



Profil Senyawa Daidzein Umbi Bengkuang Serta Potensinya pada Tikus Putih Betina

Cicilia Novi Primiani¹, Mohammad Amin¹, Sutiman B. Sumitro², Umie Lestari⁴

¹FMIPA IKIP PGRI Madian, ²FMIPA Universitas Negeri Malang,

³FMIPA Universitas Brawijaya

e-mail: primianibiomipa@yahoo.co.id

Abstrak - Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dinamika senyawa berbasis bahan aktif daidzein dalam umbi bengkuang serta potensinya pada uterus dan tulang. Penelitian menggunakan pendekatan eksperimen pola Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang dan senyawa sintesis daidzein pada 24 ekor tikus putih jenis Sprague Dawley umur 5 bulan, bobot badan 170-220 gram, selama 24 hari. Hewan coba dikelompokkan menjadi 3 kelompok perlakuan kontrol pemberian senyawa sintesis daidzein, dan pemberian air perasan umbi bengkuang, masing-masing hewan coba dilakukan pengulangan 8 kali. Takaran daidzein diberikan berdasarkan kadar daidzein pada 1,5 ml perasan umbi bengkuang. Pengambilan darah dilakukan pada 3 fraksi (jam ke-8, 16, dan 24 setelah perlakuan). Pembedahan dan pengambilan organ uterus dan tulang dilakukan hari ke-25, pembuatan preparat jaringan dengan pewarnaan HE. Hasil analisis HPLC kadar daidzein umbi bengkuang 108,831 mg/100 g, kadar daidzein dalam serum darah pada 3 fraksi masing-masing adalah 96138,371 pg/1000 g, 130413,443 pg/1000 g dan 165991,504 pg/1000 g. Retensi daidzein umbi bengkuang dalam organ pada 3 fraksi masing-masing adalah 302819364,7 pg/ekor, 302819702,3 pg/ekor, dan 302818019,3 pg/ekor. Uji Oneway Anova jaringan miometrium dan osteoblas nilai $P < 0,05$. Kesimpulan menunjukkan bahwa umbi bengkuang mengandung senyawa daidzein mirip estrogen yang berpengaruh terhadap miometrium, tulang, dan serum.

Kata kunci: bengkuang, daidzein, fitoestrogen, miometrium, osteoblas

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tanaman di Indonesia mempunyai potensi sebagai tanaman obat. Kompleksitas senyawa tanaman obat memberikan potensi lebih efektif dan efisien. Penggunaan berbagai tanaman berkasiat obat di Indonesia mempunyai nilai tersendiri dibandingkan obat sintetik, selain lebih alami, harganya lebih murah, bahannya mudah tersedia, dapat dilakukan dengan cara mudah dan tidak memberikan efek samping (Skinner dan Rangasami, 2002). Strategi analisis bahan alam sebagai tanaman obat dilakukan dengan pendekatan holistik menggunakan metode evaluasi secara integral (Li et al., 2008). Isolasi senyawa tanaman obat merupakan proses mereduksi senyawa multi komponen sehingga memperlemah potensi tanaman obat.

Fitoestrogen merupakan tanaman dengan struktur kimia mirip 17 β -estradiol, sehingga sering disebut sebagai *estrogen like molecules*. Senyawa mirip estrogen adalah: 1) isoflavon (genistein, daidzein, biochanin A, formonetin), 2) lignan (matairesinol, secoisolaricresinol diglucoside), 3) coumestans (coumestrol, 4-methoxycoumestrol), dan 4) stilbens (resveratrol) (Pilsakova et al., 2010). Struktur isoflavone dapat berikatan dengan reseptor estrogen yaitu pada ER α dan ER β (Mense et al., 2008; Nynca et al., 2007). Isoflavon daidzein dan genistein merupakan kelompok terbesar yang ada pada tanaman dalam bentuk glikosida berikatan dengan glukosa sebagai daidzin dan genistin (Kim et al., 2008).

Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) merupakan salah satu kelompok fitoestrogen, dari famili Fabaceae mempunyai struktur kimia mirip hormon estrogen, kemampuannya berikatan dengan reseptor estrogen (Glazier dan Bowman, 2001; Ren et al., 2001; Nynca et al., 2007; Mense et al., 2008), yang dapat bertindak mereduksi hormon estrogen (Setchell, 1998). Hasil analisis metode HPLC umbi bengkuang mengandung kadar daidzein sebesar 108,831 mg/100 mg (Primiani, 2013^b) mempunyai struktur dengan dua gugus hidroksil yang penting dalam aktivitas estrogenik (Adams, 1995) yang mirip 17 β -estradiol (Mazur, 1998; Burton 2002; Wanibuchi, 2003).

Isolasi dan identifikasi struktur kimia yang dilakukan oleh Lukitaningsih (2009) diketahui terdapat 4 senyawa tergolong fitoestrogen dalam umbi bengkuang yaitu daidzein, daidzein-7-O- β -glukopiranosida, 5-hydroxydaidzein-7-O- β -glucopyranose, dan (8,9)-furanlypterocarpan-3-ol. Hasil analisis GC-MS serum darah tikus putih betina dengan perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang menunjukkan terdapat 58 senyawa, sedangkan perlakuan daidzein murni terdapat 54 senyawa (Primiani, 2013^c). Sejumlah senyawa dalam umbi bengkuang diduga saling berinteraksi sehingga dapat bekerja optimal dan memberikan efek biologis lebih poten pemberian air perasan umbi bengkuang daripada daidzein murni.

Pemberian parutan umbi bengkuang pada mencit (*Mus musculus*) premenopause dosis 0,3 g/kg, 0,6 g/kg, dan 0,9 g/kg menyebabkan proliferasi endometrium uterus, kelenjar uterina, dan pematangan folikel ovarium

mencit pada masa premenopause serta menyebabkan proliferasi lapisan endometrium dan miometrium uterus tikus putih setelah diberi air perasan umbi bengkuang (Primiani, 2013⁶).

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 dalam umbi bengkuang sebagai bahan alam mempunyai potensi sebagai estrogen alami.

Sebagian besar isoflavon dalam tanaman sebagai konjugat glikosida yang secara biologis inaktif, selanjutnya mengalami metabolisme oleh mikroflora usus setelah dikonsumsi dan dihidrolisis menjadi bentuk aktif aglikon (Knight dan Eden, 1996; Tsuchihashi *et al.*, 2008). Isoflavon akan mengalami absorpsi dan konjugasi menjadi asam glukuronat dan sulfat dalam hati selanjutnya diekskresikan dalam urin (Lundh, 1995; Knight dan Eden, 1996). Daidzein diduga mengalami biotransformasi dan ekskresi dengan cepat (Bayer *et al.*, 2001), ekskresi terjadi dalam urin atau cairan empedu (Pisakova *et al.*, 2010). Penelitian Watanabe *et al.*, (1998) dan Rafii *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa mikroflora usus memetabolisme dengan cepat daidzein yang dapat dideteksi dengan HPLC dapat berefek terhadap farmakologis manusia.

BAHAN DAN METODE

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian menggunakan pendekatan eksperimen melalui observasi laboratorik dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang dan senyawa sintesis daidzein dengan pengulangan 8 kali.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan: seperangkat kandang metabolik untuk tikus, seperangkat kandang pemeliharaan tikus dengan *easy flow* tipe Boxunef, Seperangkat alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) sistem LC-6A dengan spesifikasi C18, detektor DAD, *Disposable Bond Elut C₈ cartridges* (100 mg/1 ml), *centrifugation tubegrading system* 1,5 ml, *rotary evaporator*, parut kelapa, alat sonde (*gavage tube*), labu takar, beaker gelas, pipet endorif, timbangan digital HM-200, timbangan *triple beam balance ohaus 700 series*, alat suntik/*syringe* 1 ml dengan *disposable needle* ukuran 3 ml (G23), inkubator, mikroskop cahaya, kamera optilab, mikrotom PR-50, peralatan bedah, papan bedah, kaca benda dan kaca penutup, *beaker glas*, lampu spiritus, kubus pencetak, pipet tetes, dan *couple*.

Bahan yang digunakan: tikus putih betina Sprague Dawley umur 5 bulan, umbi bengkuang diperoleh dari Kecamatan Takoran Kabupaten Madiun, daidzein 25 mg.

jaringan uterus, serum, pakan mencit jenis *pelled* susu A, sekam, aquadestilata, parafin, NaCl fisiologis 0,9%, larutan fiksatif PFA, alkohol 50%, 70%, alkohol absolut, xylol murni, campuran xylol-alkohol dengan perbandingan xylol:alkohol masing-masing 1:3, 2:2, dan 3:1, larutan Li_2CO_3 , HCl 1%, PBS, eosin, formalin 3% dan perekat *haupt*, acetonitrile, HCl 0,1 M, kertas saring *whatmann* no 42, metanol.

Hewan percobaan

Hewan coba tikus putih betina Sprague Dawley umur 5 bulan diperoleh dari UHP 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 pembedahan bahan uji

Aklimatisasi terhadap hewan coba dilakukan selama 14 hari. Hewan coba ditempatkan dalam kandang metabolik 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 ($\pm 27^\circ \text{C}$) 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, pengambilan spesimen

Perlakuan terhadap hewan coba dengan cara induksi langsung ke dalam lambung dengan menggunakan sonde (*gavage tube*) satu kali sehari selama 24 hari. Hewan coba ditempatkan dalam kandang metabolik pada hari pertama perlakuan, pada jam ke-8, 16, dan 24 setelah perlakuan dilakukan pengambilan darah melalui vena ekor. Hewan coba dipindahkan ke kandang pemeliharaan pada hari ke-2 sampai dengan hari ke-24. Hewan coba dislokasi kemudian dibedah dan dilakukan pengambilan uterus dan femur pada hari ke-25.

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. Penentuan kadar daidzein berdasar pada Murphy (1980) dan Idrige (1987).

Pembuatan preparat jaringan miometrium uterus dan femur

Pembuatan preparat histologis uterus dengan pewarnaan HE yang meliputi tahap fiksasi, tahap dehidrasi, *cleaning*, infiltrasi, *embedding*, pengirisan dan pewarnaan untuk menentukan perubahan struktur jaringan miometrium uterus dan femur.

Analisis Data

Pengujian kadar daidzein serum darah tiap fraksi (jam ke-8, 16, dan 24) dengan metode HPLC dan dianalisis

diskriptif. Perubahan struktur jaringan miometrium uterus dan femur dianalisis menggunakan Oneway Anova SPSS 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar daidzein dalam serum darah tikus putih pada 3 fraksi waktu perlakuan kontrol, pemberian air perasan umbi bengkuang dan pemberian daidzein sintetis terdapat pada (Tabel 1). Analisis retensi daidzein dalam organ tikus putih setelah perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang dan daidzein sintetis pada tiga fraksi waktu terdapat pada Tabel 2.

Hasil analisis HPLC kadar daidzein serum darah pada 3 fraksi waktu yang berbeda menunjukkan bahwa perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang memberikan kadar lebih tinggi daripada perlakuan pemberian daidzein sintetis (Tabel 1), padahal retensi daidzein pada perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang dan pemberian daidzein sintetis tidak menunjukkan perbedaan (Tabel 2).

Daidzein mengalami metabolisme menjadi equol dan sedikit estrogenik O-desmetilangolensin (ODMA) dihydro daidzein (Chang dan Nair, 1993; Rowland *et al.*, 2003; Fujioka *et al.*, 2004; Rafii *et al.*, 2007; Jagla *et al.*, 2010) dan selanjutnya bertindak sebagai aktivitas estrogenik (Kng dan Eden, 1996). Potensi biologis terhadap organ dapat dianalisis setelah pembuatan preparat jaringan dengan pewarnaan HE terdapat pada Gambar 2.

Tabel 1. Kadar Daidzein dalam Serum pada Tiga Fraksi Waktu

Serum pada tiap perlakuan	Kadar Daidzein pada Fraksi Waktu (pg/1000 g)		
	1	2	3
K	26626,556	29444,299	32527,374
D	121327,404	173059,531	215265,581
B	96138,371	130413,443	165991,504

Ket.

K : perlakuan kontrol

D : perlakuan pemberian daidzein sintetis

B : perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang

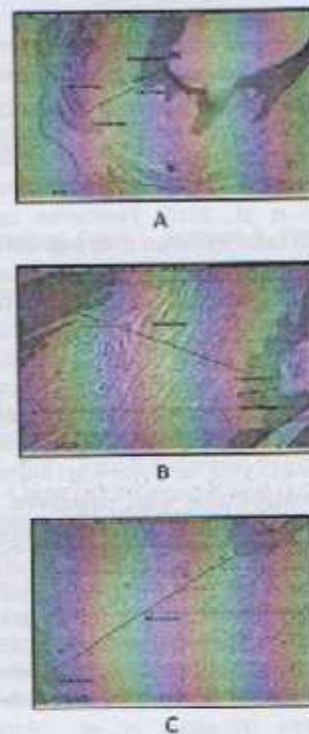
Tabel 2. Analisis Retensi Daidzein dalam Organ pada Tiga Fraksi Waktu

Bahan	Retensi daidzein total (pg/ekor)	Retensi daidzein di organ (pg/ekor)
D	302820820,1	302817872,0
B	302820823,0	302818695,4

Ket:

D : pemberian daidzein

B : pemberian air perasan umbi bengkuang



Gambar 2. Uterus Tikus Putih dengan Pewarnaan HE, Perbesaran 100X

Keterangan : A) Kontrol

B) Pemberian daidzein

C) Pemberian air perasan umbi bengkuang

- A. Dinding uterus terdiri dari lapisan endometrium dengan kelenjar uterina dan miometrium
 B. Proliferasi lapisan miometrium uterus
 C. Proliferasi lapisan miometrium uterus lebih maksimal, ditunjukkan dengan pertambahan ukuran miometrium

Hasil uji Oneway Anova perlakuan pemberian daidzein sintetis dan air perasan umbi bengkuang terhadap miometrium dan osteoblas terdapat pada Tabel 3 dan Tabel 4. Pemberian daidzein dapat meningkatkan diameter vagina, peningkatan berat uterus dan peningkatan diameter uterus (Cline *et al.*, 2004).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa adanya konversi daidzein menjadi equol memungkinkan sebagai substansi lebih estrogenik daripada daidzein (Setchell *et al.*, 2002). Equol sebagai molekul khiral yang dapat mengalami 2 bentuk enansiomer 3S-Equol (Kim *et al.*, 2009) diduga memiliki aktivitas biologi lebih potensial.

Tabel 3 menunjukkan nilai $sig (0.007) < 0.05$ dapat dijelaskan bahwa ada pengaruh antara perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang terhadap miometrium uterus. Sathyamoorthy dan Wang (1997) serta Setchell dan Adlercreutz (1988) menyatakan bahwa 30-40% bakteri usus mampu memproduksi equol dari

daidzein. Equol sebagai molekul khiral terdapat dalam 2 bentuk enansiomer (Wei *et al.*, 2012) lebih potensial dalam aktivitas biologis. Aktivitas daidzein menurunkan produksi progesteron dan meningkatkan ekspresi ER β , serta meningkatkan konsentrasi ER α dan ER β dalam sel-sel granulosa, sehingga kemungkinannya efek daidzein pada steroidogenesis (Nynca *et al.*, 2009).

Tabel 3. Analisis Oneway Anova Perlakuan Pemberian Daidzein dan Air Perasan Umbi Bengkuang Terhadap Miometrium

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4530.308	2	2265.154	6.384	.007
Within Groups	7451.402	21	354.829		
Total	11981.710	23			

Tabel 4. Analisis Oneway Anova Perlakuan Pemberian Daidzein dan Air Perasan Umbi Bengkuang Terhadap Osteoblas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	440.189	2	220.094	7.273	.004
Within Groups	635.439	21	30.261		
Total	1075.628	23			

Tabel 4 menunjukkan nilai sig (0.007) < 0.05 dapat dijelaskan bahwa ada pengaruh antara perlakuan pemberian air perasan umbi bengkuang terhadap osteoblas. Analisis GC-MS air perasan umbi bengkuang menunjukkan terdapatnya fruktosa (Primiani, 2013¹), diduga bahwa adanya komponen gula menjadi pemacu aktivitas pertumbuhan bakteri, sehingga mampu meningkatkan produksi equol (Ohta *et al.*, 2007 dan Tousein *et al.*, 2013). Produksi equol menjadi kunci efek klinis isoflavon terhadap regenerasi tulang, meningkatkan bioavailabilitas isoflavon, sehingga metabolisme tulang lebih maksimal (Fujioka *et al.*, 2004).

Reseptor estrogen dalam sel-sel osteoblas penting dalam menurunkan aktivitas regulasi osteoklas, dengan demikian terjadi penurunan resorpsi tulang (Korom *et al.*, 1988 dan Eriksen *et al.*, 1988). Pemberian genistein sebagai salah satu senyawa isoflavon mirip 17 β -estradiol dapat menstimulasi formasi osteoblastik dan mineralisasi secara *in vitro* (Gao dan Yamaguchi, 1999). Bahan alam sebagai obat herbal tidak seperti bahan sintetik, karena biasanya bahan alam merupakan campuran komponen, oleh karena itu kajian dititikberatkan pada kompleksitas konstituen aktif (Na *et al.*, 2011).

Penjelasan *single compounds* dalam obat herbal sering menyulitkan sehingga tidak dapat dilakukan karena bahan alam mengandung *multi compounds* (Qju, 2010).

Prinsip formulasi yang digunakan sebagai pembuktian adanya interaksi dalam campuran obat herbal adalah: 1) adanya interaksi sinergis diantara komponen senyawa obat herbal, dan 2) interaksi diantara komponen senyawa terjadi pada saat proses perebusan/peradukan (Pan *et al.*, 2011). Metabolit poliferol seperti halnya daidzein mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi daripada *single compounds*, adanya komponen isomer *cis*- dan *trans*-tetrahydrodaidzein (Jiang *et al.*, 2009).

KESIMPULAN

Retensi daidzein umbi bengkuang dan daidzein sintesis pada organ memberikan hasil sama. Kadar daidzein umbi bengkuang dalam serum lebih rendah daripada kadar daidzein senyawa sintesis, tetapi memberikan potensi biologis pada miometrium dan osteoblas lebih baik.

Diduga adanya kompleksitas senyawa lain dalam umbi bengkuang sebagai bahan alam memberikan potensi lebih baik daripada senyawa sintesis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepada bapak Arisandi, Sdr. Fariesha dan Sdr. Anggun yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, N.R. 1995. Detection of the Effects of Phytoestrogens on Sheep and Cattle. *J. Anim. Sci.* 73:1509-1515.
- Bayer, J., Lohns, T., dan Dekant, W. 2001. Disposition and Biotransformation of the Estrogenic Isoflavone Daidzein in Rats. *Toxicological Sciences*, 62:205-211.
- Burton, J.L. 2002. The Effect of Phytoestrogens on the Female Genital Tract. *J. Clin. Pathol.* 55:401-407.
- Chang, Y.C., dan Nak, M.G. 1993. Metabolism of Daidzein and Genistein by Intestinal Bacteria. *J. Nat. Prod.* 58:1892-1896.
- Cline, J.M., Franke, A.A., Register, T.C., Golden, D.L., dan Adams, M.R. 2004. Effects of Dietary Isoflavone Aglycones on the Reproductive Tract of Male and Female Mice. *Toxicol Pathol.* 32(91):91-99.
- Eriksen, F.F., Colvard, D.S., Berg, N.J. 1988. Evidence of Estrogen Receptors in Normal Human Osteoblast Like Cells. *J. Science.* 241: 84-86.
- Fujioka, M., Uehara, M., Wu, J., Adlercreutz, H., Suzuki, K., Kanazawa, K., Takeda, K., Yamada, K., dan Ishimi, Y. 2004. Equol, a Metabolite of Daidzein, Inhibits Bone Loss in Ovariectomized Mice. *J. Nutr.* 134: 2623-2627.
- Gao, Y.M dan Yamaguchi, M. 1999. Anabolic Effect of Daidzein on Cortical Bone in Tissue Culture: Comparison with Genistein Effect. *Mol. Cell. Biochem.* 194: 93-97.
- Glazier, M.G dan Bowman, M.A. 2001. A Review of the Evidence for the Use of Phytoestrogens as a Replacement Therapy. *Arch Intern Med.* 161:1161-1172.
- Hidridge, A.C. 1992. High Performance Liquid Chromatography Separation of Soybean Isoflavones and Their Glucosides. *J. Chromatogr.* 234:494-496.
- Ishimi, Y. 2010. Dietary Equol and Bone Metabolism in Postmenopausal Japanese Women and Osteoporotic Mice. *J. Nutr.* 140:1373S-1376S.
- Jaglo, F., Rietzky, I dan Ritzkova, L. 2010. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. *J. Physiol. Res.* 59:651-664.
- Jiang, F., Hechtand, A.I., dan Duding, G.J. 2009. Isoflavone Metabolites *Cis*- and *Trans*-Tetrahydrodaidzein Improve Plasma Lipid Profile in

- Apolipoprotein [E]-Deficient Mice. *The Open Complementary Medicine Journal*. 1:92-96.
- Kawakita, S., Marotta, F., Naito, Y., Gumaste, U., Jain, S., Tsuchiya, J., dan Minelli, L. 2009. Effect of an Isoflavone Containing Red Clover Preparation and Alkaline Supplementation on Bone Metabolism in Varicectomy Rats. *J. Clin. Invest. Aging*. 4:91-100.
- Kim, M., Han, J., dan Kim, S.U. 2008. Isoflavone Daidzein: Chemistry and Bacterial Metabolism. *J. Appl. Biol. Chem.* 51(6):253-261.
- Kim, M., Kim, S., Han, J., Wang, X.L., Song, D.G., dan Kim, S.U. 2009. Stereospecific Biotransformation Stereospecific Biotransformation of Dihydrodaidzein into (3S)-Equol by the Human Intestinal Bacterium *Faecalibacterium Strain Julong 732*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(10):3062-3068.
- Komm, B.S., Tepening, C.M., Benz, D.J. 1988. Estrogen Binding, Receptor mRNA, and Biological Response in Osteoblast Like Carcinoma Cells. *J. Science*. 241:81-84.
- Knight, D.C., dan Eden, J.A. 1996. A Review of the Clinical Effects of Phytoestrogens. *J. Obstet. Gynecol.* 87:897-904.
- Li, P., Di, L.W., Liu, E.H., Zhou, J.L., dan Wen, X.D. 2008. Analysis of Chinese Herbal Medicines with Holistic Approaches and Integrated Evaluation Models. *J. Trends in Analytical Chemistr.* 27(1):66-67.
- Lukitarningsih, E. 2009. *The Exploration of Whitening and Sun Screening Compounds in Benuang Roots (Pachyrhizus erosus)*. Disertasi. Würzburg: Bayerischen Julius Maximilians University.
- Lundh, T. 1995. Metabolism of Estrogenic Isoflavones in Domestic Animals. *Proc Soc. Exp. Biol. Med.* 208:33-39.
- Mazur, W. 1998. Overview of Naturally Occurring Endocrine Active Substances in Human Diet. Dalam: Human Diet and Endocrine Modulation: Estrogenic and Androgenic Effects. ILSI Press, Washington DC. Pp.135-145.
- Menze, S.M., Hei, T.K., Ganju, R.K., Bhat, H.K. 2008. Phytoestrogens and Breast Cancer Prevention: Possible Mechanism of Action. *J. Environ. Health. Perspect*. 116:426-433.
- Murthy, F.A. 1980. Separation of Genistein, Daidzein and Their Aglycones and Coumestrol by Gradient High Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 211:166-169.
- Na, D.H., Ji, H.Y., Park, E.J., Kim, M.S., Jiu, K.H., dan Lee, H.S. 2011. Evaluation of metabolism of mediated herb drug interactives. *Arch Pharm. Res* 34(11):1829-1842.
- Nurochmad, A., Leviana, F., Wulancarsari, C.G dan Lukitarningsih. 2010. Phytoestrogens of *Pachyrhizus erosus* Prevent Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *J. Phytomed.* 2:363-372.
- Nynca, A., Kraszewska, O., Slomczynska, M., Ciereszko, P. 2007. Phytoestrogens II. Molecular Mechanism of Action in Female Reproductive Tract. *J. Adv. Cell. Biol* 34:207-222.
- Nynca, A., Jablonska, O., Slomczynska, M., Potoff, E.K., Ciereszko, R.E. 2009. Effects of Phytoestrogen Daidzein and Estradiol on Steroidogenesis and Expression of Estrogen Receptors in Porcine Luteinized Granulosa Cells From Large Follicles. *J. Physiol. and Pharm* 60(7):94-105.
- Ohta, A., Uehara, M., Sakai, X., Takasaki, M., Adlercreutz, H., Morohashi, T., dan Ishimi, Y. 2002. A Combination of Dietary Fructooligosaccharides and Isoflavone Conjugates Increases Femoral Bone Mineral Density and Equal Production in Ovariectomized Mice. *J. Nutr.* 132:2048-2054.
- Pan, S.Y., Che, S.B., Dong, H.G., Yu, Z.L., Dong, J.C., Long, Z.X., Fong, W.F., Han, Y.F., dan Ko, K.M. 2011. New Perspectives on Chinese Herbal Medicine (Zhong-Yao) Research and Development. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. ID 401709-1 11
- Primiani, C.N. 2013'. Potensi Umbi Banguang (*Pachyrhizus erosus*) Terhadap Histologi Ovarium dan Uterus Mencit (*Mus musculus*) Premenopause. dalam Prosiding Seminar Nasional PA Universitas Negeri Semarang, 27 April 2013.
- Primiani, C.N. 2013'. Dinamika Senyawa Daidzein Umbi Banguang (*Pachyrhizus erosus*) dalam Darah Serta Potensinya pada Tikus Betina. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Biologi, Lingkungan dan Pembelajarannya X Pendidikan Biologi FKIP UNL, Sunkarta 6 Juli 2013 (Prosiding dalam proses penerbitan).
- Primiani, C.N. 2013'. Profil dan Dinamika Senyawa Daidzein (*Pachyrhizus erosus*) dalam Serum Darah Tikus Putih betina. Prosiding Seminar Nasional Kimia, Universitas Negeri Semarang, 28 September 2013.
- Pisakova, L., Rieckansky, I., dan Jagla, F. 2010. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. *Physiol. Res.* 59:651-664.
- Qiu, F. 2010. In vivo Metabolism of Chemical Constituents of Traditional Chinese Materia Medica: Research and Discussion. *J. Int. Pharm. Res.* 37:321-380.
- Rafi, F., Jackson, L.D., Ross, J., Meinze, T.M., Lewis, S.M., Aidon, A., Ly-Cook, L., dan Manjanatha, M. 2007. Metabolism of Daidzein by Fecal Bacteria in Rats. *J. Comparative Medicine*. 57(3): 282-286.
- Ree, M.G., Kuhn, G., Wegner, J., Numborg, G., Chen, J., Ender, K. 2002. Feeding Daidzein to Late Pregnant Sows Influences the Estrogen Receptor Beta and Type 1 Insulin Like Growth Factor Receptor Mma Expression in Newborn Piglets. *J. Endocrinol.* 170:129-135.
- Rowland, I., Faughnan, M., Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G., dan Cassidy, A. 2003. Bioavailability of Phyto-Estrogens. *Br. J. Nutr.* 89:545-558.
- Sathyamoorthy, N., dan Wang, T.T.T. 1997. Differential Effects of Dietary Phyto-estrogens Daidzein and Equol on Human Breast Cancer MCF-7 Cells. *Eur. J. Cancer*. 33:2384-2389.
- Setchell, K. 1998. Phytoestrogens: the Biochemistry, Physiology, and Implications for Human Health of Soy Isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(suppl):1335S-1346S.
- Setchell, K.D.R., dan Adlercreutz, H. 1988. Mammalian Ugrans and Phytoestrogens: Recent Studies on Their Formation, Metabolism, and Biological Role in Health and Disease, p. 315-345. In: U. Rowland (ed), Role of the Gut Flora in Toxicity and Cancer. Academic Press, London, United Kingdom.
- Setchell, K.D.R., Brown, N.M dan Lydecking-Olsen, E. 2002. The Clinical Importance of the Metabolite Equol - A Clue to the Effectiveness of Soy and its Isoflavones. *J. Nutr* 132:3577-3584.
- Skinner, C.M., dan Raagasami, J. 2002. Preparative Use of Herbal Medicines: a Patient Survey. *Br. J. Anaesth.* 89:792-795.
- Teunen, Y., Uehara, M., Ake, F., Kimura, Y., dan Ishimi, Y. 2013. Effects of Short-term Fructooligosaccharide Intake on Equol Production in Japanese Postmenopausal Women Consuming Soy Isoflavone Supplements: a Pilot Study. *Nutrition Journal*. 12(127):1-8
- Tsuchihashi, R., Sakamoto, S., Kodera, M., Nohara, T., Kinjo, J. 2008. Microbial Metabolism of Soy Isoflavones by Human Intestinal Bacterial Strain S. *J. Nat. Med.* 62:456-460.
- Wanibuchi, H., Kang, J.S., dan Fukushima, S. 2003. Toxicity vs Beneficial Effects of Phytoestrogens. *J. Pure. Appl. Chem.* 75(11-12):2047-2053.
- Watanabe, S., Yamaguchi, M., Sobue, T., Takahashi, T., Miura, T., Arai, Y., Mazur, W., Wahala, K., dan Adlercreutz, H. 1997. Pharmacokinetics of Soybean Isoflavones in Plasma, Urine, and Feces of Men After Ingestion of 60 g Baked Soybean Powder (Kinako). *J. Nutr* 128:1710-1715.
- Wei, Z., Zhang, Y., Ma, D., Shi, Y., Liu, C., Wang, P. 2012. (4) Equol Inhibits Invasion in Prostate Cancer DU 145 Cells Possibly Via Down-Regulation of Matrix Metalloproteinase-9. . *Matrix Metalloproteinase-2 and Urokinase-Type Plasminogen Activator by Antioxidant Activity*. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 15(1):61-67