

Korelasi Jumlah Folikel Ovarium dengan Konsentrasi Hormon Estrogen Mencit (*Mus musculus*) setelah Konsumsi Harian Tepung Kedelai selama 40 Hari

Siti Muflichatun Mardiaty*, Agung Janika Sitasiwi*

**Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP*

Abstract

Soybeans contains phytoestrogen that influence reproductive process. Phytoestrogen administration with chronical dosage along growth periode cause the neuroendocrine system disturbance. Commonly in human intake of phytoestrogen from soybeans or other soybeans product. So it is important to research beneficial and adverse effects of soybeans consumption with chronical dosage to reproductive process, particularly is corelation between the sum of ovarium follicles and the estrogen level of mouse (*Mus musculus*) after daily consumption of soybeans along 40 days. The objective of this study was to know the corelation between the sum of ovarium follicle and the estrogen level of mouse, by experimental design. Adult female mice were use as experimental animal, divided into two groups, there were control and treatment. The group of treatment was administrated with 0,975 mg soybeans flour, it was contain $\pm 0,00156$ mg phytoestrogen. The control group was administreted only drinking water. The result of this study shows that were not significantly difference between control and treatment group. It concluded the corelation between the sum of ovarium follicles and the estrogen level were not influenced with daily consumption of fitoestrogen.

Key words : phytoestrogen, ovarian follicle

Abstrak

Kedelai mengandung fitoestrogen yang berpengaruh pada proses reproduksi. Penambahan fitoestrogen dengan dosis kronis selama periode pertumbuhan menyebabkan terjadinya gangguan pada sistem neuroendokrin. Umumnya intake fitoestrogen pada manusia berasal dari kedelai atau produk berbahan dasar kedelai. Oleh karena itu, dilakukan penelitian tentang keuntungan dan resiko konsumsi kedelai dengan dosis kronis pada mencit (*Mus musculus*), terutama korelasi antara jumlah folikel ovarium dan kadar hormon estrogen, setelah konsumsi harian tepung kedelai selama 40 hari. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui korelasi antara jumlah folikel ovarium dan kadar hormon estrogen pada mencit dengan desain eksperimental. *Mus musculus* betina dewasa sebanyak 32 ekor digunakan dalam penelitian ini. Hewan uji dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok hewan perlakuan diperlakukan dengan 0,975 mg tepung kedelai yang mengandung 0,00156 mg fitoestrogen, sedangkan hewan kelompok kontrol hanya diberi air minum. Perlakuan diberikan selama 40 hari. Pengukuran kandungan hormon estrogen dilakukan dengan ELISA kit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian fitoestrogen dengan paparan sub kronis belum mampu mempengaruhi korelasi antara jumlah folikel dalam ovarium dan kadar hormon estrogen pada mencit.

Kata kunci : fitoestrogen, folikel ovarium

PENDAHULUAN

Bahan makanan dengan bahan dasar kedelai merupakan penyebab utama rendahnya prevalensi keluhan menopause, kanker payudara, kanker endometrium dan ovarium, juga penyakit kardiovaskuler pada wanita Asia (Anonim, 2002). Menurut Reinli dan Block (1996) kedelai mengandung fitoestrogen yang berperan mengatasi gangguan menopause dan gangguan kesehatan yang lain. Fitoestrogen berperan dalam menjaga keseimbangan estrogen dalam tubuh pada periode menjelang dan saat menopause ketika hormone estrogen diproduksi sangat sedikit

Mekanisme kerja fitoestrogen dalam jaringan adalah dengan berikatan pada reseptor estrogen dan mencegah pengikatan estrogen alami (Markaverich et al., 1995). Namun fitoestrogen memiliki potensi yang jauh lebih kecil (0,01 – 0,001) dari kekuatan estrogen alami (Anonim, 2002). Mekanisme kerja dan potensi fitoestrogen tersebut menyebabkan terganggunya sistem neuroendokrin jika diberikan dalam dosis kronis pada masa pertumbuhan (Whitten et al., 1995). Lama paparan kronis untuk mencit berkisar 20-60 hari (Laurence dan Bacharach, 1964 ; Whitten et al., 1995).

Intake fitoestrogen pada manusia umumnya melalui konsumsi kedelai atau produk olahannya. Penelitian yang telah dilakukan umumnya hanya menggunakan

bahan aktif fitoestrogen seperti genestein dan coumestrol. Pengujian dengan menggunakan bahan aktif fitoestrogen tidak dapat menggambarkan hasil yang sama dengan pengujian yang menggunakan keseluruhan bahan. Menurut Whitten et al. (1995) dengan alasan tersebut masih diperlukan penelitian mengenai fitoestrogen untuk mengevaluasi keuntungan dan resiko fitoestrogen yang dikonsumsi sesuai konsentrasi diet alami harian pada manusia.

Berlatar belakang hal tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang keuntungan dan resiko mengkonsumsi kedelai dengan dosis konsumsi harian terhadap proses reproduksi *Mus musculus* yang umum sebagai hewan uji mewakili hewan Mamalia. Salah satunya adalah dengan melihat korelasi antara jumlah folikel ovarium dengan konsentrasi estrogen pada mencit setelah konsumsi harian tepung kedelai selama 40 hari.

METODOLOGI

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP. Penelitian merupakan percobaan factorial dengan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Hewan uji yang dipergunakan adalah *Mus musculus* betina berumur 30 hari

dengan berat badan berkisar 23-27 gram. Pencapaian data yang terdistribusi normal dilakukan dengan mempergunakan minimal 30 ekor hewan uji. Selanjutnya hewan dikelompokkan menjadi kelompok control dan perlakuan masing-masing dengan ulangan 16 ekor.

Masing-masing hewan uji kelompok perlakuan diperlakukan dengan 0,975 mg tepung kedelai dengan kandungan fitoestrogen sebanyak $\pm 0,00156$ mg. Perlakuan diberikan selama 40 hari secara oral dengan cara melarutkannya dalam 0,3 mL air. Sedangkan kelompok control dengan cara yang sama diperlakukan dengan aquades. Pada akhir penelitian semua hewan uji dikorbankan. Kemudian dilakukan pengambilan darah langsung dari jantung dengan menggunakan spuit dan isolasi organ reproduksi. Selanjutnya dilakukan analisis kuantitatif terhadap estrogen darah dan pembuatan preparat histologis ovarium. Untuk menghitung

jumlah folikel ovarium dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop.

Data yang didapat diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorv-Smirnov* dan dilanjutkan dengan uji homogenitas. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa semua data terdistribusi normal dan homogen. Data kemudian diuji dengan menggunakan analisis parametrik, yaitu uji T secara berpasangan (Pair T – Test). Untuk melihat korelasi antara jumlah folikel ovarium dengan konsentrasi estrogen dilakukan uji korelasi *Spearman* (Munawar, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data jumlah folikel ovarium dan fluktuasi hormon estrogen mencit terlihat pada tabel Sebagai berikut :

Tabel 1. Rata-rata jumlah folikel ovarium dan konsentrasi hormon estrogen mencit kontrol dan perlakuan setelah pemberian larutan tepung kedelai dosis 0,975 mg/mencit/hari selama 40 hari

Kelompok	Parameter	Siklus estrus				Koefisien Korelasi (rho)
		DE (diestrus)	PE (proestrus)	E (estrus)	ME (metestrus)	
Kontrol	Jumlah Folikel	34 ^a $\pm$ 1,41	43 ^a $\pm$ 2,83	40 ^a $\pm$ 2,83	37 ^a $\pm$ 1,41	0,95
	Konsentrasi Estrogen (pg/mL)	8,20 ^a $\pm$ 1,65	37,9 ^a $\pm$ 8,06	26,83 ^a $\pm$ 1,96	8,40 ^a $\pm$ 0,98	
	Jumlah Folikel	44 ^a $\pm$ 2,84	50 ^a $\pm$ 1,41	43 ^a $\pm$ 2,83	30 ^a $\pm$ 1,41	

Perlakuan						0,95
	Konsentrasi Estrogen (pg/mL)	5,43 ^a ± 2,11	26,93 ^a ± 4,0	16,50 ^a ± 3,48	5,80 ^a ± 2,26	

Keterangan : Angka yang diikuti dengan superskrip yang sama dalam kolom yang sama dengan fase siklus estrus dan parameter yang sama menunjukkan data ber berbeda tidak nyata pada taraf kepercayaan 95 %

Jumlah folikel ovarium menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antara kontrol dan perlakuan pada semua fase siklus estrus. Demikian juga fluktuasi hormon estrogen antara kontrol dan perlakuan pada semua fase siklus estrus; seperti terlihat pada tabel di atas.

Jumlah folikel menunjukkan angka yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan daripada kontrol pada fase diestrus, proestrus dan estrus. Kemudian keadaan berlawanan terjadi pada fase metestrus. Hal ini diduga disebabkan karena fitoestrogen menekan perkembangan folikel, sehingga folikel tetap berada pada tahap primer dan tidak berkembang menjadi folikel pada tahap selanjutnya. Dengan demikian jumlah folikel sekunder dan de Graaf menurun. Penurunan jumlah folikel pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian tepung kedelai dosis 0,975 mg per mencit per hari menekan perkembangan folikel ovarium.

Penurunan jumlah folikel pada kelompok perlakuan karena pemberian tepung kedelai, ternyata tidak

mempengaruhi konsentrasi hormon estrogen. Hormon estrogen kelompok hewan yang diberi perlakuan tepung kedelai dosis 0,075 mg/mencit/hari meskipun mengalami penurunan, tetapi secara statistik tidak signifikan. Fluktuasi hormon estrogen sepanjang siklus estrus menunjukkan pola yang sama dengan Chateau dan Boehm (1995) dimana kadar estrogen tertinggi dijumpai pada fase proestrus, kemudian menurun pada fase estrus dan kadar terendah dijumpai pada metestrus dan diestrus.

Perkembangan folikel ovarium dipengaruhi oleh hormon estrogen. Estrogen terutama dihasilkan oleh sel-sel granulosa yang mengubah androgen yang dihasilkan oleh sel-sel teka interna menjadi estrogen. Pertumbuhan dan pemasakan folikel ovarium dan sekresi estrogen dikendalikan oleh hormon gonadotropin hipofisis yaitu FSH dan LH. Sekresi estrogen oleh ovarium memicu pelepasan LH untuk ovulasi pada masa estrus. LH merangsang pembentukan korpus luteum. Sedangkan estrogen mempengaruhi sekresi hormon gonadotropin hipofisis melalui efek umpan balik pada hipotalamus.

Perkembangan folikel ovarium yang tertekan membuktikan bahwa fitoestrogen

berikatan dengan reseptor estrogen sehingga biosintesis estrogen alami tubuh menjadi tertekan. Fitoestrogen yang merupakan kompetitor untuk reseptor estrogen menyebabkan estrogen alami tidak dapat berikatan dengan reseptornya sehingga jumlah estrogen bebas meningkat. Hal ini menimbulkan feedback negatif terhadap regulasi hormon estrogen, sehingga produksi estrogen akan tertekan.

Fitoestrogen yang berikatan dengan reseptor estrogen tidak dapat menggantikan fungsi estrogen alami karena efek estrogeniknya lebih rendah daripada estrogen alami. Efek estrogenik fitoestrogen yang lebih rendah tersebut tidak dapat menggantikan estrogen alami dalam mekanisme kerjanya sehingga menyebabkan gangguan dalam sistem neuroendokrin. Selanjutnya gangguan pada sistem neuroendokrin tersebut menyebabkan tertekannya perkembangan folikel ovarium.

Isoflavon dapat mempengaruhi perkembangan organ reproduksi terutama ovarium dengan menekan sintesis hormon estrogen. Whitten dan Patisaul (2001) membuktikan bahwa isoflavon dan lignan merupakan inhibitor bagi 5α reduktase dan aromatase. Enzim 5α reduktase berperan dalam proses sintesis testosteron, sedang aromatase merupakan enzim yang berperan dalam pembentukan estron dari androstenedion. Isoflavon yang menghambat aromatase untuk membentuk estron akan

menyebabkan tidak terbentuknya hasil akhir berupa estradiol 17β sehingga menekan perkembangan folikel ovarium, selain itu isoflavon mempengaruhi ketersediaan estrogen dengan menghambat 17β hidroksisteroid dehidrogenase I yang juga berperan dalam pembentukan estrogen. Penghambatan dalam pembentukan estrogen akan menyebabkan perkembangan folikel ovarium terhambat.

Data penelitian menunjukkan bahwa fitoestrogen dalam tepung kedelai dosis 0,975 mg/mencit/hari beraksi menekan sintesis hormon estrogen pada sel-sel folikuler tetapi tidak menyebabkan perubahan yang signifikan pada jumlah folikel ovarium.

Perubahan jumlah folikel secara berurutan dari fase diestrus, proestrus, estrus dan metestrus menunjukkan pola yang sama dengan perubahan konsentrasi hormon estrogen pada kelompok hewan kontrol. Setelah dilakukan analisis statistik untuk menguji adanya korelasi antara jumlah folikel dengan konsentrasi estrogen ternyata terdapat korelasi positif yaitu semakin tinggi jumlah folikel semakin tinggi konsentrasi estrogen. Hal yang sama terdapat pada kelompok hewan perlakuan. Tingkat korelasi pada kelompok hewan perlakuan tidak mengalami perubahan yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi yang sama antara kontrol dan perlakuan yaitu 0,95.

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa pemakaian dosis kronis tepung kedelai pada mencit tidak mempengaruhi sistem neuroendokrin yang mengakibatkan perubahan korelasi antara jumlah folikel ovarium dengan konsentrasi estrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Chateau, D dan N Boehm, 1995. Regulation of Differentiation and Keratin 10 Expression by All-trans Retinoid Acid during the Estron Cycle in the Rat Vaginal Epithelium. Institut d' Histologic, Faculte de Medecine, 4 Rue Kirschleger, France
- Cooke, P.S., D.L. Buchan, D.B. Lubahn and G.R. Cruncha, 1998. Mechanism of Oestrogen Action ; Lesson from the Oestrogen Receptor – α Knockout Mouse. *Biol.* 59: 470-475
- Anonim, 2002. Focus on Woman's Health and Diet. Food Fact Asia Issue 15
- Johnson, M. H. dan B.J.Everitt, 1998. Essential Reproduction. Blackwell Scientific Publication. London
- Laurence dan Bacharach, 1964 Evalution of Drug Activities Pharmacometrics
- Levy, J.R., K.A.Faber, L. Ayyash and C.L. Hughes, 1995. The Effect of Prenatal Exposure to the Phytoestrogen Genestein on Sexual Differentiation in Rats. *Proc. Sec. Exp. Med.* 208 (1) : 60 – 66
- Markaverich, B.M., B. Webb, C.L. Densmore dan R.R. Gregory, 1995. Effect of Coumestrol on Estrogen Reseptor Function and Uterin Growth in Ovarietomized Rats. *J. Environ. Health. Prespect.* 103 (6) : 574-581 et al., 1995
- Munawar, 1995. Biometri II. Jurusan Biologi FMIPA UNSRI. Palembang
- Reinli & Block, 1996. Phytoestrogen content of food a compendium of literature values. Nurt Cancer. Public Health nutrition Program, University of California at Berkeley 94720. USA
- Whitten, Patricia L, C. Lewis dan F. Naftolin. 1993. A Phytoestrogen Diet Induces the Premature Anovulatory Syndrom in Lactation Exposed Female Rats. *Biol Reprod.* Volume 49 Issue 5 .