



FITOESTROGEN UMBI BENGKUANG (*Pachyrhizus erosus*): SEBUAH KAJIAN HASIL PENELITIAN DALAM PERSPEKTIF HOLISTIK

Cicilia Novi Primiani, Umie Lestari, Mohammad Amin, Sutiman B. Sumitro
Pendidikan Biologi FPMIPA IKIP PGRI Madiun
Jl. Setia Budi 85 Madiun
E-mail: primianibiomipa@yahoo.co.id

Abstrak

Penggunaan bahan alam dalam bidang kesehatan selalu dilakukan dengan proses isolasi komponen aktifnya, dilanjutkan pembahasan mekanismenya pada organ target. Pembahasan hanya bersifat parsial pada salah satu komponen aktifnya, tanpa melihat mekanisme sinergis antar senyawa. Konsep kembali ke alam tidak dipandang sebagai sebuah konsep secara holistik. Umbi bengkuang merupakan salah satu tumbuhan yang sering disebut fitoestrogen, karena adanya kandungan senyawa kimia mirip 17β estradiol, serta mempunyai aktivitas mirip hormon estrogen. Tujuan penelitian adalah melakukan pengujian keterlibatan kompleksitas senyawa umbi bengkuang dalam sistem biologi tubuh melalui uji preklinis terhadap hewan coba. Penelitian menggunakan pendekatan eksperimen, perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang dan senyawa daidzein murni pada 24 ekor tikus putih jenis Sprague Dawley umur 5 bulan selama 24 hari. Pengambilan darah dilakukan pada hari pertama (jam ke-8, 16, dan 24 setelah perlakuan). Pengujian kadar daidzein darah dianalisis dengan metode HPLC. Hasil penelitian menunjukkan retensi daidzein umbi bengkuang dalam serum darah pada 3 fraksi masing-masing adalah 1459,747 pg, 2120,353 pg, dan 2802,746 pg. Kesimpulan menunjukkan retensi daidzein di darah lebih rendah pada pemberian air perasan umbi bengkuang, tetapi retensi di organ sama. Umbi bengkuang diduga berpotensi sebagai estrogen alami.

Kata kunci: bengkuang, fitoestrogen, holistik

Pendahuluan

Keanekaragaman hayati tumbuhan yang tumbuh di Indonesia sangat berpotensi sebagai tumbuhan obat. Tradisi pengobatan dengan memanfaatkan tumbuhan obat yang diambil dari alam, lebih dikenal dengan istilah jamu. Penggunaan jamu telah dilakukan oleh masyarakat di seluruh wilayah Nusantara sejak jaman dulu, penggunaannya semula dilakukan berdasarkan informasi secara turun temurun, dan terbukti dapat memberikan kasiat yang efektif.

Pemanfaatan tumbuhan obat yang dilakukan oleh masyarakat dengan menggunakan salah satu atau keseluruhan bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, dan buah) atau memadukan antar bagian tumbuhan satu dengan yang lain. Penggunaan tumbuhan obat dilakukan dengan sangat

mudah dan sederhana, misalnya dengan direbus, ditumbuk kemudian diperas, diparut, dan diiris-iris. Cara-cara penggunaan tumbuhan sebagai obat merupakan suatu cara untuk memperoleh ekstrak kasar, sehingga keseluruhan bagian itulah yang dikonsumsi dengan cara yang sangat mudah.

Tumbuhan obat terdiri dari senyawa-senyawa yang sangat kompleks, yang bekerja saling berinteraksi dan bersinergi, memberikan efek fisiologis yang sangat efektif (Fugh-Berman, 2000; Spinella, 2002 dan Xiang, *et al.*, 2011), kemanfaatannya bagi tubuh dapat memberikan efek optimal (Lan dan Jia, 2010). Kompleksitas senyawa tumbuhan obat serta mekanisme kerjanya yang saling bersinergi, memberikan nilai potensi sangat baik bagi sistem tubuh, oleh karena itu penggunaan



tumbuhan obat lebih aman dan efektif daripada obat sintesis.

Perkembangan pengobatan modern dan industri farmasi saat ini telah merubah konsep berpikir masyarakat terhadap tumbuhan obat. Masyarakat beranggapan bahwa penggunaan tumbuhan obat merupakan pengobatan kuno, tidak memberikan respons yang cepat, tidak terstandar serta tidak ilmiah. Perkembangan teknologi pengobatan modern menjadi pilihan utama masyarakat, sehingga penggunaan tumbuhan obat sampai saat ini semakin ditinggalkan. Penelitian terhadap bahan kimia sintesis untuk pengobatan semakin berkembang pesat. Pengobatan menggunakan bahan kimia sintesis menjadi pilihan masyarakat modern, karena bahan kimia sintesis mempercepat penyembuhan serta mempunyai takaran jelas.

Eksplorasi terhadap berbagai tumbuhan obat dilakukan untuk menjadikan tumbuhan obat mempunyai nilai ilmiah. Berbagai penelitian diarahkan terhadap tumbuhan obat dengan fokus pada komponen senyawa aktif yang terdapat di dalamnya. Industri obat tradisional yang bahan bakunya dengan memanfaatkan tumbuhan obat telah beralih menjadi industri obat tradisional yang terstandar. Penelitian tumbuhan obat telah beralih dan diarahkan dengan melakukan proses isolasi dan identifikasi senyawa aktif, memisahkannya, serta menganalisisnya berdasarkan standar kefarmasian. Orientasi bisnis menjadi tolok ukur yang pada akhirnya dijadikan sebagai standar keilmiah.

Para peneliti tumbuhan obat menyajikan berbagai data senyawa aktif tumbuhan obat serta menjelaskan mekanisme kerjanya dalam tubuh. Hasil-hasil penelitian dengan melakukan fraksi dan isolasi sampai akhirnya ditetapkan dosis yang tepat telah berhasil dipublikasikan kepada masyarakat secara terus menerus. Masyarakat sangat memercayai nilai keilmiah tumbuhan obat dan meyakini serta menerapkannya sebagai suatu bentuk apresiasi terhadap tumbuhan

obat. Penyebarluasan hasil-hasil penelitian tumbuhan obat telah mengalami pergeseran dari konsep utama terhadap tumbuhan obat itu sendiri. Pemikiran reduksionistik menjadi bagian pokok dalam pembahasan kasiat tumbuhan obat.

Pengembangan konsep pemikiran secara holistik terhadap tumbuhan obat memerlukan keterpaduan berbagai aktivitas senyawa yang menyebabkan tumbuhan obat mempunyai potensi. Umi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) merupakan salah satu tumbuhan yang sampai saat ini dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pangan, sebagai salah satu contoh yang dapat dikembangkan dalam pembahasan potensinya dalam perspektif holistik. Pemanfaatan umbi bengkuang masih sebatas konsumsi buah segar sebagai rujak, salad, dan asinan. Industri kosmetika telah memanfaatkan tepung bengkuang sebagai pemutih kulit, pelembab, dan bedak. Pemanfaatan bengkuang sebagai hormon alami berdasarkan uji preklinis telah dilakukan penelitian, tetapi masih perlu dikembangkan sehingga dapat digunakan oleh masyarakat khususnya wanita sebagai salah satu estrogen alami.

Bengkuang merupakan salah satu tumbuhan famili Fabaceae, seperti halnya beberapa tumbuhan kacang-kacangan (kedelai, buncis, kacang tanah, kacang koro), yang mempunyai senyawa metabolit sekunder isoflavon, lignan, stilbens, dan kumestans (Umland *et al.*, 2000; Pilsakova *et al.*, 2010), dengan adanya struktur cincin aromatik mirip hormon estrogen. Hasil penelitian Primiani (2013^a) kandungan daidzein dan genistein umbi bengkuang dengan analisis metode *high performance liquid chromatography* (HPLC) menunjukkan kadar masing-masing sebesar 108,831 mg/100 dan 163,079 mg/100. Daidzein dan genistein merupakan senyawa kelompok isoflavon yang sering disebut sebagai fitoestrogen karena mempunyai struktur kimia mirip 17β estradiol.



Senyawa kimia kelompok fitoestrogen merupakan komponen kimia alam dengan struktur kimia mirip 17β estradiol sebagai hormon estrogen (Setchell, 1998; Wanibuchi, *et al.*, 2003; Milligan dan Kalita, 2010). Fitoestrogen mempunyai afinitas ikatan dengan reseptor estrogen serta memiliki aktivitas mirip estrogen (Setchell, 1998; Fujicka *et al.*, 2004; Jagla, 2010; Milligan dan Kalita, 2010; Orhan, 2011) yang terdapat di beberapa organ tubuh yaitu uterus, ovarium, kelenjar mammae, tulang, hipotalamus, kelenjar pituitaria, timus, kolon, sel Leydig, prostat, dan epididimis (Kuiper, 1998).

Fitoestrogen walaupun bukan hormon namun karena strukturnya mirip dengan estradiol dapat pula menduduki reseptor estrogen dan mampu menimbulkan efek layaknya estrogen endogenous sendiri (Harrison, *et al.*, 1999; Glazier dan Bowman, 2001). Pemberian parutan umbi bengkuang dosis 0,3 g/kg, 0,6 g/kg, dan 0,9 g/kg mencit premenopause menyebabkan proliferasi lapisan endometrium dan miometrium uterus (Primiani, 2013^b) Tujuan penelitian adalah untuk melakukan pengujian keterlibatan kompleksitas senyawa umbi bengkuang dalam sistem biologi tubuh melalui uji preklinis terhadap hewan coba.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan: seperangkat kandang metabolik untuk tikus, seperangkat kandang pemeliharaan tikus dengan *easy flow* tipe Boxunef, timbangan analitik, labu takar, penumbuk porselen, spatula, pipet ukur, oven, erlenmeyer, corong, stirer, sentrifuse, seperangkat alat HPLC Shimadzu spesifikasi C18 detektor DAD, evaporator, filter 0,45 μ m, *Disposable Bond Elut C₈ cartridges* (100 mg/1 ml), *centrifugation tubegrading system* 1,5 ml, parut kelapa, alat sonde (*gavage tube*), beker glas, pipet ependorf, timbangan digital HM-200, alat suntik/*syringe* 1 ml dengan

disposable needle ukuran 3 ml (G23), inkubator.

Bahan yang digunakan: tikus putih betina Sprague Dawley umur 5 bulan, umbi bengkuang diperoleh dari Kecamatan Takeran Kabupaten Madiun, daidzein 25 mg dibeli dari Sigma Jepang, serum, pakan mencit jenis *pellet* susu A, sekam, sebagai alas, aquadestilata, politetrafluoroetilen, asetonitril, HCl, metanol, asam asetat glasial, sodium asetat 0,1 mol/L dan kertas saring.

Hewan percobaan

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

Pemeliharaan hewan coba dan pembuatan bahan uji

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

Perlakuan hewan coba dan pengambilan spesimen

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



pada kandang pemeliharaan pada hari ke-2 sampai dengan hari ke-24.

Preparasi sampel serum

Sampel serum diambil sebanyak 50 µl ditempatkan dalam erlenmeyer tertutup, ditambahkan 10 ml asetonitril, 2 ml HCl 0,1 M dan 5 ml aquades, diaduk menggunakan stirer selama 2 jam pada suhu ruang. Larutan kemudian disaring dengan kertas saring untuk diambil filtratnya. Filtrat dievaporasi menggunakan rotari evaporator suhu kurang dari 30° C. Residu hasil evaporasi dilarutkan dengan 10 ml metanol grade HPLC 85% dalam air, kemudian disaring dengan filter 0,45 µm politetrafluoroetilen untuk dianalisis dengan HPLC.

Penentuan kadar daidzein serum

Penentuan kadar daidzein umbi bengkuang dan serum darah menggunakan HPLC Shimadzu dengan spesifikasi C18. Larutan fase gerak dengan menggunakan asam

asetat glasial 0,1% dalam air dan 0,1% asam asetat glasial dalam asetonitril. Sebanyak 20 µl sampel diinjeksi. Kecepatan alir larutan 1 ml/menit. Detektor menggunakan photodiode pada λ 255-300 nm, temperatur kolom 25°C, flow rate 0,8 ml/menit, wavelength 255 nm, running time 40 menit, post running time 15 menit.

Analisis Data

Pengujian kadar daidzein serum darah tiap fraksi (jam ke-8, 16, dan 24) setelah perlakuan dengan metode HPLC serta profil serum darah dengan metode GC-MS penghitungan retensi daidzein dalam serum dan organ dianalisis secara diskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Analisis data retensi daidzein pada serum dan organ tikus putih betina setelah perlakuan daidzein dan air perasan umbi bengkuang fraksi 1,2, dan 3 terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis retensi daidzein dalam serum dan organ perlakuan senyawa daidzein dan air perasan umbi bengkuang fraksi 1, 2, dan 3

| Bahan | Fraksi ke | Retensi daidzein total (pg/ekor) | Retensi total (%) | Retensi daidzein di serum (pg/ekor) | Retensi daidzein di organ (pg/ekor) |
|-------|-----------|----------------------------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| D | 1 | 302820821,3 | 99,9999911 | 1988,717 | 302818832,5 |
| | 2 | 302820819,8 | 99,9999966 | 3015,919 | 302817803,6 |
| | 3 | 302820819,1 | 99,9999964 | 3839,392 | 302816979,9 |
| | Rata-rata | 302820820,1 | 99,9999947 | 2948,009 | 302817872,0 |
| B | 1 | 302820824,4 | 99,9999981 | 1459,747 | 302819364,7 |
| | 2 | 302820822,7 | 99,9999975 | 2120,353 | 302818702,3 |
| | 3 | 302820822,0 | 99,9999973 | 2802,746 | 302818019,3 |
| | Rata-rata | 302820823,0 | 99,9999976 | 2127,615 | 302818695,4 |

Ket: D: Daidzein; B: Air perasan umbi bengkuang

Genistein dan daidzein merupakan senyawa kelompok isoflavon dengan struktur kimia mirip hormon estrogen, sehingga aktivitas biologisnya mirip estrogen. Retensi daidzein dalam serum tikus putih perlakuan air perasan umbi bengkuang lebih rendah pada perlakuan air perasan umbi bengkuang daripada daidzein murni (Tabel 1). Retensi daidzein pada organ tikus putih perlakuan air perasan umbi bengkuang dan perlakuan

daidzein murni memberikan hasil hampir sama (Tabel 1).

Daidzein mampu berikatan dengan reseptor estrogen dengan afinitas sekitar 1/500 sampai 1/1000 yang dapat berkompetisi dengan estrogen endogen (Verdeal *et al.*, 1980) meskipun ikatannya dengan reseptor estrogen lemah tetapi aktivitasnya cukup besar dalam menimbulkan respon (Knight, dan Eden, 1995).



Proses pencernaan atau konjugasi intensif daidzein dalam hati dan bentuk sirkulasi enterohepatik dalam bentuk konjugat oleh glukoronidase dan/atau sulfatase bakteri dalam usus sehingga menghasilkan daidzein dalam feses (Bayer *et al.*, 2001) oleh karena itu kemungkinan terjadi biotransformasi, ekskresi cepat, dan absorpsi tidak efisien meskipun sejumlah kecil daidzein dapat digunakan untuk ikatan reseptor. Tabel 1 menunjukkan bahwa retensi daidzein total 99%, retensi daidzein dalam organ memberikan hasil hampir sama dengan retensi daidzein total tiap ekor tikus perlakuan daidzein murni maupun air perasan umbi bengkuang, meskipun potensi daidzein murni dan air perasan umbi bengkuang pada organ target memberikan hasil berbeda. Metabolisme daidzein lambat diabsorpsi tetapi lebih efisien dari saluran pencernaan (Xu, *et al.*, 1994; Lu, *et al.*, 1996^b).

Pemberian parutan umbi bengkuang menyebabkan terjadinya proliferasi lapisan endometrium, kelenjar uterina dan miometrium mencit premenopause (Primiani, 2013^b). Pemberian ekstrak umbi bengkuang dosis 400 mg/kg dan 800 mg/kg selama 4 minggu pada tikus ovariektomi dapat mencegah terjadinya kerapuhan tulang (Nurrochmad *et al.*, 2010). Pemberian isoflavon dapat meningkatkan kadar estradiol tikus ovariektomi (Kawakita, *et al.*, 2009). Pemberian isoflavon dari susu kedelai 76 mg/hari dapat mencegah kerapuhan tulang wanita premenopause (Ishimi, 2010). Beberapa hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa daidzein sebagai salah satu senyawa isoflavon yang terdapat dalam umbi bengkuang sebagai bahan alam mempunyai potensi sebagai estrogen alami.

Senyawa kimia serum darah tikus putih dengan perlakuan air perasan umbi bengkuang yang terdeteksi menunjukkan kadar lebih rendah daripada pemberian daidzein murni. Diduga senyawa-senyawa yang terdapat dalam air perasan umbi bengkuang saling berinteraksi dan berkompetisi. Interaksi dan

kompetisi terjadi pada senyawa-senyawa isoflavon yang mempunyai struktur kimia mirip estrogen dengan saling menduduki reseptor estrogen dalam sistem biologis tubuh, sehingga dapat bekerja optimal dalam memberikan efek biologis.

Proses analisis senyawa kimia bahan alam sebagai obat herbal tidak mudah dilakukan karena sangat banyaknya senyawa kompleks, oleh karena itu pembahasan dilakukan dengan pendekatan terhadap senyawa multikomponen (Zeng *et al.*, 2008). Bahan alam sebagai obat herbal tidak seperti bahan sintetik, karena biasanya bahan alam merupakan campuran beberapa komponen, oleh karena itu kajian dititikberatkan pada kompleksitas konstituen aktif (Na *et al.*, 2011).

Strategi analisis bahan alam sebagai obat herbal sebaiknya dilakukan dengan pendekatan holistik, meskipun tidak menutup kemungkinan menggunakan teknik-teknik modern. Teknologi komputasi dapat dilakukan dengan mengemas menggunakan metode evaluasi secara integral menggunakan teknologi aplikasi misalnya HPLC, GCMS, dan HAIEMS (Li *et al.*, 2008).

Simpulan

Bengkuang mengandung kadar daidzein dengan struktur kimia mirip estrogen sehingga dapat digunakan sebagai estrogen alami. Retensi daidzein dalam tubuh cukup tinggi dan memberikan retensi dalam organ secara optimal, sehingga mempunyai potensi baik pada organ. Adanya berbagai senyawa yang terdapat dalam umbi bengkuang memungkinkan terjadinya interaksi secara harmoni sehingga memberikan potensi optimal pada organ.

Daftar Pustaka

- Bayer, T., Colnot, T., & Dekant, W. 2001. Disposition and Biotransformation of the Estrogenic Isoflavone Daidzein in Rats. *Toxicological Sciences*. 62:205-211.



- Fujioka, M., Uehara, M., Wu, J., Adlercreutz, H., Suzuki, K., Kanazawa, K., Takeda, K., Yamada, K., & Ishimi, Y. 2004. Equol, a Metabolite of Daidzein, Inhibits Bone Loss in Ovariectomized Mice. *J.Nutr.* 134: 2623-2627.
- Fugh-Berman, A. 2000. Herb-drug Interaction. *Lancet.* 355:134-138.
- Glazier, M.G., & M.A. Bowman, 2001. A Review of the Evidence for the Use of Phytoestrogens as Replacement for Traditional Estrogen Replacement Therapy. *Arch Intern Med.* 161:1161-1172.
- Harrison, R.M., Phillippi, P.P., Swan, K.F., & Henson, M.C. 1999. Effect of genistein on steroid hormone production in the pregnant rhesus monkey," *Society for Experimental Biology and Medicine*, vol. 222.
- Ishimi, Y. 2010. Dietary Equol and Bone Metabolism in Postmenopausal Japanese Women and Osteoporotic Mice. *J.Nutr.* 1373S-1376S.
- Jagla, F., Riećansky, L., & Pilsakova, L. 2010. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. *Physiol.Res.* 59:651-664.
- Kawakita, S., Marotta, F., Naito, Y., Gumaste, U., Jain, S., Tsuchiya, J., & Minelli, E. 2009. Effect of An Isoflavones Containing Red Clover Preparation and Alkaline Supplementation on Bone Metabolism in Ovariectomized Rats. *Clin Interv Aging*, 4:91-100.
- Knight, D.C., & Eden, J.A. 1995. Phytoestrogens - A Short Review. *Maturitas*, 22:167-175
- Kuiper, G.G.J.M., Lemmen, J.G., Carlsson, B., Corton, J.C., Safe, S.H., Van der Saag, P., Van der Burg, B., & Gustafsson, B.J. 1998. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β . *Endocrinology*.139(10):4252-4263.
- Lan, K., & Jia, W. 2010. An Integrated Metabolomics and Pharmacokinetics Strategy for Multicomponent Drugs Evaluation. *Current Drug Metabolism.* 11:105-114
- Li, P., Qi, L.W., Liu, E.H., Zhou, J.L., & Wen, X.D. 2008. Analysis of Chinese Herbal Medicines with Holistic Approaches and Integrated Evaluation Models. *Trends in Analytical Chemistr.* 27(1):66-77.
- Lu, L.J., Lin, S.N., Grady, J.J., Nagamani, M., & Anderson, K.E. 1996. Altered Kinetics and Extent of Urinary Daidzein and Genistein Excretion in Women During Chronic Soya Exposure. *Nutr.Cancer.* 26:289-302.
- Milligan, S.R. & Kalita, J.C. 2010. In Vitro Estrogenic Potency of Phytoestrogen-Glycosides and Some Plant Flavanoids. *Indian J.Sci.Technol.* 3(12):1142-1147.
- Na, D.H., Ji, H.Y., Park, E.J., Kim, M.S., Liu, K.H., & Lee, H.S. 2011. Evaluation of Metabolism of Mediated Herb Drug Interactives. *Arch. Pharm. Res.* 34(11):1829-1842.
- Nurrochmad, A., F. Leviana, F., Wulancarsari, C.G., & Lukitaningsih, "Phytoestrogens of *Pachyrhizus erosus* Prevent Bone Loss in An Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *J. Phytomed.* 2:363-372.
- Orhan, L.E., Tosun, F., Tamer, U., Duran, A., Alan, B., & Kok, A.F. 2011. Quantification of Genistein and Daidzein in Two Endemic Genista Species and Their Antioxidant Activity. *J. Serb.Chem. Soc.* 76(1):35-42.
- Pilsakova, L., Riećansky, I., & Jagla, F. 2010. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. *Physiol.Res.* (Online), 59:651-664, www.biomed.cas.cz, diakses 16 Juli 2013.
- Primiani, C.N. 2013*. Dinamika Senyawa Daidzein Umbi Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) dalam Darah Serta Potensinya pada Tikus Betina. Prosiding Seminar Nasional Biologi, Lingkungan dan



- Pembelajarannya X. Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta. 6 Juli 2013. ISBN 978-602-8580-94-6. Vol 1. Hal. 502-510.
- Primiani, C.N., 2013^b. Potensi Umbi Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) Umland, E.M., Cauffield, J., Kirk, J., & Thomason, T.E. 2000. Phytoestrogens as Therapeutic Alternatives to Traditional Hormone Replacement in Postmenopausal Women. *Pharmacotherapy*.20(8):981-990.
- Setchell, K. 1998. Phytoestrogens: The Biochemistry, Physiology, and Implications for Human Health of Soy Isoflavones. *Am.J.Clin.Nur.* 68(s):1333s-13346s.
- Spinella, M. 2002. The Importance of Pharmacological Synergy in Psychoactive Herbal Medicines. *Altern Med. Rev.* (Online) 7(2):130-137. (<http://www.herbal-synergy.pdf>), diakses 4 November 2012.
- Verdeal, K., Brown, R.R., Richardson, T. & Ryan, D.S. 1980. Affinity of Phytoestrogens for Estradiol Binding Proteins and Effect of Coumestrol on Growth of 7.12-Dimethylbenz (alpha) Anthracene Induced Rat Mammary Tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* 64:285-290.
- Terhadap Histologi Ovarium dan Uterus Mencit (*Mus musculus*) Premenopause. dalam Prosiding Seminar Nasional IPA IV. Universitas Negeri Semarang. 27 April 2013. ISBN 978-602-99075-3. Vol. 2. Hal. 579-584.
- Wanibuechi, H., Kang, J.S., & Fukushima, S. 2003. Toxicity vs Beneficial Effects of Phytoestrogens. *Pure Appl.Chem.* 75(11-12):2047-2053.
- Xiang, C., Qiao, X., Wang, Q., Li, R., Miao, W., Guo, D., & Ye, M. 2011. From Single Compounds to Herbal Extract: A Synergy to Systematically Characterize the Metabolites of Licorice in Rats. *Drug. Met.and Deposition.* (Online), 39(9):1597-1608, (<http://dmd.aspetjournals.org>), diakses 17 November 2012.
- Xu, X., Wang, H.J., Murphy, P.A., Cook, L., & Hendrich, S. 1994. Daidzein is a More Bioavailable Soy milk Isoflavone Than is Genistein in Adult Women. *J.Nutr.* 124:825-832.
- Zeng, Z., Chau, F., Chan, H., Cheung, C., Lau, T., Wei, S., Mok, D.K., Chan, C & Liang, Y. 2008. Recent Advances in the Compound Oriented and Pattern Oriented Approaches to the Quality Control of Herbal Medicine. *Chinese Med.* 3(9):1-7 2008.