

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kacang Merah (*Vigna angularis*)

Kacang Merah tergolong makanan nabati kelompok kacang polong (legume) seperti kacang hijau, kacang kedelai, kacang tolo, dan kacang uci. Ada beberapa jenis kacang merah diantaranya adalah *red bean*, kacang adzuki (kacang merah kecil), dan *kidney bean* (kacang merah besar) (Tjitrosoepomo, 2000).

1. Sistematika Tanaman

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae (suku polong-polongan)
Genus	: <i>Vigna</i>
Spesies	: <i>Vigna angularis</i> (Willd.) Ohwi & H. Ohashi

2. Kandungan Kacang Merah

Kacang merah memiliki beberapa kandungan nutrisi diantaranya asam folat, kalsium, karbohidrat kompleks, serat, dan protein yang tergolong tinggi. Kandungan protein dan profil asam amino dalam 100 gr kacang merah (*kidney bean*) dari yang terbanyak adalah asam glutamat (1323 mg), asam aspartat (1049 mg), leusin (693 mg), lisin (595 mg), arginin (537 mg), serin (472 mg), fenilalanin (469 mg), valin (454 mg), isoleusin (383 mg), prolin (368 mg), threonin (365 mg), alanin (364 mg), glisin (339 mg), dan lain-lain sisanya di bawah 300 mg. Kacang merah kering adalah sumber karbohidrat kompleks, serat makanan (fiber), vitamin B (terutama asam folat dan vitamin B6), fosfor, mangan, besi,

vitamin B1, thiamin, dan protein. Setiap 100 gram kacang merah kering yang telah direbus dapat menyediakan 9 gram protein atau 17 persen dari angka kecukupan protein harian (Tjitrosoepomo, 2000).

Kacang merah juga mempunyai kandungan senyawa fungsional golongan polifenol yaitu prosianidin sebanyak 7-9% (Anonim, 2007).

3. Manfaat Kacang Merah

Kacang merah memiliki beberapa manfaat diantaranya, adalah :

- a. Mencegah kolesterol jahat dan memperlancar pencernaan (anti sembelit). Kandungan fibernya yang tinggi difermentasi dalam usus besar dan menghasilkan asam-asam lemak rantai-pendek, yang dapat menghambat sintesis kolesterol hati (Afriansyah, 2007).
- b. Mencegah resiko diabetes karena kandungan karbohidrat kompleksnya berindek glikemik rendah dan termasuk lamban cerna; (Afriansyah, 2007).
- c. Membantu pematangan sel darah merah, membantu sintesa DNA dan RNA, serta menurunkan level homosistein dalam pembuluh arteri (sehingga mengurangi resiko penyakit jantung) dengan kandungan folat dan vitamin B6; (Afriansyah, 2007).
- d. Membantu pembentukan komponen utama sel-sel darah merah, pembentukan enzim, pembentukan tulang, mencegah resiko anemia (darah rendah) dengan kandungan zat mineral zinc, besi, dan tembaga. (Afriansyah, 2007).

B. Tanaman Kacang Kedelai

Kedelai merupakan tanaman pangan berupa semak yang tumbuh tegak. Kedelai jenis liar *Glycine ururiensis*, merupakan kedelai yang menurunkan berbagai kedelai yang kita kenal sekarang (*Glycine max* (L) Merril). Berasal dari daerah Manshukuo (Cina Utara). Di Indonesia, yang dibudidayakan mulai abad ke-17 sebagai tanaman makanan dan pupuk hijau. Penyebaran tanaman kedelai ke Indonesia berasal dari daerah Manshukuo menyebar ke daerah Mansyuria: Jepang (Asia Timur) dan ke negara-negara lain di Amerika dan Afrika (Loggia, 1986).

1. Sistematika Tanaman

Sistematika tanaman kedelai adalah sebagai berikut:

Familia : Leguminosae
Subfamili : Papilionoidae
Genus : Glycine
Species : *Glycine max* L

Kedelai yang tumbuh secara liar di Asia Tenggara meliputi sekitar 40 jenis. Penyebaran geografis dari kedelai mempengaruhi jenis tipenya. Terdapat 4 tipe kedelai yakni: tipe Mansyuria, Jepang, India, dan Cina. Dasar-dasar penentuan varietas kedelai adalah menurut: umur, warna biji dan tipe batang (Loggia, 1986).

2. Kandungan Kacang Kedelai

Tiap 1 kg kacang kedelai mengandung gizi Mineral 3261 mg, Mineral Kalium 1835 mg, Magnesium 225 mg, Protein 2,8 g, Lemak 1,5 g, Karbohidrat 3,6 g, Serat 0,1 g, Vitamin A 110 mcg, Vitamin B 407 mcg, Kalori 331 g, Hidrat arang 34,8 g, Fosfor 585 g, Biji mengandung sejumlah besar asam fitat, asam alfa-Linolenic, dan isoflavon genistein dan daidzein. Sebagian besar di dalam kandungan ini memiliki nilai gizi yang sangat diperlukan oleh tubuh (Loggia, 1986).

3. Manfaat Kacang Kedelai

Kacang kedelai merupakan bahan alami yang sering kita temukan disekitar kita dan salah satu makanan ciri khas orang sunda. Kedelai identik dengan tahu. Namun, bukan hanya terkenal dengan tahu saja. Kacang kedelai ternyata telah menjadi makanan penuh nutrisi untuk kecantikan kulit. Peralnya, kandungan minyak, protein, vitamin dan mineral dari jenis kacang-kedelai tersebut dapat membuat kulit senantiasa terawat (Koswara, 2006).

Dari kacang kedelai, kini banyak diproduksi minyak kedelai yang bermanfaat untuk menutrisi kulit. Memasuki usia 30 tahun, kulit wajah pada wanita terlihat semakin suram. Ini disebabkan terjadinya polusi udara yang merusak lapisan kulit. Asam lemak esensial yang dikandung

dalam kacang kedelai dapat membantu melindungi kulit dari sinar UV. Sebuah studi yang dipublikasikan di *Lancet Oncology* mengungkapkan, bahwa konsumsi makanan yang mengandung asam lemak esensial tinggi dapat membantu mencegah timbulnya beberapa jenis kanker (Pawiroharsono, 1998).

Minyak kedelai juga membantu menghadang masuknya paparan sinar matahari secara langsung, dan polusi asap rokok pada kulit. Dengan kandungan antioksidan yang tinggi seperti vitamin E dan vitamin B kompleks, di mana keduanya merupakan elemen penting untuk membuat kulit berkilau cantik. Selain itu, kacang kedelai juga dapat melindungi dari kerutan yang muncul akibat penuaan dini (Pawiroharsono, 1998).

Makanan berbasis kacang kedelai bukan hanya ditemukan pada tahu. Kini, banyak bermunculan produk makanan berbasis kacang kedelai yang bisa Anda temukan di pasaran. Seperti soy bar, soy protein yang biasanya berbentuk bubuk, susu kedelai, keju, bahkan yogurt dengan rasa kedelai (Pawiroharsono, 1998).

Struktur molekul isoflavon kedelai dan produk olahannya memiliki kemiripan dengan estrogen endogen, oleh sebab itu isoflavon mampu berikatan dengan reseptor estrogen, dan pada akhirnya isoflavon dapat menggantikan fungsi estrogen. Afinitas isoflavon terhadap reseptor estrogen sangatlah rendah bila dibandingkan dengan estrogen endogenous sehingga diperlukan jumlah fitoestrogen yang sangat besar untuk memperoleh efek yang memadai seperti estrogen (Giovanni dan Daniela, 2001). Beberapa penelitian lain tentang kedelai telah dilakukan, yaitu penelitian yang berkaitan dengan efeknya sebagai antioksidan, penurunan kadar kolesterol, kinerja hormon reproduksi terutama estrogen, pencegahan aterosklerosis, osteoporosis. Selain itu, isoflavon juga diketahui dapat menstimulasi aktifitas osteoblas dan juga berperan dalam meningkatkan hormon pertumbuhan (Mendez, 2002).

C. Penentuan aktivitas estrogenik

1. Secara in vitro

a. *Competitive ligand binding*

Competitive ligand binding reseptor estrogen yang banyak digunakan dan tepat untuk mengidentifikasi interaksi ER-ligan karena exoestrogens dapat ditentukan oleh kemampuan mereka dalam mengikat dan mendapatkan respon ER-dimediasi, *competitive binding assays* sebaiknya dimasukkan dalam semua penelitian, namun tes ini tidak dapat membedakan antara agonis dan antagonis reseptor. Selain itu, konsentrasi tinggi dari kompetitor ligan dapat mengakibatkan perpindahan non kompetitif. Begitu juga ikatan ER tidak cukup untuk menentukan zat estrogenik dari potensi substansi yang tergantung dari adanya ikatan afinitas dan kemampuan dari ligan untuk mempertahankan tempat reseptor nuklear, sehingga menyebabkan sebuah proses peningkatan respon yang berujung pada respon yang merugikan. Pada model "output berkelanjutan" menunjukkan bahwa respon kompleks seperti modulasi dari sistem endokrin atau efektivitas reproduksi tidak hanya memerlukan peristiwa peningkatan ligan tetapi juga tindakan akumulatif terus menerus dari *ligan-occupied nuklear* ER kompleks. Oleh karena itu, pengikatan dari zat ke ER menimbulkan sugestifitas bahwa hal itu berperilaku sebagai sebuah exoestrogen tetapi tidak memberikan bukti yang cukup untuk menyimpulkan bahwa senyawa tersebut akan merugikan kesehatan manusia atau kualitas lingkungan. Adapun tes yang diperlukan dalam rangka menilai potensi resiko yaitu in vivo dan in vitro. Selain itu, tes pengikatan tidak mudah dijadikan sebagai otomatisasi, sehingga membatasi utilitas mereka sebagai alat skrining (Katzenellenbogen, 1976).

b. *Cell proliferation*

Pengujian ini, salah satunya disebut sebagai E-screen, menggunakan ER positif, *estrogens responsive* MCF-7 atau T47-D

sel kanker payudara manusia. E-screen membandingkan jumlah sel yang ada setelah masa inkubasi 6-hari di medium dengan serum steroid-stripped *dextran-coated charcoal* (DCC) dalam mengidentifikasi ada atau tidaknya dugaan exoestrogen. Hal ini didasarkan pada tiga tempat berikut:

1. Faktor tak dikenal dalam serum manusia yang dapat menghambat proliferasi sel estrogen sensitif manusia.
2. Estrogen menginduksi proliferasi sel dengan meniadakan efek penghambatan faktor proliferasi sel.
3. Non-estrogenik steroid dan faktor pertumbuhan tidak menetralkan sinyal penghambatan yang ada dalam serum manusia (Brooks, 1987).

Namun, dalam tes menggunakan serum janin sapi (FBS), yang dilakukan oleh para ilmuwan di Amerika Serikat telah menemukan beberapa mitogen mampu meningkatkan proliferasi sel kanker payudara manusia. Oleh karena itu, pengujian ini terbukti tetapi tidak tepat menunjukkan bahwa zat yang terkandung bersifat estrogenik (Brooks, 1987).

c. *Estrogen receptor transcription assay*

Selama dekade terakhir, beberapa perusahaan farmasi telah menggunakan rekombinan reseptor atau tes gen reporter untuk mengidentifikasi reseptor-ligan spesifik dengan aplikasi terapi yang potensial. Pada tahun 1998 Mc.Lachlan telah menyarankan bahwa pendekatan yang sebanding dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menilai reseptor-dimediasi toksikan dan telah disebut sebagai strategi "toksikologi fungsional". Oleh karena itu, suatu zat akan diklasifikasikan berdasarkan mekanisme potensial kerjanya di samping kimianya. Rekombinan reseptor atau tes gen reporter dapat dikategorikan menjadi :

- 1) *Endogen promoter-regulated gen reporter*
- 2) *Respon element-regulated gen reporter*

chimeric reseptor atau respon element-regulated gen reporter (Zacharewski,1997).

2. Secara in vivo

a. *Vaginal Cornification Assay*

Metode *Vaginal Cornification Assay* merupakan metode yang pertama kali diperkenalkan oleh Allen dan Doisy pada tahun 1923. Agonis estrogen akan menyebabkan sel epitel membelah dan berdiferensiasi dari sel kuboidal menjadi sel *pseudo-stratified* kolumnar dan akhirnya menjadi sel *keratinized squamous ephithelial* dalam waktu 48-72 jam pemaparan. Keratinisasi dan kornifikasi merupakan titik akhir paling spesifik pada percobaan in vivo untuk penentuan aktivitas estrogenik suatu senyawa (NRC, 1999).

Sel vagina yang mengalami kornifikasi dapat terlihat di bawah mikroskop dengan karakteristik sebagai berikut: sel berukuran paling besar di antara sel lain yang nampak berbentuk poligonal dan rata, kadang-kadang terlihat seperti terlipat. Nukleusnya sudah tidak ada atau sangat kecil dan terlihat gelap (NRC, 1999).

b. Penimbangan bobot uterus (*Uterotrophic assay*)

Penimbangan bobot uterus pada umumnya dilakukan dengan pemberian dosis harian suatu senyawa selama 3-4 hari untuk mengukur pertumbuhan uterin sejati. Kenaikan bobot uterus diukur, dan proliferasi sel serta hipertrofi dapat dikonfirmasi secara histopatologis. Bobot organ dalam hal ini merupakan vagina dan uterus (NRC, 1999).

D. Hormon Estrogen

Estrogen (atau oestrogen) adalah sekelompok senyawa steroid yang berfungsi terutama sebagai hormon seks wanita walaupun terdapat baik dalam tubuh pria maupun wanita, kandungannya jauh lebih tinggi dalam tubuh wanita usia subur (Horwitz, 1987).

Hormon ini menyebabkan perkembangan dan mempertahankan tanda-tanda kelamin sekunder pada wanita, seperti payudara, dan juga terlibat dalam penebalan endometrium maupun dalam siklus haid (Helmut A, 2004). Tiga jenis estrogen utama yang terdapat secara alami dalam tubuh wanita adalah estradiol, estriol, dan estron. Sejak menarche sampai menopause, estrogen utama adalah 17β -estradiol (Horwitz, 1987).

Estradiol disingkat E2 karena memiliki 2 gugus hidroksil dalam struktur molekulnya. Estrone memiliki 1 (E1) dan estriol memiliki 3 (E3). Estradiol memiliki efek sekitar 10 kali lebih kuat sebagai estrone dan sekitar 80 kali lebih kuat sebagai estriol dalam efek estrogeniknya (Helmut, 2004).

Mekanisme kerja estradiol memasuki sel bebas dan berinteraksi dengan reseptor sel target sitoplasma. Setelah reseptor estrogen telah mengikat ligannya, estradiol bisa masuk ke inti sel target, dan mengatur transkripsi gen, yang menyebabkan pembentukan messenger RNA. mRNA berinteraksi dengan ribosom untuk memproduksi protein tertentu yang mengekspresikan hormon estradiol pada sel target.

Meski perubahan yang terjadi tidak signifikan di uterus dan cervix, dinding vagina juga memperlihatkan perubahan-perubahan yang terjadi secara berkala (periodik). Pada fase folikuler di dalam ovarium, estrogen merangsang epitel vagina aktif bermitosis dan mensintesis glikogen sehingga lapisan mukosa vagina menjadi lebih tebal menjelang ovulasi dan lumen vagina banyak mengandung glikogen. Penebalan epitel lapisan mukosa disertai dengan proses penandukan atau kornifikasi dan kemudian mengelupas (Duncan, 1999).

Dengan ditemukannya sel epitel menanduk pada preprat apus vagina, adalah indikator terjadinya ovulasi. Menjelang ovulasi leukosit makin banyak menerobos lapisan mukosa vagian kemudian ke lumen. Selama masa luteal pada ovarian dengan pengaruh hormon progesteron dapat menekan pertumbuhan sel epitel vagina (Anonim, 2011).

E. Siklus Estrus Pada Tikus

Siklus estrus merupakan sederetan aktivitas seksual dari awal hingga akhir dan terus berulang. Panjang waktu siklus estrus pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yaitu 4 sampai 5 hari. Siklus ini dibedakan dalam 2 tingkatan yaitu fase folikuler dan fase luteal. Fase folikuler adalah pembentukan folikel sampai masak sedangkan fase luteal adalah setelah ovulasi sampai ulangan berikutnya dimulai. Siklus estrus pada hewan berasal dari folikel graff ke korpus luteum. Siklus estrus dapat dibedakan menjadi 4 fase, yaitu:

1. Fase Proestrus

Ditandai dengan adanya sel-sel epitel normal. Terjadi pembentukan folikel sampai tumbuh maksimum. Pertumbuhan folikel ini menghasilkan estrogen sehingga dinding uterus menjadi lebih tebal dan halus serta lebih bergranula. Selain itu digetahkan cairan yang agak pekat yang dinamakan cairan milk uteria. Struktur histologis epitel vagina pada fase proestrus adalah berlapis banyak (10-13), Stratum korneum kornifikasi aktif, leukosit sedikit dan mitosis aktif (Baziad, 2003).

2. Fase Estrus

Fase estrus ditandai dengan adanya sel-sel epitel menanduk, produksi estrogen akan bertambah dan terjadi ovulasi sehingga dinding mukosa uterus akan menggelembung dan mengandung sel-sel darah, pada fase ini folikel matang dan terjadi ovulasi dan betina siap menerima sperma dari jantan. Sel-sel epitel menanduk merupakan indikator terjadinya ovulasi, menjelang ovulasi leukosit makin banyak menerobos lapisan mukosa vagina kemudian ke lumen. Selama masa luteal pada ovarium dengan pengaruh hormon progesteron dapat menekan pertumbuhan sel epitel vagina. Struktur histologis epitel vagina pada fase estrus adalah lapisan superficial berinti, struktur korneum sedikit dan melepas leukosit di bawah epitel, mitosis berkurang, dan leukosit tidak ada (Baziad, 2003).

3. Fase Diestrus

Pada fase diestrus ditandai dengan adanya sel epitel normal dan banyak leukosit (Baziad, 2003).

4. Fase anestrus

Fase anestrus merupakan fase istirahat jika tidak terjadi fertilisasi atau kehamilan. Ditandai dengan sel epitel normal atau sel epitel biasa dan sel epitel menanduk. Dimana lapisan epiteliumnya 4-7 dan terdapat leukosit pada lapisan luar (Baziad, 2003).

F. Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan suatu substrat dari tumbuhan yang memiliki khasiat mirip estrogen, meskipun rumus bangun kimianya sangat berbeda dengan estrogen. Pada tanaman dikenal ada beberapa kelompok fitoestrogen yakni; isoflavon, lignan, kumestan, triterpen glikosida, dan senyawa lain yang berefek estrogenik, seperti flavon, chalcone, diterpenoid, triterpenoid, dan kumarin. Isoflavon banyak dijumpai pada buah-buahan, teh hijau, kacang kedelai, dan produk-produk kedelai lainnya seperti tempe, tahu, dan tauco (*soy products*). Lignan lebih banyak dijumpai pada biji-bijian gandum maupun wijen. Sementara kumestan banyak terdapat pada kacang-kacangan, biji bunga matahari. Sedangkan triterpen glikosida banyak terkandung pada tanaman *Cimifuga racemosa* (sering disebut sebagai tanaman black cohosh). (Achdiat, 2003; Anonim, 2007). Khasiat estrogenik ini timbul karena fitoestrogen juga memiliki 2 gugus -OH/hidroksil yang berjarak 11.0 —11,5Å pada intinya, sama persis dengan inti estrogen sendiri. Para peneliti sepakat bahwa jarak 11 Å dan gugus -OH inilah yang menjadi struktur pokok suatu substrat agar mempunyai efek estrogenik, yakni memiliki afinitas tertentu untuk dapat "menduduki" reseptor estrogen. Substrat tadi baru akan berefek estrogenik bila telah berikatan dengan reseptor estrogen tersebut (Suheimi, 2008).

Di antara kelompok fitoestrogen tersebut, penelitian menunjukkan isoflavon adalah yang terbaik. Sebagai fitoestrogen, isoflavon memiliki dua

efek penting. Pertama, saat kadar estrogen tinggi, fitoestrogen bisa menghentikan bentuk estrogen yang lebih poten diproduksi oleh tubuh dan bisa membantu mencegah penyakit yang diikendarai oleh hormon, seperti kanker payudara. Kedua, saat kadar estrogen rendah, seperti pada keadaan setelah menopause, fitoestrogen bisa menggantikan estrogen tubuh itu sendiri, sehingga bisa mengurangi *hotflashes* dan melindungi tulang (Hideki W, 2003).

Isoflavon dijuluki estrogen nabati, karena fungsinya yang mendorong metabolisme estrogen (Baziad, 2003; Ganero and Delmas, 2004; Mase, 2005). Isoflavon merupakan salah satu fitoestrogen yang banyak diteliti. Sumber isoflavon dapat diperoleh misalnya kacang merah, kecambah, atau kedelai (olahan kedelai seperti susu, tahu, tempe). Kedelai dapat memperbaiki lipoprotein dalam darah dan dapat menurunkan kadar kolesterol jahat. (Judith, Deborah dan Gregory, 2002).

G. Menopause

Menopause berasal dari bahasa Yunani, yaitu kata *men* yang berarti bulan dan *peuseis* yang berarti 'penghentian sementara'. Sebenarnya, secara linguistik kata yang lebih tepat adalah *menocease* yang berarti 'masa berhentinya menstruasi'. Dalam pandangan medis, menopause didefinisikan sebagai masa penghentian haid untuk selamanya. Biasanya menopause terjadi pada wanita mulai usia 45-55 tahun. Masa menopause ini tidak bisa serta merta diketahui, tetapi biasanya akan diketahui setelah setahun berlalu (Duncan, 1999). Siklus menstruasi dikontrol oleh dua hormon yang diproduksi di kelenjar hipofisis yang ada di otak yaitu *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH), dan dua hormon lagi yang dihasilkan oleh ovarium (estrogen dan progesteron). Saat wanita berada pada masa menjelang menopause, FSH dan LH terus diproduksi oleh kelenjar hipofisis secara normal. Akan tetapi karena ovarium semakin tua maka kedua ovarium kita tidak dapat merespon FSH dan LH sebagaimana yang seharusnya. Akibatnya estrogen dan progesterone yang diproduksi juga semakin

berkurang. Menopause terjadi ketika kedua ovarium tidak lagi dapat menghasilkan hormon-hormon tersebut dalam jumlah yang cukup untuk bisa mempertahankan siklus menstruasi. Kesimpulannya, ketika wanita memasuki menopause kadar estrogen dan progesteron turun dengan dramatis karena ovarium berhenti merespon FSH dan LH yang diproduksi oleh kelenjar hipofisis yang ada di otak. Sebagai usaha agar kedua ovarium dapat berfungsi dengan baik, otak sebenarnya telah mengeluarkan FSH dan LH lebih banyak namun kedua ovarium tidak dapat berfungsi dengan normal. Akan tetapi kecenderungan otak untuk memproduksi lebih banyak FSH memberikan satu keuntungan yaitu kadar FSH yang tinggi dapat dideteksi dalam darah atau urine, dan dapat digunakan sebagai tes sederhana untuk mendeteksi menopause (Baziad, 2003).

