSH pada hewan coba yang diberikan susu kedelai dosis menengah meskipun peningkatan yang terjadi tidak signifikan ($p>0,05$). Tampak pula bahwa pada tikus yang diberikan susu kedelai dengan dosis tinggi terjadi penurunan kadar TSH yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol ($p<0,05$).

Sedangkan pada kelompok kontrol positif, yaitu kelompok hewan coba tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi genistein murni terjadi penurunan kadar TSH secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol baik yang diberikan dengan dosis kecil, dosis sedang, dan dosis tinggi ($p<0,05$).

Penurunan kadar TSH setelah suplementasi genistein sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bitto dkk. (2010). Pada penelitian tersebut sebanyak 71 wanita pascamenopause diberikan suplementasi genistein 54 mg setiap hari selama 3 tahun. Pada akhir penelitian, dilakukan pemeriksaan kadar TSH serum dan didapatkan adanya penurunan kadar TSH dibandingkan kadar TSH serum sebelum intervensi. Berdasarkan analisis statistik, penurunan kadar TSH tersebut tidak signifikan ($p>0,05$) (Bitto et al., 2010).

TSH penting untuk dianalisa karena memiliki peran utama dalam keseluruhan regulasi kadar hormon tiroid. Secara teoritis, peningkatan TSH



merefleksikan kondisi hipotiroid yang diakibatkan oleh penghambatan TPO yang selanjutnya menurunkan sintesis hormon tiroid. Akan tetapi, hal tersebut tidak terbukti pada penelitian yang dilakukan oleh Dillingham (2007) dan beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya yang menyimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan suplementasi isolat protein kedelai terhadap kadar TSH serum (Dillingham et al., 2007). Sedangkan pada penelitian Bruce dkk. (2003) yang memberikan suplementasi susu kedelai dengan dosis 2-3 kali lebih besar dari dosis konsumsi harian pada 38 wanita pascamenopause berusia 64-83 tahun selama 6 bulan didapatkan hasil tidak adanya perbedaan signifikan kadar serum TSH, T3, dan T4 dibandingkan kelompok kontrol yang hanya diberikan plasebo. Akan tetapi kelemahan yang terdapat pada penelitian ini adalah tidak terdapatnya data bioavailabilitas dari isoflavon yang membandingkan kadar isoflavon pada serum dan pada urin (Bruce et al., 2003).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sosvorova (2012), suplementasi genistein dan daidzein yang diekstrak dari kedelai kepada 35 pasien selama 3 bulan tidak menyebabkan perubahan kadar serum TSH secara bermakna. Dikarenakan kadar hormon tiroid tidak mengalami perubahan signifikan, maka penelitian ini menyimpulkan bahwa suplementasi diet fitoestrogen tidak berpengaruh terhadap gangguan fungsi kelenjar tiroid pada subyek dengan asupan iodium yang adekuat (Sosvorová et al., 2012).

Sebuah *systematic review* yang dipublikasikan pada tahun 2019 menyatakan bahwa suplementasi kedelai dan isoflavon dapat meningkatkan kadar TSH tetapi tidak menyebabkan perubahan signifikan pada kadar T3 dan T4. Sehingga hal ini



menandakan bahwa suplementasi kedelai memiliki pengaruh terhadap fungsi tiroid tetapi secara klinis tidak signifikan (Otun et al., 2019).

Pengaruh suplementasi isoflavon terhadap kadar hormon tiroid telah dikaji pada beberapa uji klinis. Hampir keseluruhan uji tersebut menyimpulkan bahwa suplementasi isoflavon tidak mempengaruhi kadar hormon tiroid. Hanya beberapa peneliti di Jepang yang menemukan tren peningkatan TSH tapi masih dalam batas normal (Messina and Redmond, 2006).

Nukleus (inti sel) merupakan lokasi utama inisiasi kerja hormon tiroid yang dimediasi oleh *thyroid hormone receptors* (THR), baik $THR\alpha$ maupun $THR\beta$ yang mengatur ekspresi gen target. Bersama-sama dengan THR, *retinoid nuclear receptors* ($RAR\alpha$, β , γ dan $RXR\alpha$, β , γ) juga mengatur respon gen target terhadap *retinoid acid*. RXR membentuk heterodimer dengan RAR atau THR yang selanjutnya meregulasi transkripsi gen dengan cara berinteraksi dengan gen promotor. RXR merupakan heterodimer fungsional yang menandakan bahwa jalur aktivasi hormon tiroid dan retinoid sangat terkait erat (Li et al., 2002).

Ekspresi $THR\alpha$ dan $THR\beta$ di darah tepi memberikan gambaran sensitif dari status tiroid. Pada penelitian Bitto dkk. (2010), ekspresi $THR\alpha$, $THR\beta$, $RAR\alpha$, $RAR\beta$, $RXR\alpha$ tidak tampak pada gambaran darah tepi setelah diberikan suplementasi genistein selama 3 tahun pada wanita pascamenopause. Hal ini menandakan bahwa suplementasi genistein tidak memiliki efek signifikan terhadap ekspresi *thyroid hormone receptor* (Bitto et al., 2010).

Genistein memiliki kecenderungan terikat pada *estrogen receptor* (ER)- β . Hal ini dapat menjelaskan alasan rendahnya efek genistein terhadap status hormon



97

tiroid. Interaksi silang antara THR dan ER menandakan bahwa salah satu reseptor tersebut dapat berikatan dengan genistein sehingga mempengaruhi ekspresi gen (Bitto et al., 2010).

Genistein dapat terikat dengan ligan THR bergantung pada dosis genistein yang diberikan. Hanya pada dosis tinggi genistein yang dapat meningkatkan transkripsi gen yang di mediasi oleh THR- α dan THR- β (Ariyani et al., 2018).

6.2 Efek suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar TPO

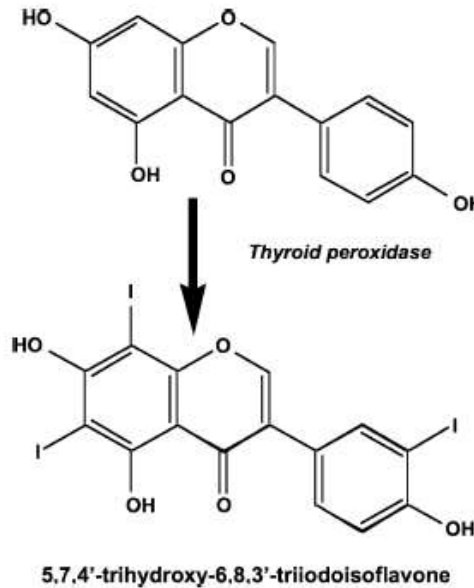
Pada analisis kadar TPO tampak bahwa pada kelompok perlakuan, yaitu kelompok hewan coba tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi susu kedelai selama 8 minggu terjadi peningkatan secara bermakna kadar TPO pada hewan coba yang diberikan susu kedelai baik pada dosis kecil, dosis menengah, maupun dosis tinggi ($p < 0,05$). Akan tetapi, terdapat hal yang bertolak belakang pada tikus yang diberikan suplementasi genistein murni dimana terdapat penurunan bermakna kadar TPO secara bermakna pada kelompok hewan coba yang diberikan suplementasi genistein dosis tinggi dibandingkan genistein dosis rendah ($p < 0,05$).

Efek goitrogenik kedelai dikaitkan oleh adanya genistein dan daidzein, yang diketahui memiliki efek antitiroid yang poten. Genistein memiliki aktivitas antitiroid yang lebih poten dibandingkan obat-obatan antitiroid yang telah dikenal yaitu *methimazole* dan *6-propylthiouracil* (Fitzpatrick, 2000).

Thyroid peroxidase (TPO) merupakan enzim yang mengkatalis reaksi pembentukan *tri-iodothyronine* (T3) dan *thyroxine* (T4). Isoflavon (salah satunya genistein) merupakan inhibitor kompetitif reaksi tersebut. Apabila bereaksi dengan



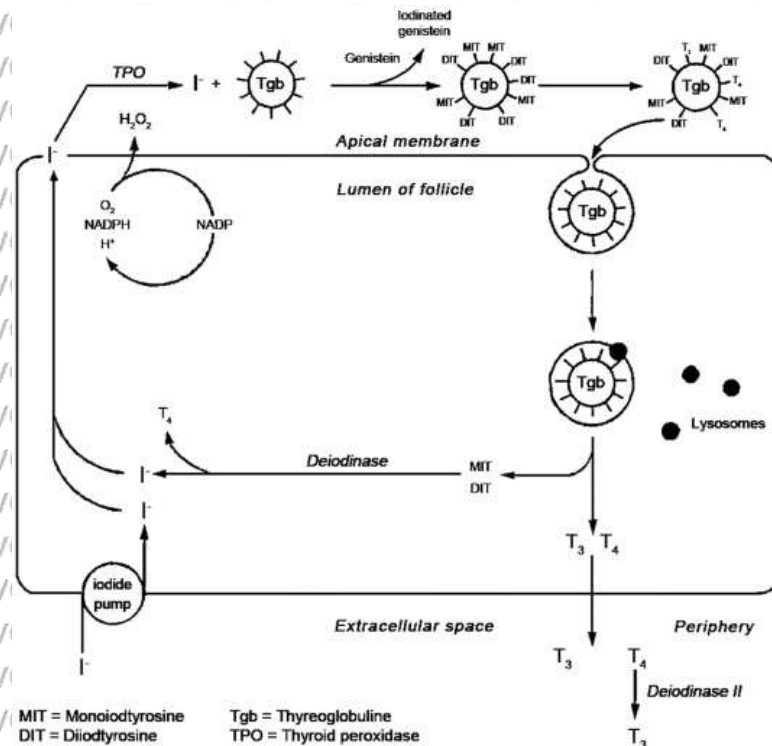
TPO, genistein akan diubah menjadi 5,7,4'-trihydroxy-6,8,3'-triiodoisoflavone (Barnes, 2010).



Gambar 6. 1 Produk *in vitro* reaksi antara genistein dan TPO (Barnes, 2010)

Keterangan: TPO dapat mengiodinasi genistein pada posisi 6-, 8-, dan 3'

Beberapa hasil penelitian klinis membuktikan bahwa pada individu yang eutiroid, status hormon tiroid tidak dipengaruhi oleh asupan isoflavon. Hal sebaliknya terjadi pada kondisi asupan iodin yang tidak adekuat (Tonstad et al., 2016). Isoflavon dapat mempengaruhi status hormon tiroid melalui efek penghambatan terhadap enzim TPO. TPO mengkatalis iodinasi residu tirosil pada tiroglobulin yang kemudian memicu *coupling* residu iodotirosil yang dibutuhkan untuk membentuk hormon tiroid. Pada kondisi kekurangan iodida, genistein berperan sebagai *suicide substrates* bagi TPO. Pada kondisi iodida yang cukup, genistein berperan sebagai substrat alternatif bersaing dengan tirosin yang teriodinasi untuk membentuk derivat isoflavon yang teriodinasi (Sosvorová et al., 2012).



Gambar 6. 2 Skema sintesis hormon tiroid dan mekanisme pembentukan derivat genistein yang teriodinasi (Sosvorová et al., 2012).

Mekanisme yang menjelaskan penurunan kadar serum TPO akibat suplementasi genistein adalah mekanisme *suicide inactivation*. *Suicide inactivation* TPO terjadi melalui ikatan kovalen antara genistein dengan TPO. Modifikasi tersebut diikuti oleh perubahan struktur TPO menjadi bentuk antigenik (*antigenic form*) (neoantigen) yang menstimulasi pengenalan oleh sistem imun (Doerge and Sheehan, 2002).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Doerge dkk. (2002) dengan subyek penelitian tikus. Setelah tikus diberikan suplementasi isoflavon, kadar TPO menurun secara bermakna, tetapi masih cukup untuk menjaga homeostasis hormon tiroid. Penurunan kadar TPO secara bermakna pada tikus yang diberikan



suplementasi susu kedelai tidak mengakibatkan terjadinya hipotiroidisme. Hal ini diduga disebabkan adanya cadangan TPO yang besar pada sel folikel tiroid (Doerge and Sheehan, 2002).

Tabel 6. 1 Konsentrasi berbagai senyawa yang dapat menghambat 50% enzim *thyroid peroxidase* (Fitzpatrick, 2000)

Senyawa	IC ₅₀ (µM)
Apigenin	3,429
Luteolin	13,29
Genistein	3,228
Daidzein	7,628
Methimazole	4,225
6-propylthiouracil	7,225

Isoflavon yang terkandung di dalam kedelai yaitu genistein dan daidzein memblokir reaksi iodinasi tirosin yang dikatalisis oleh TPO secara *in vitro* dengan berperan sebagai substrat pengganti. Inkubasi genistein dengan TPO yang disertai dengan hidrogen peroksida mengakibatkan inaktivasi TPO yang bersifat ireversibel. Akan tetapi bila pada inkubasi tersebut ditambahkan iodida maka inaktivasi TPO menjadi reversibel. Inaktivasi TPO dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan pada tikus yang diberikan susu kedelai dengan diet rendah iodin akan menyebabkan berat kelenjar tiroid yang lebih besar bermakna dibandingkan tikus yang tidak diberikan susu kedelai. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa defisiensi iodin dapat memperburuk efek goitrogenik susu kedelai terhadap fungsi tiroid (Ikeda et al., 2000, Bruce et al., 2003).

Sebagian besar flavonoid yang terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan berada dalam bentuk glikosida, salah satunya adalah genistin (*genistin-7-glucoside*).



Bioavailibilitasnya dari isoflavyon yang dikonsumsi bergantung pada kemampuan hidrolisis glikosida oleh bakteri usus halus dan enzim yang terdapat pada dinding usus tikus (Dixon and Ferreira, 2002). Absorpsi intestinal dari genistin merupakan prasyarat utama agar genistein dapat bekerja. Bakteri yang terdapat di dalam usus halus tikus dapat mengubah struktur β -glukosida. Akan tetapi, dikarenakan genistin memiliki sifat yang stabil di dalam lumen usus sehingga perubahan struktur β -glukosida genistin menjadi genistein pada proses hidrolisis sulit terjadi (Andlauer et al., 2000).

Hal ini sejalan pula dengan hasil penelitian Setchell dkk. (2002). Pada penelitian tersebut disimpulkan bahwa isoflavyon dalam bentuk glikosida tidak bisa diabsorpsi secara utuh oleh sel usus dan bioavailibilitasnya membutuhkan hidrolisis awal oleh enzim β -glucosidase untuk kemudian dibawa ke sirkulasi perifer (Setchell et al., 2002). Steensma dkk. (2004) juga menyatakan hal serupa bahwa genistin (isoflavyon dalam bentuk glikosida) dan/atau metabolitnya tidak mengalami absorpsi pada jaringan kolon tikus. Sedangkan sebaliknya genistein murni (genistein aglikon) mengalami absorpsi yang lebih tinggi dibandingkan genistin (genistein glikosida) (Steensma et al., 2004). Pada penelitian lainnya Steensma dkk. (2006) juga menemukan bahwa bioavailibilitas genistein di dalam plasma vena porta lebih tinggi dalam bentuk aglikon dibandingkan glikosida (genistin). Hal tersebut dikarenakan genistin (dalam bentuk glikosida) hanya mengalami absorpsi sebagian (Steensma et al., 2006).



6.3 Efek suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar T3

Analisis kadar serum T3 dilakukan pada seluruh kelompok perlakuan. Hasil analisis menunjukkan bahwa terjadi kecenderungan peningkatan kadar T3 pada kelompok tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi susu kedelai dosis kecil, dosis menengah, dan dosis tinggi selama 8 minggu, namun peningkatan kadar T3 tersebut tidak signifikan ($p < 0,05$). Hal sebaliknya terjadi pada kelompok tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi genistein murni dengan dosis kecil, dosis menengah, dan dosis besar terjadi penurunan kadar T3 serum dibandingkan kelompok kontrol. Akan tetapi penurunan kadar T3 serum tersebut tidak bermakna ($p < 0,05$).

Hipotesis awal dari penelitian yang dilakukan oleh Chang dkk. (2000) menyatakan bahwa kelompok tikus yang diberikan pakan mengandung soya dan suplementasi genistein dapat menyebabkan penurunan kadar TPO dan penurunan kadar T3 dan T4 serum. Akan tetapi, hasil penelitian menunjukkan hal yang berbeda dengan hipotesis tersebut. Kadar serum T3 dan T4 pada kelompok tikus yang diberikan pakan mengandung soya tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok tikus yang diberikan pakan tanpa soya (Chang and Doerge, 2000).

Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Ikeda dkk. (2000) yang menemukan bahwa kelompok tikus yang diberikan pakan mengandung soya 20% hanya mengalami perubahan struktur folikel tiroid yang minimal (tidak terjadi hiperplasia) (Ikeda et al., 2000).

Sintesis hormon tiroid dapat terjadi dengan syarat adanya aktivitas enzim TPO yang disertai adanya substrat tiroglobulin, iodida, dan H_2O_2 yang dihasilkan



oleh *NADPH oxidase*. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya penumpukan TPO dan *NADPH oxidase* pada membran apikal sel folikuler tiroid, iodida pada lumen sel folikel tiroid, dan tiroglobulin yang disekresikan pada membran basolateral sel folikel tiroid. Penjelasan lain yang menerangkan hal tersebut ialah ditemukannya sejumlah besar TPO pada membran apikal sel folikel tiroid, sehingga penurunan kadarnya dalam jumlah besar dalam sirkulasi hanya menimbulkan dampak minimal pada keseimbangan hormon tiroid (Chang and Doerge, 2000).

Penelitian yang dilakukan oleh Dillingham dkk. (2007) menyimpulkan bahwa tidak ada efek signifikan konsumsi tepung kedelai dengan kandungan isoflavan rendah maupun tinggi terhadap kadar serum T3 total atau fT3 pada subyek penelitian laki-laki muda yang sehat (berusia 20-40 tahun). Hal ini konsisten dengan hasil penelitian Ishizuki dkk. (1991), Ham dkk. (1993), Duncan dkk. (1999), Bruce dkk. (2003) yang menemukan bahwa suplementasi isolat protein kedelai, berbagai olahan makanan yang mengandung kedelai, dan isoflavan tidak memiliki pengaruh bermakna terhadap konsentrasi serum T3 total dan fT3 (Dillingham et al., 2007).

Demikian pula halnya dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Mittal dkk. (2011). Pada penelitian tersebut sebanyak 43 wanita yang telah menjalani ooforektomi diberikan suplementasi 75 mg/hari genistein selama 12 minggu. Pada akhir perlakuan dilakukan pengukuran kadar serum T3, T4, dan antibodi anti-TPO dan didapatkan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan kontrol (Mittal et al., 2011).



6.4 Efek suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar T4

Hasil analisis kadar serum T4 dilakukan pada seluruh kelompok perlakuan.

Berdasarkan analisis tersebut didapatkan bahwa terjadi kecenderungan penurunan kadar T4 serum pada kelompok tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi susu kedelai dan genistein murni. Penurunan kadar serum T4 pada suplementasi susu kedelai dosis sedang dan dosis tinggi mengalami penurunan bermakna dibandingkan kelompok tikus yang diberikan suplementasi susu kedelai dosis rendah ($p < 0,05$). Demikian pula halnya dengan kelompok tikus *Sprague dawley* jantan yang diberikan suplementasi genistein murni dosis sedang dan dosis tinggi mengalami penurunan bermakna dibandingkan kelompok tikus yang diberikan suplementasi genistein murni dosis rendah ($p < 0,05$). Akan tetapi tren penurunan kadar serum T4 pada kelompok perlakuan yang diberikan susu kedelai dan genistein murni tidak berbeda signifikan dengan kadar serum T4 pada kelompok kontrol ($p > 0,05$).

Sebuah penelitian yang melibatkan bayi yang mendapatkan susu formula mengandung soya, diketahui bahwa meskipun konsentrasi total isoflavon di dalam plasmanya (isoflavon konyugat) secara teori dapat menghambat TPO, akan tetapi kadar isoflavon bebas (aktifnya) ternyata sangat rendah. Hal ini didukung pula oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa isoflavon konyugat tidak memiliki aktivitas goitrogenik (Fitzpatrick, 2000).

Bukti lain yang menyatakan lemahnya efek goitrogenik dari isoflavon yang berasal dari kedelai adalah penelitian yang dilakukan oleh Chang dkk. (2000).

Mereka menemukan bahwa meskipun TPO mengalami inaktivasi sebagian (kurang



lebih, 50%) secara *in vivo* pada tikus yang diberikan pakan soya yang mengandung genistein selama 20 minggu, pada akhir perlakuan tidak didapatkan perubahan efek baik pada kadar hormon tiroid serum (T3, T4, dan TSH), berat kelenjar tiroid, dan perubahan histopatologi kelenjar tiroid (Chang and Doerge, 2000).

Penelitian pada manusia (terutama laki-laki) yang mengkaji pengaruh isoflavon pada susu kedelai terhadap kadar hormon tiroid masih sangat terbatas.

Salah satunya adalah penelitian yang dilakukan oleh Ishizuki dkk. (1991) yang mengamati efek antitiroid pada orang dewasa yang mengkonsumsi kacang kedelai selama 3 bulan. Hasil penelitiannya didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna kadar T3 dan T4 pada subyek penelitian dibandingkan *baseline*. Terdapat

7 penelitian lain yang melibatkan wanita pascamenopause sebagai subyek penelitian, mayoritas dari penelitian tersebut menunjukkan tidak adanya pengaruh signifikan konsumsi isoflavon yang berasal dari susu kedelai terhadap kadar T3 dan

T4 yang terdapat di sirkulasi. Menurut Dillingham (2007) dinyatakan bahwa pengukuran hormon tiroid di dalam sirkulasi merupakan indikator tidak langsung dari fungsi dan regulasi hormon tiroid. Indikator tersebut tidak memberikan informasi secara langsung terkait sintesis hormon tiroid, volume dan berat kelenjar tiroid, dan

ekspresi reseptor hormon tiroid. Waktu perlakuan selama 60 hari masih belum cukup untuk mendeteksi perubahan dari kadar hormon tiroid (Dillingham et al., 2007).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Bitto dkk. (2010), sebanyak 71 wanita osteopeni pascamenopause yang diberikan suplementasi genistein 54 mg/hari selama 3 tahun tidak didapatkan adanya peningkatan risiko baik hipotiroid klinis maupun subklinis secara bermakna (Bitto et al., 2010). Demikian pula halnya pada



penelitian ini, dosis genistein yang diberikan pada hewan coba setara dengan dosis konsumsi pada manusia dengan rentang 20 – 80 mg/hari. Pada penelitian ini juga didapatkan hasil serupa dgn penelitian Bitto dkk. yaitu tidak adanya gambaran hipotiroid secara bermakna.

Sebuah publikasi yang dilakukan pada tahun 2015 oleh *The European Food Safety Authority* (EFSA) disimpulkan oleh panel beberapa ahli bahwa konsumsi susu kedelai dan isoflavon tidak memiliki efek buruk terhadap status hormon tiroid bagi hewan dan manusia dewasa tetapi dapat berperan sebagai *endocrine disruptors* pada usia muda. Menurut panel tersebut dinyatakan bahwa masih perlu data lanjutan tentang dosis dan durasi konsumsi isoflavon yang dapat menimbulkan efek membahayakan bagi manusia (Xiao et al., 2018, EFSA Panel, 2015).

6.5 Keterbatasan Penelitian

Informasi akurat tentang keamanan efek suplementasi isoflavon terhadap kadar hormon tiroid masih sangat terbatas. Hasil intervensi yang dilakukan pada berbagai studi sulit untuk dibandingkan satu sama lain karena beberapa hal antara lain (Marini et al., 2012):

- Beberapa peneliti tidak hanya menggunakan isoflavon murni tetapi seringkali menggunakan isoflavon campuran atau bahkan menggunakan suplementasi yang mengandung kedelai dengan takaran/dosis yang berbeda.
- Kualitas dan jumlah genistein yang diberikan berbeda-beda
- Intervensi yang diberikan memiliki durasi waktu yang berbeda-beda

Beberapa keterbatasan yang didapatkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan antara lain :



- a. Pada penelitian ini tidak menggunakan estrogen sebagai kontrol. Seharusnya estrogen digunakan sebagai kontrol dikarenakan genistein memiliki struktur yang sangat mirip dengan estrogen.
- b. Pada penelitian ini tidak dilakukan analisa kandungan isoflavon lain yang terkandung dalam susu kedelai.
- c. Waktu perlakuan selama 60 hari masih belum cukup untuk mendeteksi perubahan dari kadar hormon tiroid.
- d. Kadar serum iodin tikus tidak diukur karena kondisi defisiensi iodin dapat menyebabkan defisiensi TPO yang ireversibel.



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Suplementasi genistein murni dapat menurunkan kadar serum TPO secara bermakna, akan tetapi tidak dapat menurunkan kadar hormon tiroid (T3 dan T4) serta menurunkan kadar TSH secara bermakna pada tikus *Sprague dawley* jantan.
2. Suplementasi susu kedelai meningkatkan kadar serum TPO tetapi tidak bermakna, serta tidak dapat menurunkan kadar hormon tiroid (T3 dan T4) dan menurunkan kadar TSH secara bermakna pada tikus *Sprague dawley* jantan hanya pada dosis tinggi.
3. Suplementasi susu kedelai dan genistein tidak berpengaruh pada status hormon tiroid pada tikus *Sprague dawley* jantan.

7.2 Saran

Berdasarkan analisis dari hasil penelitian ini maka beberapa saran yang dapat diberikan antara lain :

1. Perlu dilakukan penelitian pendahuluan yang dilakukan secara *in silico* untuk membandingkan efek estrogen dan genistein terhadap *estrogen receptor*.
2. Penelitian yang mengkaji perbandingan pengaruh suplementasi susu kedelai dan genistein terhadap kadar hormon tiroid dilakukan dengan durasi intervensi lebih dari 60 hari dan jumlah subyek penelitian yang lebih besar.



DAFTAR PUSTAKA

- Aimon H., Satrianto A. Prospek Konsumsi Dan Impor Kedelai Di Indonesia Tahun 2015-2020. *Jurnal Kajian Ekonomi*, 2014, 3(5): 13-26.
- Aldillah R. Proyeksi Produksi Dan Konsumsi Kedelai Indonesia. *Jurnal Ekonomi Kuantitatif Terapan*, 2015, 8(1): 9-23.
- Andayanie W. R., 2016. Pengembangan Produksi Kedelai Sebagai Upaya Kemandirian Pangan Di Indonesia, Mitra Wacana Medika, Jakarta, p. 5-10.
- Andlauer W., Kolb J., Fürst P. Absorption and Metabolism of Genistin in the Isolated Rat Small Intestine. *Febs Letters*, 2000, 475: 127-130.
- Ariyani W., Iwasaki T., Miyazaki W., Yu L., Takeda S., Koibuchi N. A Possible Novel Mechanism of Action of Genistein and Daidzein for Activating Thyroid Hormone Receptor-Mediated Transcription. *Toxicological Sciences*, 2018, 164: 417-427.
- Arrangoiz R., Cordera F., Caba D., Muñoz M., Moreno E., de León E. L. Comprehensive Review of Thyroid Embryology, Anatomy, Histology, and Physiology for Surgeons. *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 2018, 7: 160-188.
- Awobajo F., Nandedkar T., Balasinor N. Genistein Alters Oestrous Cyclicity, Oocyte Fertilization and Implantation Process in Rats. *Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine*, 2013, 23: 188-193.
- Bajaj J. K., Salwan P., Salwan S. Various Possible Toxicants Involved in Thyroid Dysfunction: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 2016, 10(1): 1-3.
- Bantacut T. Pengembangan Kedelai Untuk Kemandirian Pangan, Energi, Industri, Dan Ekonomi. *Jurnal Pangan*, 2017, 26(1): 81-96.
- Barnes S. The Biochemistry, Chemistry and Physiology of the Isoflavones in Soybeans and Their Food Products. *Lymphatic Research and Biology*, 2010, 8(1): 89-98.
- Bhuiyan F. R., Saleh F., Hossain I. A., Jahan K., Ali L. Effects of Soy-Milk on Blood Lipids and Total Homocysteine Level in Postmenopausal Women of Bangladesh. *International Journal of Nutrition*, 2016, 2: 14.
- Bitto A., Polito F., Atteritano M., Altavilla D., Mazzaferro S., Marini H., et al. Genistein Aglycone Does Not Affect Thyroid Function: Results from a Three-Year, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2010, 95: 3067-3072.
- B POM RI. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara in Vivo. 2014. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, Jakarta.
- Bruce B., Messina M., Spiller G. Isoflavone Supplements Do Not Affect Thyroid Function in Iodine-Replete Postmenopausal Women. *Journal of Medicinal Food*, 2003, 6(4): 309-315.
- Burssens S., Pertry I., Ngudi D. D., Kuo Y.-H., Van Montagu M., Lambein F., 2011. Soya, Human Nutrition and Health, InTech, Belgium, p. 8-180.



- Carvalho D. P., Dupuy C. Thyroid Hormone Biosynthesis and Release. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2017, 458: 6-15.
- Cederroth C. R., Nef S. Soy, Phytoestrogens and Metabolism: A Review. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2009, 304(1): 30-42.
- Chang H. C., Doerge D. R. Dietary Genistein Inactivates Rat Thyroid Peroxidase in Vivo without an Apparent Hypothyroid Effect. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2000, 168(3): 244-252.
- Chevalier N., Fénichel P. Endocrine Disruptors: New Players in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes? *Diabetes & Metabolism*, 2015, 41(2): 107-115.
- Craig W. J., 2018. Soy and Human Health: Benefits and Controversies, CRC Press, New York, p. 173-190.
- D'Adamo C. R., Sahin A. Soy Foods and Supplementation: A Review of Commonly Perceived Health Benefits and Risks. *Alternative Therapies in Health & Medicine*, 2014, 20(1): 39-51.
- Darbre P. D. Endocrine Disruptors and Obesity. *Current Obesity Reports*, 2017, 6(1): 18-27.
- Delclos K. B., Bucci T. J., Lomax L. G., Latendresse J. R., Warbritton A., Weis C. C., et al. Effects of Dietary Genistein Exposure During Development on Male and Female Cd (Sprague-Dawley) Rats. *Reproductive Toxicology*, 2001, 15: 647-663.
- Dillingham B., McVeigh B., Lampe J., Duncan A. Soy Protein Isolates of Varied Isoflavone Content Do Not Influence Serum Thyroid Hormones in Healthy Young Men. *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association*, 2007, 17(2): 131-137.
- Dixon R. A., Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry*, 2002, 60: 205-211.
- Doerge D. R., Chang H. C. Inactivation of Thyroid Peroxidase by Soy Isoflavones, in Vitro and in Vivo. *Journal of Chromatography B*, 2002, 777(1): 269-279.
- Doerge D. R., Sheehan D. M. Goitrogenic and Estrogenic Activity of Soy Isoflavones. *Environmental Health Perspectives*, 2002, 110: 349-353.
- dos Santos M. C. d. S., Gonçalves C. F. L., Vaisman M., Ferreira A. C. F., de Carvalho D. P. Impact of Flavonoids on Thyroid Function. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(10): 2495-2502.
- EFSA Panel. Risk Assessment for Peri- and Post-Menopausal Women Taking Food Supplements Containing Isolated Isoflavones. *EFSA Journal*, 2015, 13(10): 1-342.
- Elagamy E. Milk Protein Allergy. *Reference Module in Food Science*, 2016, 1: 1-5.
- Feizollahzadeh S., Ghiasvand R., Rezaei A., Khanahmad H., Hariri M. Effect of Probiotic Soy Milk on Serum Levels of Adiponectin, Inflammatory Mediators, Lipid Profile, and Fasting Blood Glucose among Patients with Type II Diabetes Mellitus. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2017, 9(1): 41-47.
- Fitzpatrick M. Soy Formulas and the Effects of Isoflavones on the Thyroid. *New Zealand Medical Journal*, 2000, 113(1103): 24-26.
- Ganai A. A., Farooqi H. Bioactivity of Genistein: A Review of in Vitro and in Vivo Studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2015, 76: 30-38.
- Gül A., Bakir B. O. Danger of the Era: Environmental Obesogens. *Advances in Obesity Weight Management & Control*, 2018, 8(1): 32-35.



- Harvill L. M. Standard Error of Measurement. *Educational Measurement: Issues and Practice*, 1991, 10(2): 33-41.
- Hooper L., Ryder J., Kurzer M., Lampe J., Messina M., Phipps W., *et al.* Effects of Soy Protein and Isoflavones on Circulating Hormone Concentrations in Pre- and Post-Menopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Human Reproduction Update*, 2009, 15(4): 423-440.
- Ikeda T., Nishikawa A., Imazawa T., Kimura S., Hirose M. Dramatic Synergism between Excess Soybean Intake and Iodine Deficiency on the Development of Rat Thyroid Hyperplasia. *Carcinogenesis*, 2000, 21(4): 707-713.
- Irmawartini, Nurhaedah, 2017. Metodologi Penelitian, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, p. 113-114.
- Jameson J. L., 2010. Harrison's Endocrinology Second Edition, McGraw-Hill Medical, New York, p. 16-24.
- Kabir E. R., Rahman M. S., Rahman I. A Review on Endocrine Disruptors and Their Possible Impacts on Human Health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2015, 40: 241-258.
- Koolhaas J. M., 2010. The Ufaw Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals, University Medical Center Groningen, Groningen, p. 311-326.
- Krisnawati A. Soybean as Source of Functional Food. *Iptek Tanaman Pangan*, 2017, 12(1): 57-65.
- Leary S. L., Underwood W., Anthony R., Gwaltney-Brant S., Poison A., Meyer R. Avma Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition, 2013. American Veterinary Medical Association Schaumburg, IL, p. 38-40.
- Leung A., Pearce E. N., Braverman L. E. Role of Iodine in Thyroid Physiology. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 2010, 5: 593-602.
- Li D., Li T., Wang F., Tian H., Samuels H. H. Functional Evidence for Retinoid X Receptor (R α) as a Nonsilent Partner in the Thyroid Hormone Receptor/R α Heterodimer. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, 22(16): 5782-5792.
- Lokuruka M. Soybean Nutritional Properties: The Good and the Bad About Soy Foods Consumption-a Review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 2010, 10(4): 2439-2459.
- Luthfiyah F., Widjajanto E. Serbuk Daun Kelor Memulihkan Kondisi Fisik Gizi Buruk Pada Tikus Model Kurang Energi Protein. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2013, 26(3): 131-135.
- Marini H., Polito F., Adamo E. B., Bitto A., Squadrito F., Benvenga S. Update on Genistein and Thyroid: An Overall Message of Safety. *Frontiers in Endocrinology*, 2012, 3: 1-4.
- Martin C. R., Ling P.-R., Blackburn G. L. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*, 2016, 8(5): 279-289.
- Maskarinec G., Oshiro C., Morimoto Y., Hebshi S., Novotny R., Franke A. Urinary Isoflavone Excretion as a Compliance Measure in a Soy Intervention among Young Girls: A Pilot Study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 59(3): 369-375.



- Mazumder M. A. R., Hongsprabhas P. Genistein as Antioxidant and Antibrowning Agents in in Vivo and in Vitro: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2016, 82: 379-392.
- Messina M., Redmond G. Effects of Soy Protein and Soybean Isoflavones on Thyroid Function in Healthy Adults and Hypothyroid Patients: A Review of the Relevant Literature. *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association*, 2006, 16(3): 249-258.
- Milerová J., Čerovská J., Zamrazil V., Bilek R., Lapčík O., Hampl R. Actual Levels of Soy Phytoestrogens in Children Correlate with Thyroid Laboratory Parameters. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2006, 44: 171-174.
- Mittal N., Hota D., Dutta P., Bhansali A., Suri V., Aggarwal N., et al. Evaluation of Effect of Isoflavone on Thyroid Economy & Autoimmunity in Oophorectomised Women: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Indian J Med Res*, 2011, 133: 633-640.
- Modaresi M., Khorrami H., Asadi-Samani M. The Effect of Feeding with Soybean on Serum Levels of Tsh, T3 and T4 in Male Mice. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 2014, 3(2): 93-96.
- Mukund V., Mukund D., Sharma V., Mannarapu M., Alam A. Genistein: Its Role in Metabolic Diseases and Cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2017, 119: 13-22.
- Muraro A., Werfel T., Hoffmann- Sommergruber K., Roberts G., Beyer K., Bindsløv Jensen C., et al. Eaaci Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: Diagnosis and Management of Food Allergy. *Allergy*, 2014, 69: 1008-1025.
- Mustafa A., Malintan N., Seelan S., Zhan Z., Mohamed Z., Hassan J., et al. Phytoestrogens Levels Determination in the Cord Blood from Malaysia Rural and Urban Populations. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2007, 222: 25-32.
- Nair A. B., Jacob S. A Simple Practice Guide for Dose Conversion between Animals and Human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 2016, 7(2): 27-31.
- Nappi F., Barrea L., Di Somma C., Savanelli M. C., Muscogiuri G., Orio F., et al. Endocrine Aspects of Environmental "Obesogen" Pollutants. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2016, 13: 765-781.
- Natalia G., Darwanto D. H., Hartono S. Analysis of Soybean Availability in Indonesia. *Ilmu Pertanian (Agricultural Science)*, 2017, 2: 042-047.
- Nogowski L., Nowicka E., Szkudelski T., Szkudelska K. The Effect of Genistein on Some Hormones and Metabolic Parameters in the Immature, Female Rats. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2007, 16(2): 274-282.
- Otun J., Sahebkar A., Östlundh L., Atkin S. L., Sathyapalan T. Systematic Review and Meta-Analysis on the Effect of Soy on Thyroid Function. *Scientific reports*, 2019, 9: 3964.
- Palkowska-Goździk E., Lachowicz K., Rosołowska-Huszcz D. Effects of Dietary Protein on Thyroid Axis Activity. *Nutrients*, 2017, 10(1): 5-20.
- Patisaul H. B. Endocrine Disruption by Dietary Phyto-Oestrogens: Impact on Dimorphic Sexual Systems and Behaviours. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2017, 76: 130-144.



- Patisaul H. B., Jefferson W. The Pros and Cons of Phytoestrogens. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2010, 31(4): 400-419.
- Patterson C. The Interpretation of the Standard Error of Measurement. *The Journal of Experimental Education*, 1955, 23: 247-252.
- Pihlajamaa P., Zhang F.-P., Saarinen L., Mikkonen L., Hautaniemi S., Jänne O. A. The Phytoestrogen Genistein Is a Tissue-Specific Androgen Receptor Modulator. *Endocrinology*, 2011, 152: 4395-4405.
- Puluputturi S. R., Dayapulae J. R. Phytoestrogens: Risks and Benefits. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2011, 10: 122-126.
- Retana-MÃ S., MuÃoz-GutiÃ M., Duarte G., Vielma J. s., Fitz-RodrÃguez G., Keller M. Effects of Phytoestrogens on Mammalian Reproductive Physiology. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 2012, 15(S1): 129-145.
- Rietjens I. M., Louisse J., Beekmann K. The Potential Health Effects of Dietary Phytoestrogens. *British Journal of Pharmacology*, 2017, 174(11): 1263-1280.
- Santos L., Davel A., Almeida T., Almeida M., Soares E., Fernandes G., et al. Soy Milk Versus Simvastatin for Preventing Atherosclerosis and Left Ventricle Remodeling in Ldl Receptor Knockout Mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2017, 50(3).
- Sawitri M. E., Manab A., Siswijono S. B., Rahayu P. P., Andriani R. D. Pengembangan Usaha Pengolahan Susu Kedelai Menjadi Pangan Fungsional Soyagurt Dan Tawasutra Di Kecamatan Karangploso Dan Sukun Kabupaten Malang. *Jurnal Akses Pengabdian Indonesia*, 2017, 2: 8-14.
- Schug T. T., Johnson A. F., Birnbaum L. S., Colborn T., Guillette Jr L. J., Crews D. P., et al. Minireview: Endocrine Disruptors: Past Lessons and Future Directions. *Molecular Endocrinology*, 2016, 30: 833-847.
- Septifani R., Umam K. Peningkatan Kapabilitas Produksi Susu Kedelai Dengan Alih Mekanis Di Kota Batu. *Research Report*, 2017: 715-719.
- Setchell K. D., Brown N. M., Zimmer-Nechemias L., Brashear W. T., Wolfe B. E., Kirschner A. S., et al. Evidence for Lack of Absorption of Soy Isoflavone Glycosides in Humans, Supporting the Crucial Role of Intestinal Metabolism for Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2002, 76(2): 447-453.
- Sirotkin A. V., Harrath A. H. Phytoestrogens and Their Effects. *European Journal of Pharmacology*, 2014, 741: 230-236.
- Šošić-Jurjević B., Filipović B., Ajdžanović V., Savin S., Nestorović N., Milošević V., et al. Suppressive Effects of Genistein and Daidzein on Pituitary–Thyroid Axis in Orchidectomized Middle-Aged Rats. *Experimental Biology and Medicine*, 2010, 235: 590-598.
- Sosvorová L., Mikšátková P., Bičíková M., Kaňová N., Lapčík O. The Presence of Monoiodinated Derivates of Daidzein and Genistein in Human Urine and Its Effect on Thyroid Gland Function. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(8): 2774-2779.
- Spagnuolo C., Russo G. L., Orhan I. E., Habtemariam S., Daglia M., Sureda A., et al. Genistein and Cancer: Current Status, Challenges, and Future Directions. *Advances in Nutrition*, 2015, 6(4): 408-419.



- Spitzweg C., Morris J. C. Sodium Iodide Symporter (Nis) and Thyroid. *Hormones-Athens*, 2002, 1: 22-34.
- Steensma A., Bienenmann-Ploum M. E., Noteborn H. P. Intestinal Uptake of Genistein and Its Glycoside in the Rat Using Various Isolated Perfused Gut Segments. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2004, 17(2): 103-110.
- Steensma A., Faassen-Peters M. A., Noteborn H. P., Rietjens I. M. Bioavailability of Genistein and Its Glycoside Genistin as Measured in the Portal Vein of Freely Moving Unanesthetized Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(21): 8006-8012.
- Strom B. L., Schinnar R., Ziegler E. E., Barnhart K. T., Sammel M. D., Macones G. A., et al. Exposure to Soy-Based Formula in Infancy and Endocrinological and Reproductive Outcomes in Young Adulthood. *Jama*, 2001, 286: 807-814.
- Sudaryanto T., Swastika D. K. Ekonomi Kedelai Di Indonesia. *Forum Agro Ekonomi (FAE)*, 2007. p 1-27.
- Supriyadi, 2014. *Statistik Kesehatan*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta, p. 119-121.
- Sweeney M., Hasan N., Soto A., Sonnenschein C. Environmental Endocrine Disruptors: Effects on the Human Male Reproductive System. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2015, 16: 341-357.
- Szkudelska K., Nogowski L. Genistein—a Dietary Compound Inducing Hormonal and Metabolic Changes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 105(1): 37-45.
- Tagawa N., Kubota S., Kobayashi Y., Kato I. Genistein Inhibits Glucocorticoid Amplification in Adipose Tissue by Suppression of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. *Steroids*, 2015, 93: 77-86.
- Tonstad S., Jaceldo-Siegl K., Messina M., Haddad E., Fraser G. E. The Association between Soya Consumption and Serum Thyroid-Stimulating Hormone Concentrations in the Adventist Health Study-2. *Public Health Nutrition*, 2016, 19(8): 1464-1470.
- Wocławek-Potocka I., Mannelli C., Boruszewska D., Kowalczyk-Zieba I., Waśniewski T., Skarżyński D. J. Diverse Effects of Phytoestrogens on the Reproductive Performance: Cow as a Model. *International Journal of Endocrinology*, 2013, 2013: 1-15.
- Xiao Y., Zhang S., Tong H., Shi S. Comprehensive Evaluation of the Role of Soy and Isoflavone Supplementation in Humans and Animals over the Past Two Decades. *Phytotherapy Research*, 2018, 32(3): 384-394.
- Zakaria A. K., Sejati W. K., Kustiari R. Analisis Daya Saing Komoditas Kedelai Menurut Agro Ekosistem: Kasus Di Tiga Provinsi Di Indonesia. *Jurnal Agro Ekonomi*, 2016, 28: 21-37.
- Zengpeng, Fan H., Zhang B., Xing K., Guo Y. Dietary Genistein Supplementation for Breeders and Their Offspring Improves the Growth Performance and Immune Function of Broilers. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 5161-5175.
- Zerrouh I. F., Addou S., Boutferkas Y., Kheroua O., Saidi D. Effect of the Consumption of Milk of Soya on the Male Fertility of Swiss Mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014, 6(4): 669-676.



LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kelaikan Etik Penelitian Dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567392 - Fax. (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 96 / EC / KEPK / 03 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Efek Suplementasi Susu Kedelai Sub Kronis terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen di Pituitary, Testis, dan Prostate serta Gambaran Histologi Testis dan Tulang, Kadar TPO, TSH, FT3, FT4, PTH, ALP, Profil Lemak, IL-6, dan IL-10 *Sprague Dawley* Jantan.

PENELITI UTAMA : dr. Leny Puspitasari, SpPD
dr. Wardhana, SpPD
dr. Aktaruddin Arief Santoso
dr. Bobi Yohanes Sewow
dr. Fadhila Nurisa
dr. Muh. Immanudin Nasution
dr. Rahmad Budianto

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Patologi Anatomi FKUB

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 09 MAR 2017

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS (K), M.Hum.
NIP. 19450516 197111 1 001

Catatan :
Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)



Lampiran 2. Daftar Peneliti

No.	Nama Peneliti	Judul Penelitian
1.	dr. Rahmad Budianto	Perbandingan Efek <i>Endocrine Disruptor</i> Suplementasi Susu Kedelai dan Genistein pada Tikus Wistar (<i>Sprague Dawley</i>) Jantan : Tinjauan Berdasarkan Kadar TPO, T3, T4, dan TSH
2.	dr. Fadhila Nurisa	Pengaruh Suplementasi Soya terhadap Bone Turnover pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> Jantan
3.	dr. Aktaruddin Arief Santoso	Efek Suplementasi Soya dan Genistein Terhadap Penurunan Kadar Infiltrasi Lemak Pankreas Tikus <i>Sprague Dawley</i>
4.	dr. Imanudin Nasution	Efek Suplementasi Soya dan Genistein Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol di Darah dan Fibrosis Lemak di Hati pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> Jantan
5.	dr. Bobi Y. Sewow	Efek Suplementasi Soya dan Genistein terhadap Sitokin Pro Inflamasi IL-6 Serta Tanda Inflamasi di Jantung dan Aorta pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> Jantan
6.	dr. Leny Puspitasari, Sp.PD	Efek Suplementasi Susu Kedelai Sub Kronis pada Kadar <i>Luteinizing Hormone</i> (LH), <i>Follicle Stimulating Hormone</i> (FSH), Ekspresi Reseptor Estrogen α (ER- α) Dan Reseptor Estrogen β (ER- β) Di Testis Dan Epididymis, Dan Kadar Testosteron pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> Jantan
7.	dr. Wardhana, Sp.PD	Pengaruh Pemberian Sub-Kronis Susu Kacang Kedelai Terhadap Ekspresi <i>Estrogen Receptor</i> α (ER- α) dan β (ER- β) pada Pituitari Anterior Serta Kadar <i>Luteinizing Hormone</i> (LH), <i>Follicle Stimulating Hormone</i> (FSH) dan Testosteron Dalam Serum pada Tikus Jantan <i>Sprague Dawley</i>



Lampiran 3. Hasil Analisa Kandungan Nutrisi Dari Bubuk Kedelai Yang Digunakan Dalam Penelitian.

**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU DAN KEAMANAN PANGAN
(TESTING LABORATORY OF FOOD QUALITY AND FOOD SAFETY)**
**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
 Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. (0341) 573358
 E-mail : labujiipangan_thpub@yahoo.com

**KEPADA : LENY PUSPITASARI
FK - UB
MALANG**

**LAPORAN HASIL UJI
REPORT OF ANALYSIS**


Nomor / Number : 0203/THP/LAB/2017
 Nomor Analisis / Analysis Number : 0203
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 23 Maret 2017
 Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
 The undersigned ratifies that examination
 Dari contoh / of the sample (s) of : **BUBUK KEDELAI**

Untuk analisis / For analysis :
 Keterangan contoh / Description of sample :
 Diambil dari / Taken from :
 Oleh / By :
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 24 Februari 2017
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 24 Februari 2017
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows

Parameter	Nutrition Facts/ Informasi Nilai Gizi	
	Serving Size/ Takaran Saji : 100g	Calories/ Kalori : 484 Kal
	Calories From Fat/ Kalori : 207 Kal	
	Berat	% AKG
Lemak Total/ Total Fat	23,93 g	35,43
Protein/ Protein	35,80 g	71,60
Karbohidrat Total/ Total Carbohydrate	33,43 g	11,14
Kalsium/ Calcium	14,36 mg	2,05
Natrium/ Sodium	3,04 mg	0,13
Magnesium/ Magnesium	12,99 mg	4,99
Kalium/ Potassium	66,96 mg	1,91
Vitamin C/ vitamin C	0 mg	0

* Persen Angka Kecukupan Gizi berdasarkan pada diet 2000 Kalori

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN TANDING BARANG


 Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP
 NIP. 19700504 199903 2 002



Lampiran 4. Hasil Analisa Genistein Dari Bubuk Kedelai Yang Digunakan Dalam Penelitian.

LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU DAN KEAMANAN PANGAN
 (TESTING LABORATORY OF FOOD QUALITY AND FOOD SAFETY)
 JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
 FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. (0341) 573358
 E-mail : labujipangan_thpub@yahoo.com

KEPADA : Leny Puspitasari
 FK - UB
 MALANG

LAPORAN HASIL UJI
 REPORT OF ANALYSIS

Nomor / Number : 0103/THP/LAB/2017
 Nomor Analisis / Analysis Number : 0103
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 14 Februari 2017
 Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
 The undersigned ratifies that examination
 Dari contoh / of the sample (s) of : **SUSU BUBUK KEDELAI**

Untuk analisis / For analysis :
 Keterangan contoh / Description of sample :
 Diambil dari / Taken from :
 Oleh / By :
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 10 Februari 2017
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 10 Februari 2017
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

KODE	KADAR GENISTEIN (mg/g)
ULANGAN I	4,60
ULANGAN II	4,29

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN TANDING BARANG

Ketua,

 Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP
 NIP. 19700504 199903 2 002

Lampiran 5. Foto Pelaksanaan Penelitian



Pemeliharaan Tikus *Sprague dawley* di kandang individu



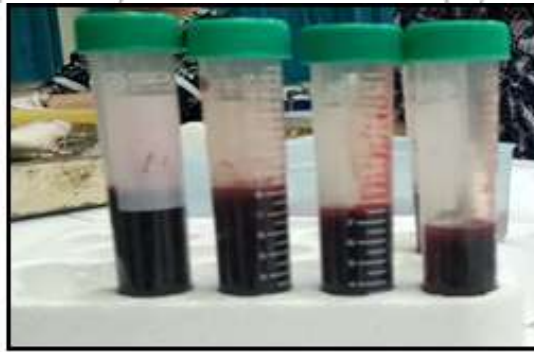
Bubuk susu kedelai yang digunakan dalam penelitian



Tikus *Sprague dawley* dianestesi sebelum dikorbankan



Tikus *Sprague dawley* dikorbankan



Pengambilan darah vena melalui *cardiac puncture*



Pemeriksaan serum TSH, TPO, T3, dan T4 dengan teknik ELISA

Lampiran 6. Cara Penghitungan Dosis Susu Kedelai

Dosis harian konsumsi genistein pada manusia 20 – 80 mg/hari.
 Rentang dosis pada tikus dikonversikan dari dosis manusia menjadi dosis terkecil, dosis menengah, dan dosis terbesar.

Dosis hewan tikus (mg/kg) = dosis manusia/hari (mg/kg) x Km (konstanta)

(Km untuk tikus = 6,2),

Dosis genistein tikus (dosis terkecil) = (20/60) mg/kg x 6,2
 = 2,1 mg/kg

Berat tikus rata-rata 200 gram (0,2 kg),

maka dosis terkecil tikus :



$$= 2,1 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg}$$

$$= 0,4 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis genistein tikus (dosis menengah)} = (40/60) \text{ mg/kg} \times 6,2$$

$$= 4,1 \text{ mg/kg}$$

$$\text{Berat tikus rata-rata } 200 \text{ gram (0,2 kg),}$$

maka dosis terkecil tikus :

$$= 4,1 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg}$$

$$= 0,8 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis genistein tikus (dosis terbesar)} = (80/60) \text{ mg/kg} \times 6,2$$

$$= 8,3 \text{ mg/kg}$$

$$\text{Berat tikus rata-rata } 200 \text{ gram (0,2 kg),}$$

maka dosis terkecil tikus :

$$= 8,3 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg}$$

$$= 1,6 \text{ mg}$$

Analisa kandungan genistein dalam susu kedelai antara lain :

-Ulangan I : 4,60 mg/g (4,6 mg genistein dalam 1 gram bubuk susu kedelai)

-Ulangan II : 4,29 mg/g (4,29 mg genistein dalam 1 gram bubuk susu kedelai)

Berarti rata-rata kandungan genistein dalam susu kedelai : **4,4 mg/g** (4,4 mg

genistein dalam 1 gram bubuk susu kedelai). Dengan demikian, apabila dosis

genistein yang digunakan pada penelitian ini sebesar 0,4 mg/hari, 0,8 mg/hari, dan

1,6 mg/hari maka dosis susu kedelai yang diberikan adalah 91 mg/hari, 182 mg/hari,

dan 364 mg/hari.



Pembuatan larutan susu kedelai dilakukan dengan mencampurkan 20 gr bubuk susu kedelai dalam 160 mL akuades.

Berarti terdapat : $(20 \text{ gram}/160 \text{ mL}) = 0,125 \text{ gram}$ susu kedelai dalam 1 mL larutan susu kedelai atau terdapat $(0,125 \times 4,4) \text{ mg}$ genistein dlm 1 mL larutan = 0,5 mg genistein dlm 1 mL larutan.

Maka volume larutan susu kedelai yang dibutuhkan setara dengan dosis genistein yaitu :

-Dosis kecil = $0,4 \text{ mg}/0,5 \text{ mg} \times 1 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$ larutan susu kedelai

-Dosis sedang = $0,8 \text{ mg}/0,5 \text{ mg} \times 1 \text{ mL} = 1,6 \text{ mL}$ larutan susu kedelai

-Dosis besar = $1,6 \text{ mg}/0,5 \text{ mg} \times 1 \text{ mL} = 3,2 \text{ mL}$ larutan susu kedelai

Lampiran 7. Cara Penghitungan Dosis Genistein

Dosis harian konsumsi genistein pada manusia 20 – 80 mg/hari.

Rentang dosis pada tikus dikonversikan dari dosis manusia menjadi dosis terkecil, dosis menengah, dan dosis terbesar.

Dosis hewan tikus (mg/kg) = dosis manusia/hari (mg/kg) x Km (konstanta)

(Km untuk tikus = 6,2),

Dosis genistein tikus (dosis terkecil) = $(20/60) \text{ mg/kg} \times 6,2$

= 2,1 mg/kg

Berat tikus rata-rata 200 gram (0,2 kg),

maka dosis terkecil tikus :

= $2,1 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg}$

= 0,4 mg



$$\text{Dosis genistein tikus (dosis menengah)} = (40/60) \text{ mg/kg} \times 6,2 \\ = 4,1 \text{ mg/kg}$$

Berat tikus rata-rata 200 gram (0,2 kg),

maka dosis terkecil tikus :

$$= 4,1 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg} \\ = 0,8 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis genistein tikus (dosis terbesar)} = (80/60) \text{ mg/kg} \times 6,2 \\ = 8,3 \text{ mg/kg}$$

Berat tikus rata-rata 200 gram (0,2 kg),

maka dosis terkecil tikus :

$$= 8,3 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg} \\ = 1,6 \text{ mg}$$

Larutan genistein yang dibuat yaitu 15 mg genistein dalam 30 mL akuades. Berarti 1 mg genistein terdapat dalam 2 mL larutan genistein.

$$\text{Dosis tikus (dosis terkecil)} 0,4 \text{ mg} = 0,4 \times 2 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis tikus (dosis menengah)} 0,8 \text{ mg} = 0,8 \times 2 \text{ mL} = 1,6 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis tikus (dosis terbesar)} 1,6 \text{ mg} = 1,6 \times 2 \text{ mL} = 3,2 \text{ mL (diberikan 2 kali 1,6 mL)}$$



Lampiran 8. Hasil Observasi Berat Tikus (gram)

KELOMPOK	Hr ke-										
	No	1	5	12	18	25	31	39	46	52	60
Kelompok 1 (Kontrol Negatif)	1	166,78	168,42	189,92	214,59	232,86	260,1	273,18	304,98	325,21	340,85
	2	164,6	185,87	222,58	262,15	288,05	288,86	272,1	322,6	333,94	347,21
	3	169,65	185,81	211,29	270,26	289,9	288,7	283,04	265,62	271,77	288,16
	4	130,85	142,5	159,6	182,87	211,77	219,83	227,02	240,89	260,36	279,39
	5	197,97	218,57	258,02	281,13	290,14	292,76	259,02	277,66	302,3	312,1
Kelompok 2 (Susu Kedelai 0,8 mL)	6	172,71	182,32	216,38	248,49	269,47	286,26	256,12	294,06	318,79	338,19
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	210,46	238,09	277,47	277,37	296,61	330,55	335,01	351,67	349,57	357,4
Kelompok 3 (Susu Kedelai 1,6 mL)	9	211,68	253,22	255,64	265,95	293,37	306,15	299,5	324,24	333,02	360,78
	10	226,47	222,29	304,27	323,86	342,25	353,4	336,01	377,79	383,26	307,01
	11	180,25	193,11	219,37	253,22	272,33	281,84	277,95	288,69	296,92	304,08
	12	208,01	239,9	261,52	283,97	300,31	316,86	287,03	302,2	319,16	329,93
	13	196,87	200,53	245,04	264,71	286,33	316,74	322,41	272,65	303,6	247,06
Kelompok 4 (Susu Kedelai 2x1,6 mL)	14	193,18	209,65	238,43	261,28	274,14	295	274,95	280,42	299,91	332,01
	15	191,41	204,17	227,95	262,37	282,17	288,88	298,81	299,49	303,26	322,8
	16	214,8	243,51	269,51	291,33	304,84	318,58	300,16	321,89	329,64	368,75
	17	175,71	187,63	218,83	227,4	241,28	255,33	258,51	244,5	266,37	283,39
Kelompok 5 (Genistein 0,8 mL)	18	183,81	186,59	201,22	214,35	203,7	222,67	230,53	200,24	213,3	226,12
	19	200,73	250,53	254,5	274,03	290,17	306,69	313,6	318,15	288,21	281,54
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 6 (Genistein 1,6 mL)	22	171,53	190,1	217,4	244,94	266,06	289,74	241,51	250,34	273,8	292,1
	23	190,46	213,09	251,07	291,36	316,69	319,84	292,33	344,45	355,8	366,27
	24	190,52	213,13	260,21	258,36	269,94	276,67	246,69	294,65	296,6	322,34
	25	207,5	217,44	245,55	264,92	278,78	296,98	316,42	338,46	330,12	366,84
Kelompok 7 (Genistein 2 x 1,6 mL)	26	199,06	228,3	248,3	255,51	277,85	295,65	303	285,6	292,05	311,3
	27	221,6	221,76	247,55	265,68	287,16	298,99	303,02	317,39	329,76	334,42
	28	197,69	241,11	280,52	302,63	322,95	339,4	356,85	328,05	340,24	365,98



Lampiran 9. Hasil Observasi Panjang Tikus (cm)

Kelompok	Hr ke-										
	No	1	5	12	18	25	31	39	46	52	60
Kelompok 1 (Kontrol Negatif)	1	16,5	16,7	17	17,4	17,5	18	18,3	19	19,5	20,3
	2	15,5	16,4	17,2	18	18,6	18,6	18,6	18,7	19	20,5
	3	16	16,6	17	18,2	18,5	18,8	18,7	19	19,6	20,6
	4	15,6	15,8	16	16,4	16,6	17	17,3	18,6	19	19,6
	5	17,5	18	18	18,5	18,7	19	19	19	20,3	20,8
Kelompok 2 (Susu Kedelai 0,8 mL)	6	17,6	17,8	17,9	18,5	19	19,5	19	19,4	20,2	20,1
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	18,1	18,2	18,5	18,8	19	19,5	19,6	20	20,6	20,6
Kelompok 3 (Susu Kedelai 1,6 mL)	9	17,5	17,7	18	19	19	20	20	19,5	20,3	20,6
	10	18	18,2	18,3	19	19	19,5	19,5	20	20,5	21
	11	16,8	17,4	17,5	18	18,1	18,5	18,5	19,5	19,6	20,5
	12	17,5	18	18	18,5	18,7	19	19	19	20,1	20
Kelompok 4 (Susu Kedelai 2 x 1,6 mL)	13	18,3	18,4	17,6	18,5	19	19	19	19,7	20	19,8
	14	17,6	17,6	18,5	18,7	18,7	19	19	19,5	19,5	20,3
	15	18	18,5	18,6	18,6	19	19,5	19,5	19,5	19,5	20
	16	17,8	18,2	18,3	19	19,2	19,5	19,6	20	20	20,5
	17	17,5	17,5	17,5	18	18,5	18,5	18,6	18,7	19	20
Kelompok 5 (Genistein 0,8 mL)	18	17,7	17,8	17,8	18	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8
	19	18,2	18,2	18,2	18,5	19	19,5	19,7	19,7	20	20,5
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 6 (Genistein 1,6 mL)	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	22	16,5	16,8	17,6	18	18,4	19,3	19	19	19,5	20,1
	23	16,7	17	17,3	18	18,8	19,3	19,5	19,5	20,1	20,6
	24	17,5	17,5	18	18,1	18,5	19	19	20,1	20	20,2
Kelompok 7 (Genistein 2 x 1,6 mL)	25	18	18,1	18,2	18,5	18,8	18,8	19,1	20	20,5	20,5
	26	17,5	17,9	18	18,1	18,5	19	19,2	19,5	19,5	20,2
	27	18,5	19	19	19,2	19,5	19,6	20	20,5	20,5	21
	28	18,3	18,14	18,5	18,6	19	19,2	19,3	19,5	20	20,7



Lampiran 10. Hasil Pengukuran Kadar Serum TSH, TPO, T3, dan T4 pada Akhir Penelitian

Kelompok	Parameter yg diukur	TSH (mIU/mL)	TPO (ng/mL)	T3 (pg/mL)	T4 (ng/mL)
	Nomor Tikus				
Kelompok 1 (Kontrol Negatif)	1	15,65	4,70	2420	37,63
	2	9,51	6,17	2790	18,09
	3	12,47	3,83	4620	29,20
	4	9,01	3,56	1410	49,57
	5	11,41	29,27	3710	243,02
Kelompok 2 (Susu Kedelai 0,8 mL)	6	12,00	20,92	4150	200,35
	7	0	0	0	0
	8	10,77	19,95	2850	161,69
	9	18,98	19,99	3170	9,94
Kelompok 3 (Susu Kedelai 1,6 mL)	10	9,64	32,31	4570	8,83
	11	9,75	42,57	5100	12,35
	12	11,51	33,70	3980	7,07
	13	1,15	27,92	3020	35,41
Kelompok 4 (Susu Kedelai 2 x 1,6 mL)	14	7,90	27,97	2180	17,31
	15	1,74	25,43	4520	19,06
	16	0,33	41,38	1800	13,74
	17	0,96	18,09	3020	268,46
Kelompok 5 (Genistein 0,8 mL)	18	5,47	16,36	2180	249,76
	19	1,81	16,11	4520	258,65
	20	0	0	0	0
	21	0	0	0	0
Kelompok 6 (Genistein 1,6 mL)	22	1,29	3,01	1110	100,22
	23	1,07	7,63	930	106,15
	24	2,47	10,75	3760	109,85
	25	4,28	0,94	960	20,73
Kelompok 7 (Genistein 2 x 1,6 mL)	26	3,48	3,89	1580	17,95
	27	3,18	5,01	880	23,69
	28	3,28	2,65	1250	25,55



Lampiran 11. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 1

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 AWAL PENELITIAN KEL 1 - AKHIR PENELITIAN KEL 1	-1.559E2	28.84297	14.42148	-201.82810	-110.03690	-10.813	3	.002	

Lampiran 12. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 2

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 AWAL PENELITIAN KEL 2 - AKHIR PENELITIAN KEL 2	-1.421E2	26.00337	15.01305	-208.77927	-77.58739	-9.471	2	.011	

Lampiran 13. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 3

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 AWAL PENELITIAN KEL 3 - AKHIR PENELITIAN KEL 3	-1.188E2	28.38394	14.19197	-164.01268	-73.68232	-8.374	3	.004	

Lampiran 14. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 4

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 AWAL PENELITIAN KEL 4 - AKHIR PENELITIAN KEL 4	-1.185E2	48.55601	23.27801	-192.87101	-44.50899	-5.095	3	.015	

Lampiran 15. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 5

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 AWAL PENELITIAN KEL 5 - AKHIR PENELITIAN KEL 5	-7.693E1	32.85697	18.98998	-158.55458	4.88791	-4.056	2	.056	



Lampiran 16. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 6

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	AWAL PENELITIAN KEL 6 - AKHIR PENELITIAN KEL 6	-1.428E2	29.16012	16.93560	-215.13441	-70.25892	-8.476	2	.014

Lampiran 17. Uji T Berpasangan Berat Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 7

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	AWAL PENELITIAN KEL 7 - AKHIR PENELITIAN KEL 7	-1.381E2	29.83494	14.91747	-185.64854	-90.69846	-9.262	3	.003

Lampiran 18. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 1

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PJ AWAL PENELITIAN KEL 1 - PJ AKHIR PENELITIAN KEL 1	-4.3500	.5508	.2754	-5.2264	-3.4736	-15.796	3	.001

Lampiran 19. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 2

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PJAWAL PENELITIAN KEL 2 - PJ AKHIR PENELITIAN KEL 2	-2.7687	.4819	.2667	-3.9140	-1.6193	-10.375	2	.009

Lampiran 20. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 3

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PJ AWAL PENELITIAN KEL 3 - PJ AKHIR PENELITIAN KEL 3	-3.075	.492	.246	-3.859	-2.291	-12.499	3	.001

Lampiran 21. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 4

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 P.JAWAL PENELITIAN KEL 4 - P.J AKHIR PENELITIAN KEL 4	-2.2250	.5852	.2926	-3.1562	-1.2938	-7.604	3	.005	

Lampiran 22. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 5

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 P.J AWAL PENELITIAN KEL 5 - P.J AKHIR PENELITIAN KEL 5	-1.9667	.7572	.4372	-3.0476	-.0957	-4.499	2	.046	

Lampiran 23. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 6

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 P.J AWAL PENELITIAN KEL 6 - P.J AKHIR PENELITIAN KEL 6	-3.4000	.6245	.3606	-4.9513	-1.8487	-9.430	2	.011	

Lampiran 24. Uji T Berpasangan Panjang Tikus pada Awal dan Akhir Penelitian Kelompok 7

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 P.J AWAL PENELITIAN KEL 7 - P.J AKHIR PENELITIAN KEL 7	-2.5250	.1258	.0629	-2.7252	-2.3248	-40.133	3	.000	



Lampiran 25. Uji Asumsi Normalitas Kadar T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KADAR T3 (pg/mL)
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	2819.20
	Std. Deviation	1354.083
Most Extreme Differences	Absolute	.105
	Positive	.100
	Negative	-.105
Kolmogorov-Smirnov Z		.523
Asymp. Sig. (2-tailed)		.947

a. Test distribution is Normal.

Lampiran 26. Uji Asumsi Normalitas Kadar T4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KADAR T4 (ng/mL)
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	93.6848
	Std. Deviation	89.56999
Most Extreme Differences	Absolute	.214
	Positive	.214
	Negative	-.167
Kolmogorov-Smirnov Z		1.071
Asymp. Sig. (2-tailed)		.201

a. Test distribution is Normal.



Lampiran 27. Uji Asumsi Normalitas Kadar TSH

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KADAR TSH (mIU/mL)
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	6.7644
	Std. Deviation	5.24487
Most Extreme Differences	Absolute	.174
	Positive	.174
	Negative	-.110
Kolmogorov-Smirnov Z		.872
Asymp. Sig. (2-tailed)		.432

a. Test distribution is Normal.

Lampiran 28. Uji Asumsi Normalitas Kadar TPO

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KADAR TPO (ng/mL)
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	16.9356
	Std. Deviation	12.86195
Most Extreme Differences	Absolute	.165
	Positive	.165
	Negative	-.107
Kolmogorov-Smirnov Z		.827
Asymp. Sig. (2-tailed)		.502

a. Test distribution is Normal.

Lampiran 29. Uji Asumsi Homogenitas Ragam Kadar T3

Test of Homogeneity of Variances

KADAR T3 (ng/mL)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.232	6	18	.336



Lampiran 30. Uji Asumsi Homogenitas Ragam Kadar T4

Test of Homogeneity of Variances

KADAR T4 (ng/mL)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.248	6	18	.329

Lampiran 31. Uji Asumsi Homogenitas Ragam Kadar TSH

Test of Homogeneity of Variances

KADAR TSH (mIU/mL)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.231	6	18	.087

Lampiran 32. Uji Asumsi Homogenitas Ragam Kadar TPO

Test of Homogeneity of Variances

KADAR TPO (ng/mL)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.882	6	18	.139

Lampiran 33. Uji Oneway ANOVA Tentang Perbandingan Kadar TSH pada berbagai Kelompok Perlakuan

ANOVA

KADAR TSH (mIU/mL)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	523.197	6	87.199	11.456	.000
Within Groups	137.010	18	7.612		
Total	660.207	24			



Lampiran 34. Uji Oneway ANOVA Tentang Perbandingan Kadar TPO pada berbagai Kelompok Perlakuan

ANOVA

KADAR TPO (ng/mL)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3457.048	6	576.175	20.206	.000
Within Groups	513.265	18	28.515		
Total	3970.313	24			

Lampiran 35. Uji Oneway ANOVA Tentang Perbandingan Kadar T3 pada berbagai Kelompok Perlakuan

ANOVA

KADAR T3 (ng/mL)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.319E7	6	3864323.722	3.341	.022
Within Groups	2.082E7	18	1156613.426		
Total	4.400E7	24			

Lampiran 36. Uji Oneway ANOVA Tentang Perbandingan Kadar T4 pada berbagai Kelompok Perlakuan

ANOVA

KADAR T4 (ng/mL)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	197921.437	6	32986.906	135.131	.000
Within Groups	4394.004	18	244.111		
Total	202315.442	24			



Lampiran 37. Uji *post hoc* Tukey HSD Tentang Perbandingan Kadar TSH pada berbagai Kelompok Perlakuan

Multiple Comparisons

KADAR TSH (mIU/mL) Tukey HSD		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
I KELOMPOK	J KELOMPOK				Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	.26667	2.10716	1.000	-6.6962	7.2296
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-.81000	1.95005	.999	-7.2564	5.6364
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	8.88000 [*]	1.95085	.004	2.4336	15.3264
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	8.91333 [*]	2.10716	.007	1.9504	15.8762
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	10.05000 [*]	2.10716	.002	3.0871	17.0129
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	8.10500 [*]	1.95085	.009	1.8588	14.5514
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	Kelompok 1	-.26667	2.10716	1.000	-7.2296
Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-1.07667	2.10716	.998	-8.0396	5.8962
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	8.61333 [*]	2.10716	.010	1.6504	15.5762
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	8.64667 [*]	2.25265	.017	1.2030	16.0903
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	9.78333 [*]	2.25265	.006	2.3397	17.2270
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	7.83833	2.10716	.022	.8754	14.8912
	Kelompok 1	81000	1.95085	.999	-5.6364	7.2564
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	1.07667	2.10716	.998	-5.8862	8.0396
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	9.69000 [*]	1.95085	.002	3.2436	16.1364
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	9.72333 [*]	2.10716	.003	2.7604	16.6862
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	10.86000 [*]	2.10716	.001	3.8971	17.8229
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	8.91500 [*]	1.95085	.004	2.4686	15.3614
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	Kelompok 1	-8.88000 [*]	1.95085	.004	-15.3264	-2.4336
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-8.61333 [*]	2.10716	.010	-15.5762	-1.9504
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-8.69000 [*]	1.95085	.002	-16.1364	-3.2436
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	.03333	2.10716	1.000	-6.9296	6.9962
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	1.17000	2.10716	.997	-5.7929	8.1329
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	-.77500	1.95085	1.000	-7.2214	5.6714
	Kelompok 1	-8.91333 [*]	2.10716	.007	-15.8762	-1.9504
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-8.64667 [*]	2.25265	.017	-16.0903	-1.2030
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-9.72333 [*]	2.10716	.003	-16.6862	-2.7604
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-.03333	2.10716	1.000	-6.9962	6.9296
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	1.13867	2.25265	.999	-6.3070	8.5803
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	-.80833	2.10716	1.000	-7.7712	6.1546
	Kelompok 1	-10.05000 [*]	2.10716	.002	-17.0129	-3.0871
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-9.78333 [*]	2.25265	.006	-17.2270
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		-10.86000 [*]	2.10716	.001	-17.8229	-3.8971
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL		-1.17000	2.10716	.997	-8.1329	5.7929
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		-1.13867	2.25265	.998	-6.5803	8.3070
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		-1.94500	2.10716	.964	-8.9079	5.0179
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	Kelompok 1	-8.10500 [*]	1.95085	.009	-14.5514	-1.6586
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-7.83833 [*]	2.10716	.022	-14.8912	-.8754
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-8.91500 [*]	1.95085	.004	-15.3614	-2.4686
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	.77500	1.95085	1.000	-5.6714	7.2214
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	8.08333	2.10716	1.000	-6.1546	7.7712
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	1.94500	2.10716	.964	-5.0179	8.9079
	Kelompok 1	-8.10500 [*]	1.95085	.009	-14.5514	-1.6586

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 38. Uji *post hoc* Tukey HSD Tentang Perbandingan Kadar TPO pada berbagai Kelompok Perlakuan

Multiple Comparisons

KADAR TPO (ng/mL) Tukey HSD		Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(i) KELOMPOK	(j) KELOMPOK				Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-18.76833 [*]	4.07843	.003	-32.2451	-5.2916
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-37.53500 [*]	3.77589	.000	-40.0121	-15.0579
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-26.06000 [*]	3.77589	.000	-30.5371	-13.5829
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-12.23500	4.07843	.090	-25.7118	1.2418
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	-2.54833	4.07843	.995	-16.0251	10.9284
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	1.44250	3.77589	1.000	-11.0346	13.9196
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	Kelompok 1	18.76833 [*]	4.07843	.003	5.2916
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		-8.76667	4.07843	.367	-22.2434	4.7101
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL		-7.29167	4.07843	.572	-20.7604	6.1851
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		6.53333	4.36003	.742	-7.8740	20.9406
Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL		16.22000	4.36003	.022	1.8127	30.6273
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		20.21083 [*]	4.07843	.002	6.7341	33.6876
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		Kelompok 1	27.53500 [*]	3.77589	.000	15.0579
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	8.76667	4.07843	.367	-4.7101	22.2434
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	1.47500	3.77589	1.000	-11.0021	13.9521
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	15.30000 [*]	4.07843	.020	1.8232	28.7768
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	24.98667 [*]	4.07843	.000	11.5099	38.4834
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	28.97750 [*]	3.77589	.000	16.5004	41.4546
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	Kelompok 1	26.06000 [*]	3.77589	.000	13.5829
Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL		7.29167	4.07843	.572	-6.1851	20.7604
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		-1.47500	3.77589	1.000	-13.9521	11.0021
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		13.82500 [*]	4.07843	.042	3.4882	27.3018
Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL		23.51167 [*]	4.07843	.000	10.0349	36.9884
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		27.50250 [*]	3.77589	.000	15.0254	39.9796
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		Kelompok 1	12.23500	4.07843	.090	-1.2418
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-6.53333	4.36003	.742	-20.9406	7.8740
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-15.30000 [*]	4.07843	.020	-26.7768	-1.8232
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-13.82500 [*]	4.07843	.042	-27.3018	-3.4882
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	9.88667	4.36003	.332	-4.7206	24.0940
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	13.87750 [*]	4.07843	.045	2.007	27.1543
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	Kelompok 1	2.54833	4.07843	.995	-10.9284
Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL		-16.22000 [*]	4.36003	.022	-30.6273	-1.8127
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		-24.98667 [*]	4.07843	.000	-38.4634	-11.5099
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL		-23.51167 [*]	4.07843	.000	-36.9884	-10.0349
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		-8.88667	4.36003	.332	-24.0940	4.7206
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		3.99083	4.07843	.952	-9.4859	17.4676
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		Kelompok 1	-1.44250	3.77589	1.000	-13.9196
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-20.21083 [*]	4.07843	.002	-33.6876	-6.7341
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-28.97750 [*]	3.77589	.000	-41.4546	-16.5004
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-27.50250 [*]	3.77589	.000	-39.9796	-15.0254
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-13.87750 [*]	4.07843	.045	-27.1543	-2.007
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	-3.99083	4.07843	.952	-17.4676	9.4859

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 39. Uji *post hoc* Tukey HSD Tentang Perbandingan Kadar T3 pada berbagai Kelompok Perlakuan

Multiple Comparisons

KADAR T3 (pg/mL) Tubey HSD		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
I KELOMPOK	J KELOMPOK				Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-760.000	821.396	.963	-3474.22	1954.22
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-1395.000	760.465	.544	-3907.88	1117.88
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-70.000	760.465	1.000	-2582.88	2442.88
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-430.000	821.396	.998	-3144.22	2284.22
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	876.667	821.396	.930	-1837.56	3590.89
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	1642.500	760.485	.362	-870.38	4155.38
Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	Kelompok 1	760.000	821.396	.963	-1954.22	3474.22
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-635.000	821.396	.985	-3349.22	2079.22
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	690.000	821.396	.977	-2024.22	3404.22
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	330.000	878.109	1.000	-2571.63	3231.63
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	1636.667	878.109	.526	-1264.96	4538.29
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	2402.500	821.396	.103	-311.72	5116.72
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	Kelompok 1	1395.000	760.465	.544	-1117.88	3907.88
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	635.000	821.396	.985	-2079.22	3349.22
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	1325.000	760.465	.599	-1187.88	3637.88
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	965.000	821.396	.895	-1749.22	3679.22
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	2271.667	821.396	.136	-442.56	4985.89
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	3037.500	760.465	.012	524.62	5550.38
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	Kelompok 1	70.000	760.465	1.000	-2442.88	2582.88
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-690.000	821.396	.977	-3404.22	2024.22
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-1325.000	760.465	.599	-3837.88	1187.88
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-360.000	821.396	.999	-3074.22	2354.22
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	946.667	821.396	.903	-1767.56	3660.89
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	1712.500	760.465	.318	-800.38	4225.38
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	Kelompok 1	430.000	821.396	.998	-2284.22	3144.22
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-330.000	878.109	1.000	-3231.63	2571.63
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-965.000	821.396	.895	-3679.22	1749.22
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	360.000	821.396	.999	-2354.22	3074.22
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	1306.667	878.109	.746	-1594.96	4208.29
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	2072.500	821.396	.206	-641.72	4786.72
Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	Kelompok 1	-876.667	821.396	.930	-3590.89	1837.56
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-1636.667	878.109	.526	-4538.29	1264.96
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-2271.667	821.396	.136	-4985.89	442.56
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-946.667	821.396	.903	-3660.89	1767.56
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-1306.667	878.109	.746	-4208.29	1594.96
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	765.833	821.396	.962	-1948.38	3480.06
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	Kelompok 1	-1642.500	760.465	.362	-4155.38	870.38
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-2402.500	821.396	.103	-5116.72	311.72
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	-3037.500	760.465	.012	-5550.38	-524.62
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-1712.500	760.465	.318	-4225.38	800.38
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-2072.500	821.396	.206	-4786.72	641.72
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	-765.833	821.396	.962	-3480.06	1948.39

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 40. Uji *post hoc* Tukey HSD Tentang Perbandingan Kadar T4 pada berbagai Kelompok Perlakuan

Multiple Comparisons

G. KELOMPOK	L. KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-168.01083 [*]	11.93308	.000	-207.4425	-128.5791
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	24.07500	11.04788	.353	-12.4317	60.5817
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	12.24250	11.04788	.917	-24.2642	48.7492
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-225.27750 [*]	11.93308	.000	-264.7092	-185.8458
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	-71.74417 [*]	11.93308	.000	-111.1759	-32.3125
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	11.64250	11.04788	.934	-24.8642	40.1492
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	Kelompok 1	168.01083 [*]	11.93308	.000	128.5791
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		182.08583 [*]	11.93308	.000	152.6541	231.5175
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL		180.25333 [*]	11.93308	.000	140.8216	219.6850
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		-57.26667 [*]	12.75699	.004	-99.4209	-15.1124
Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL		98.26667 [*]	12.75699	.000	54.1124	138.4209
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		179.65333 [*]	11.93308	.000	140.2216	219.0850
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		Kelompok 1	-24.07500	11.04788	.353	-60.5817
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-182.08583 [*]	11.93308	.000	-231.5175	-152.6541
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	-11.83250	11.04788	.929	-48.3392	24.6742
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-249.35250 [*]	11.93308	.000	-288.7842	-209.9208
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	-95.81917 [*]	11.93308	.000	-135.2509	-56.3875
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	-12.43250	11.04788	.912	-48.9392	24.0742
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	Kelompok 1	-12.24250	11.04788	.917	-48.7492
Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL		-180.25333 [*]	11.93308	.000	-219.6850	-140.8216
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		11.83250	11.04788	.929	-24.6742	48.3392
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		-237.52000 [*]	11.93308	.000	-276.9517	-198.0883
Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL		-83.98667 [*]	11.93308	.000	-123.4184	-44.5550
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		-6.00000	11.04788	1.000	-37.1067	35.9087
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		Kelompok 1	225.27750 [*]	11.93308	.000	185.8458
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	57.26667 [*]	12.75699	.004	15.1124	99.4209
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	249.35250 [*]	11.93308	.000	209.9208	288.7842
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	237.52000 [*]	11.93308	.000	198.0883	276.9517
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	153.53333 [*]	12.75699	.000	111.3791	195.6876
	Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL	236.92000 [*]	11.93308	.000	197.4883	276.3517
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	Kelompok 1	71.74417 [*]	11.93308	.000	32.3125
Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL		-98.26667 [*]	12.75699	.000	-138.4209	-54.1124
Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL		95.81917 [*]	11.93308	.000	56.3875	135.2509
Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL		83.98667 [*]	11.93308	.000	44.5550	123.4184
Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL		-153.53333 [*]	12.75699	.000	-195.6876	-111.3791
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		83.38667 [*]	11.93308	.000	43.9550	122.8184
Kelompok 7 + Genistein 2x1.6 mL		Kelompok 1	-11.64250	11.04788	.934	-48.1492
	Kelompok 2 + Susu Kedelai 0.8 mL	-179.65333 [*]	11.93308	.000	-219.0850	-140.2216
	Kelompok 3 + Susu Kedelai 1.6 mL	12.43250	11.04788	.912	-24.0742	48.9382
	Kelompok 4 + Susu Kedelai 2x1.6 mL	6.00000	11.04788	1.000	-35.9087	37.1067
	Kelompok 5 + Genistein 0.8 mL	-236.92000 [*]	11.93308	.000	-276.3517	-197.4883
	Kelompok 6 + Genistein 1.6 mL	-83.38667 [*]	11.93308	.000	-122.8184	-43.9550

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 41. Hasil Uji Reliabilitas Kadar TSH

Cronbach's Alpha ^a	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items ^a	N of Items
.884	-1.047	7

Lampiran 42. Hasil Uji Reliabilitas Kadar TPO

Cronbach's Alpha ^a	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items ^a	N of Items
.939	-6.535	7

Lampiran 43. Hasil Uji Reliabilitas Kadar T3

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
.755	.407	7

Lampiran 44. Hasil Uji Reliabilitas Kadar T4

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
.462	.622	7