



**EDAMAME (*Glycine max* (L.) Merrill) TERFERMENTASI  
MEMENGARUHI KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA  
TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL *MENOPAUSE***

**SKRIPSI**

Oleh

**Azizah Mursyidati Nurulhayati  
NIM 152010101029**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**EDAMAME (*Glycine max* (L.) Merrill) TERFERMENTASI  
MEMENGARUHI KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA  
TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL *MENOPAUSE***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Azizah Mursyidati Nurulhayati**  
**NIM 152010101029**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2019**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya yang membuat saya tidak pernah berhenti bersyukur dan berharap;
2. Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi teladan bagi saya;
3. Ibunda Haris Mastuti Mustikojati dan ayahanda Ardianto Agus Spto yang saya cintai; serta adik-adik saya Hasna dan Fatih yang saya sayangi
4. Seluruh guru yang telah dengan sabar dan tekun mendidik saya sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

**MOTO**

*“Orang-orang yang beriman dan hati mereka menjadi tenteram dengan mengingat Allah. Ingatlah, dengan mengingat Allah hati menjadi tenteram.”*

[Terjemahan QS. Ar-Ra’d ayat 28]



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. *Al Qur'an dan Terjemahannya Special for Woman*. Bandung: Syaamil Quran.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama: Azizah Mursyidati Nurulhayati

NIM: 152010101029

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Edamame (*Glycine max* (L.) Merril) Terfermentasi Memengaruhi Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus (*Rattus novergicus*) Model *Menopause*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,

Yang menyatakan,

Azizah Mursyidati Nurulhayati  
NIM 152010101029

**SKRIPSI**

**EDAMAME (*Glycine max* (L.) Merrill) TERFERMENTASI  
MEMENGARUHI KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA  
TIKUS (*Rattus novergicus*) MODEL *MENOPAUSE***

Oleh

**Azizah Mursyidati Nurulhayati  
NIM 152010101029**

Pembimbing

Dosen Pembimbing I : dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech  
Dosen Pembimbing II : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Edamame (*Glycine max* (L.) Merril) Terfermentasi Memengaruhi Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus (*Rattus novergicus*) Model *Menopause*” karya Azizah Mursyidati Nurulhayati telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed  
NIP 198212112008122002

dr. Ulfa Elfiah, M.Kes.,Sp.BP-RE  
NIP 197607192001122001

Anggota I

Anggota II

dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech  
NIP. 19840819 200912 2 003

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198107232006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Supangat, M.Kes., PhD  
NIP 197304241999031002

## RINGKASAN

**Edamame (*Glycine max* (L.) Merril) Terfermentasi Memengaruhi Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Menopause;** Azizah Mursyidati Nurulhayati, 152010101029; 2019; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jumlah wanita di Indonesia yang memasuki masa *premenopause* sebanyak 17,21 juta jiwa dan *menopause* sebanyak 21,22 juta jiwa pada tahun 2015. Jumlah tersebut meningkat dari tahun 2009, yaitu sebanyak 5.320.000 wanita. Kondisi estrogen yang terlalu rendah seperti pada wanita *menopause* bersifat prooksidan yang mengganggu keseimbangan radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas yang berlebih menyebabkan stres oksidatif dengan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi karena struktur radikal bebas yang belum stabil akan mencari pasangan elektron lainnya dengan memecah asam lemak tidak jenuh atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) dari membran sel dan lipoprotein plasma. Salah satu hasil dari proses tersebut ialah MDA. MDA bersifat paling mutagenik terutama terhadap gen M1dG sehingga dapat menyebabkan kanker. Kejadian kanker yang diakibatkan oleh kondisi menopause sebanyak 70% di Indonesia pada tahun 2013. Terapi HRT banyak digunakan oleh wanita *menopause*, akan tetapi terapi tersebut membutuhkan biaya yang banyak, sulit didapatkan karena memerlukan resep dokter, dan dapat menimbulkan efek samping seperti kanker payudara.

Edamame merupakan produk unggulan Jember yang memiliki kandungan fitoestrogen berupa isoflavon. Isoflavon memiliki aktivitas estrogenik dengan berikatan pada reseptor estrogen. Efek estrogenik yang ditimbulkan dapat mencegah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan sehingga menurunkan kadar MDA pada wanita *menopause*. Isoflavon dibagi dalam bentuk aglikon, glikosida, asetilglikosida, dan malonilglikosida. Senyawa utama isoflavon pada edamame ialah bentuk glikosida, akan tetapi bentuk glikosida tidak dapat diserap oleh tubuh sehingga perlu diubah menjadi bentuk aglikon oleh proses hidrolisis enzim  $\beta$ -glucosidase selama fermentasi. Penelitian ini menggunakan *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* untuk fermentasi edamame dan tikus putih betina yang diovariectomi sebagai model *menopause*.

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental design* secara *in vivo* dengan rancangan *post test control group design*. Pemilihan sampel dilakukan dengan *simple random sampling*. Tikus sebanyak 45 ekor dibagi ke dalam sembilan kelompok, yaitu kelompok *shamed* ovariektomi, kelompok dengan pemberian Na CMC 1%, estradiol, edamame terfermentasi 100, 250, 500, 750, 1.000, dan 1.250 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini ialah 45 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague dawley*. Usia saat perlakuan tikus yaitu 59 hari dengan berat rata-rata 140-190 gram. Prosedur penelitian terdiri dari pengajuan etik penelitian, peremajaan isolat *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus*, pembuatan suspensi spora, perhitungan kepadatan spora, preparasi edamame terfermentasi,



adaptasi hewan coba, pembagian kelompok perlakuan, ovariectomi, terminasi, dan pengukuran MDA serum setelah 28 hari. Hasil penelitian didapatkan kadar MDA serum pada kelompok edamame terfermentasi dengan dosis 100, 250, 500, 750, 1.000, dan 1.250 mg/kgBB berturut-turut ialah  $5,5157 \pm 1,4304$ ;  $7,4087 \pm 1,3431$ ;  $5,3829 \pm 1,9746$ ;  $10,2227 \pm 2,3601$ ;  $7,8973 \pm 1,3258$ ; dan  $7,0280 \pm 1,2313$   $\mu\text{g/mL}$ . Kadar MDA pada kelompok *shamed* ovariectomi sebesar  $4,1724 \pm 0,2139$ , kontrol negatif sebesar  $3,2025 \pm 0,2070$ , dan kontrol positif sebesar  $8,3654 \pm 0,2769$ . Kadar MDA pada kelompok edamame terfermentasi dosis 250, 750, 1000, dan 1250 mg/kgBB meningkat secara signifikan dibanding kelompok kontrol negatif. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa edamame terfermentasi dapat memengaruhi kadar MDA dengan cara meningkatkan kadarnya pada tikus model *menopause*. Saran dari penelitian ini yaitu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh fitoestrogen edamame terfermentasi terhadap kadar MDA tikus model *menopause* dengan jarak waktu antara ovariectomi dan perlakuan lebih lama untuk mengondisikan tikus dalam keadaan membutuhkan estrogen dan diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor yang dapat memengaruhi aktivitas estrogenik edamame terhadap kadar MDA.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Peran Edamame (*Glycine max* (L.) Merril) Terfermentasi dalam Memengaruhi Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus (*Rattus novergicus*) Model *Menopause*”. Penyusunan skripsi ini untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Dalam penyusunan skripsi, penulis tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya yang membuat saya tidak pernah berhenti bersyukur;
2. abi saya, Ardianto Agus S. P., dan umi saya, Haris Mastuti M., serta adik-adik saya yang selalu mencintai, mendoakan, dan mendukung penulis baik secara moral maupun material;
3. dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech selaku dosen pembimbing utama, Bu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing anggota, dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed selaku dosen penguji utama dan dr. Ulfa Elfiah, M.Kes.,Sp.BP-RE selaku dosen penguji anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. rekan-rekan penelitian, Laras Sri Salisna M., Siti Horrimatul F., M. Kholilur Rohman, Dinda Rizqiyah M., dan Livia Primarahayu atas kerjasama dan dukungan yang diberikan kepada penulis selama penelitian;
5. sahabat-sahabat saya, Adinningtyas Intansari, Fatihah Mardiana, Indah Permata S., Laila Rizqi K., Astri Mutia S., dan Ika Aulia K. yang selalu mendukung dan membantu saya;
6. teman-teman lomba saya, Nurin Kamila, Rezza Putri M., Khanif Muflikhatun, dan Nadia Jean R. atas kerjasama dan ilmunya selama mengikuti perlombaan;

7. rekan-rekan saya dalam penelitian yang lain, mbak Arifah Nur Hasanah, Marina Shobah F., Reny Ekawati, Alifia Husnun A., Ahmad Syaikudin, dan adik-adik ligamen yang ikut berpartisipasi dalam penelitian;
8. teman main saya, rekan-rekan saya di kepanitiaan dan ormawa, serta teman KKN saya;
9. rekan sejawat mahasiswa Fakultas Kedokteran angkatan 2015 atas kebersamaan dan persaudaraannya;
10. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember,  
Penulis

Azizah Mursyidati N.  
152010101029

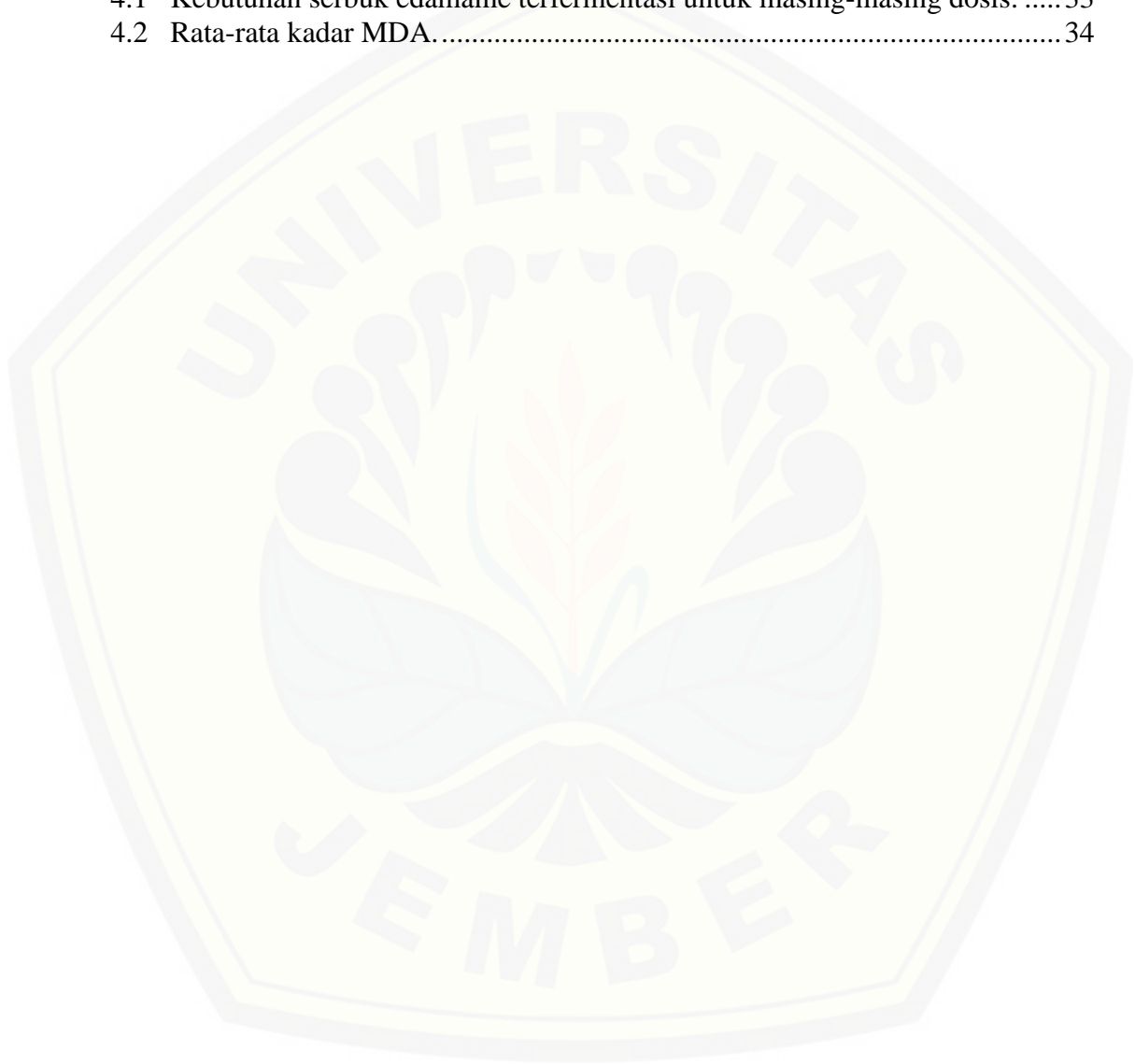
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Menopause</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2 Radikal Bebas</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3 Malondialdehid</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4 Edamame</b> .....	<b>11</b>
2.2.1 Taksonomi .....	12
2.2.2 Morfologi .....	12
2.2.3 Kandungan .....	12
2.2.4 Edamame Terfermentasi .....	13
<b>2.5 Isoflavon</b> .....	<b>14</b>
<b>2.6 Kerangka Konseptual</b> .....	<b>18</b>
<b>2.7 Hipotesis</b> .....	<b>19</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	<b>20</b>
3.3.1 Populasi .....	20
3.3.2 Sampel .....	20
3.3.3 Besar Sampel .....	21
<b>3.4 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	<b>22</b>
<b>3.5 Variabel Penelitian</b> .....	<b>22</b>
3.5.1 Variabel Bebas.....	22

3.5.2 Variabel Terikat .....	22
3.5.3 Variabel Terkendali .....	23
<b>3.6 Definisi Operasional .....</b>	<b>23</b>
3.6.1 Edamame .....	23
3.6.2 Fermentasi .....	23
3.6.3 MDA .....	23
<b>3.7 Alat dan Bahan .....</b>	<b>24</b>
3.7.1 Alat Penelitian .....	24
3.7.2 Bahan Penelitian .....	24
<b>3.8 Prosedur Penelitian. ....</b>	<b>24</b>
3.8.1 Etik Penelitian.....	24
3.8.2 Peremajaan Isolat <i>A. oryzae</i> dan <i>R. oligosporus</i> .....	25
3.8.3 Pembuatan Suspensi Spora Kombinasi <i>A. oryzae</i> dan <i>R. oligosporus</i> .....	25
3.8.4 Perhitungan Kepadatan Spora .....	25
3.8.5 Preparasi Edamame Terfermentasi .....	27
3.8.6 Adaptasi Hewan Coba .....	28
3.8.7 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	28
3.8.8 Ovariektomi .....	28
3.8.9 Terminasi .....	29
3.8.10 Pengukuran MDA Serum .....	29
<b>3.9 Analisis Data Penelitian. ....</b>	<b>30</b>
<b>3.10 Alur Penelitian. ....</b>	<b>31</b>
3.10.1 Alur Pembuatan Edamame Terfermentasi.....	31
3.10.2 Alur Perlakuan Hewan Coba. ....	32
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
<b>4.1 Hasil .....</b>	<b>33</b>
4.1.1 Pembuatan Edamame Terfermentasi .....	33
4.1.2 Pengukuran MDA.....	33
<b>4.2 Pembahasan. ....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b>	
<b>5.1 Kesimpulan. ....</b>	<b>38</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>38</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>46</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Biomarker peroksidasi lipid dan penyakitnya.....	9
2.2 Kandungan dalam 100 gram kedelai edamame.....	14
2.3 Kandungan isoflavon dalam berbagai sumber isoflavon.....	17
4.1 Kebutuhan serbuk edamame terfermentasi untuk masing-masing dosis. ....	33
4.2 Rata-rata kadar MDA.....	34

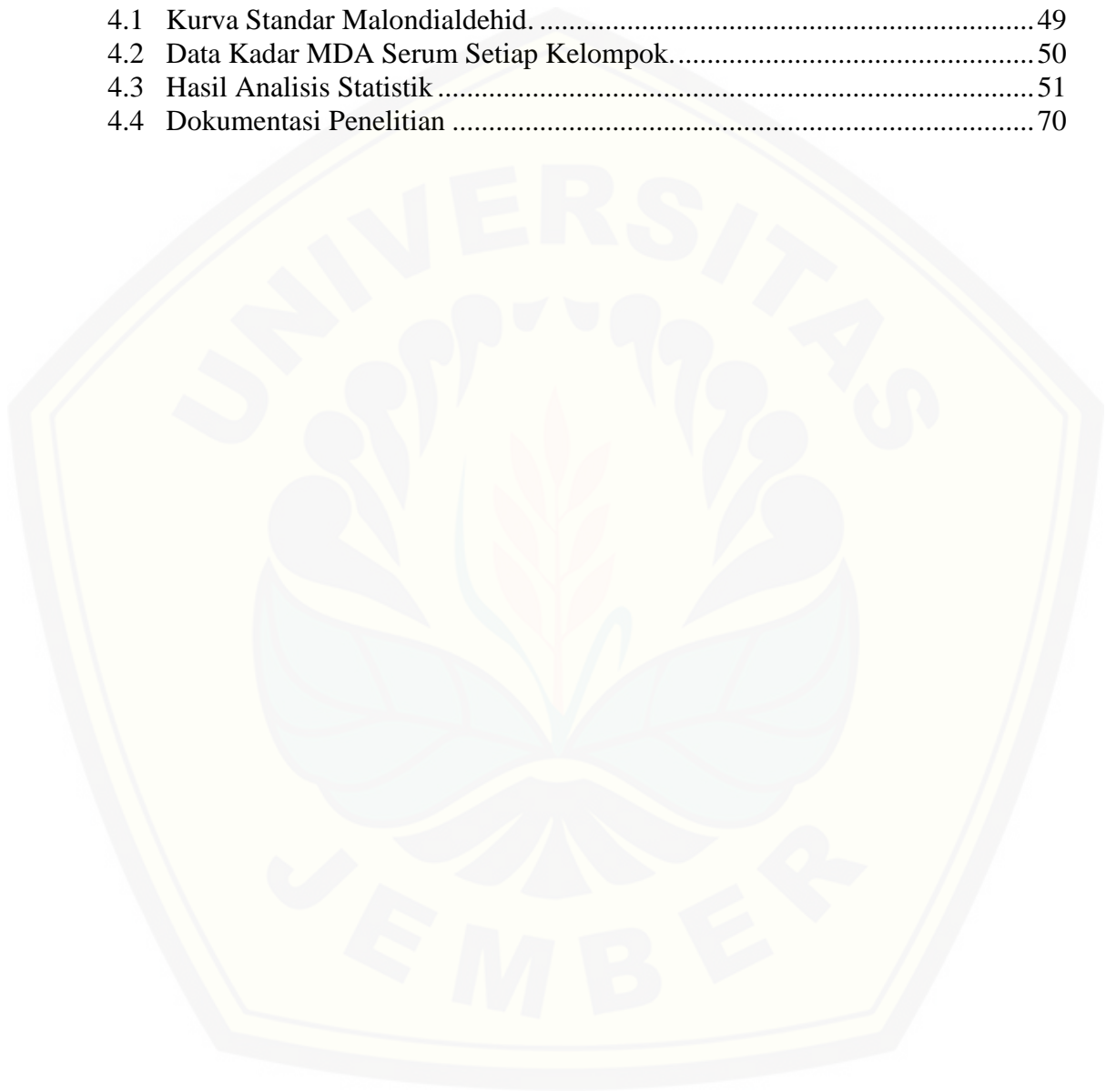


**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur kimia MDA .....	10
2.2 Biji edamame. ....	13
2.3 Struktur kimia glikosida.....	15
2.4 Kerangka konseptual.....	18
3.1 Skema penelitian .....	21
3.2 Daerah hitung hemositometer <i>improved neubauer</i> .....	27
3.3 Cara perhitungan spora .....	27
3.4 Alur pembuatan edamame terfermentasi .....	31
3.5 Alur perlakuan hewan coba.....	32
4.1 Histogram rata-rata kadar MDA serum.....	35

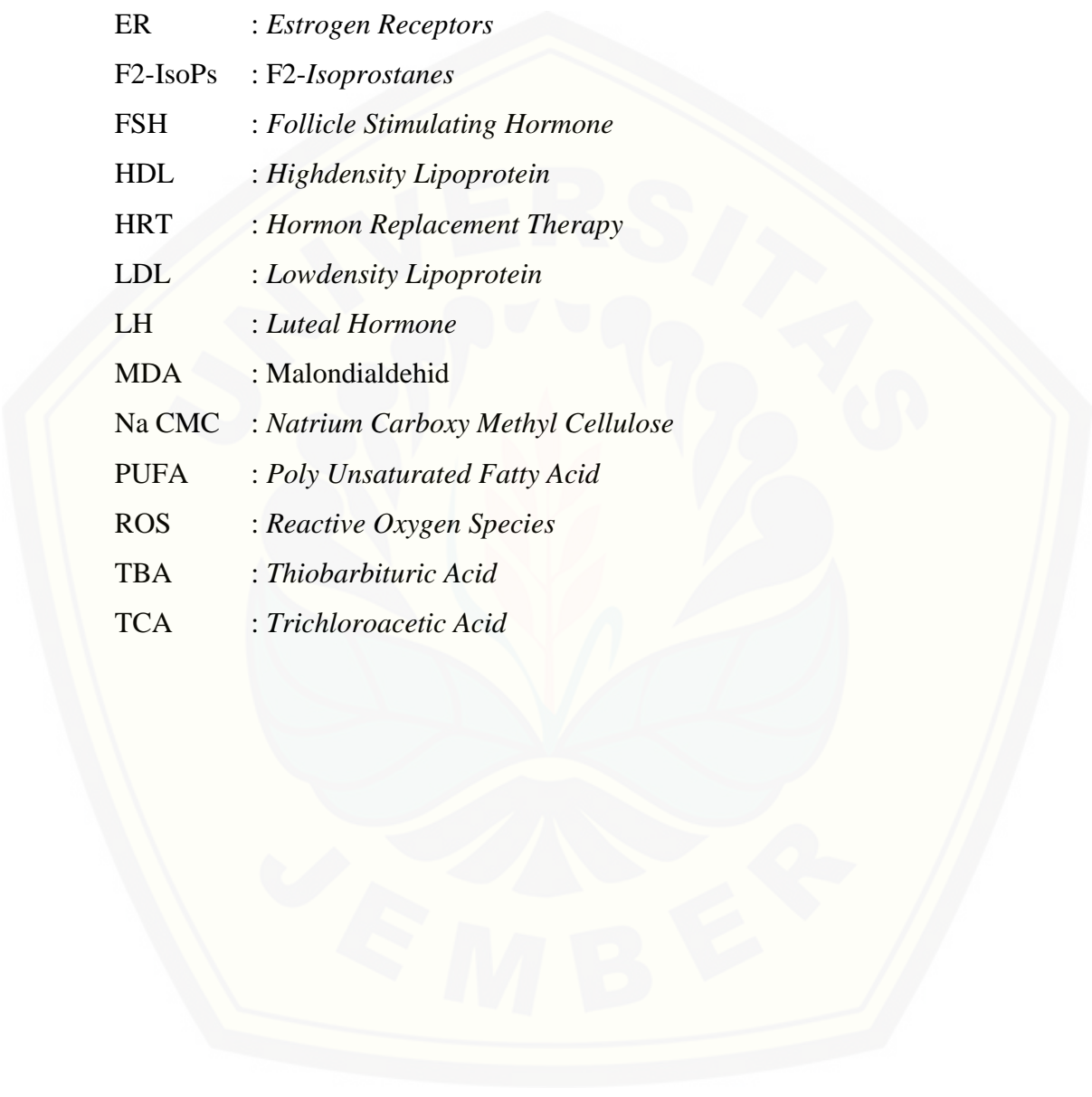
**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Determinasi Edamame .....	46
3.2 Etik Penelitian .....	48
4.1 Kurva Standar Malondialdehid .....	49
4.2 Data Kadar MDA Serum Setiap Kelompok .....	50
4.3 Hasil Analisis Statistik .....	51
4.4 Dokumentasi Penelitian .....	70





**DAFTAR SINGKATAN**



4-HNE	: <i>4-Hydroxynonenal</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ER	: <i>Estrogen Receptors</i>
F2-IsoPs	: <i>F2-Isoprostanes</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
HDL	: <i>Highdensity Lipoprotein</i>
HRT	: <i>Hormon Replacement Therapy</i>
LDL	: <i>Lowdensity Lipoprotein</i>
LH	: <i>Luteal Hormone</i>
MDA	: <i>Malondialdehyd</i>
Na CMC	: <i>Natrium Carboxy Methyl Cellulose</i>
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBA	: <i>Thiobarbituric Acid</i>
TCA	: <i>Trichloroacetic Acid</i>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Menopause* merupakan kegagalan ovarium dalam memproduksi estrogen secara progresif sehingga tidak terjadi menstruasi selama 12 bulan (Ginzburg *et al.*, 2011). Produksi estrogen penting bagi wanita karena berfungsi untuk pertumbuhan sel-sel yang berperan dalam perkembangan seks sekunder, menghambat aktivitas osteoklastik pada tulang, serta mengatur integritas dan ketebalan pembuluh darah (Guyton dan Hall, 2014). Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) 2016 dalam Oviani 2018, jumlah wanita di Indonesia yang memasuki masa *premenopause* sebanyak 17,21 juta jiwa dan *menopause* sebanyak 21,22 juta jiwa pada tahun 2015. Jumlah tersebut meningkat dari tahun 2009 yaitu sebanyak 5.320.000 wanita (BPS 2009 dalam Syalfina 2017).

Sebesar 75% wanita *menopause* mengalami gangguan akibat kekurangan estrogen, sedangkan 25% lainnya tidak menganggap hal tersebut sebagai suatu gangguan (Aprillia dan Puspitasari, 2007). Gangguan yang dialami wanita *menopause* yaitu *hot flashes*, dispnea, ansietas, penurunan kekuatan tulang, vagina kering, dan sulit tidur (Guyton dan Hall, 2014; Kokcu *et al.*, 2015; Syalfina, 2017). Selain itu, kondisi estrogen yang terlalu rendah bersifat prooksidan yang akan mengganggu keseimbangan radikal bebas dan antioksidan (Mallick *et al.*, 2015). Ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan dapat meningkatkan risiko penyakit degeneratif, seperti penyakit jantung, kanker, dan osteoporosis (Cervellati *et al.*, 2013; Zalukhu *et al.*, 2016). Penyakit Jantung Koroner (PJK) banyak terjadi pada wanita *menopause* dengan risiko 1,5 kali dibanding wanita yang belum *menopause* (Oemiyati dan Rustika, 2015). Prevalensi kanker meningkat mulai usia 55-64 tahun dengan persentase sebesar 3,2%, 65-74 tahun sebesar 3,9%, dan  $\geq 75$  tahun sebesar 5% pada tahun 2013. Sebesar 70% kanker tersebut diakibatkan oleh kondisi *menopause*. Risiko osteoporosis pada wanita empat kali lebih tinggi dari pria akibat penurunan hormon estrogen pada wanita saat *menopause*. Osteoporosis

terjadi pada satu dari empat wanita di Indonesia pada tahun 2013 dengan rentang usia 50-80 tahun (Kemenkes RI, 2014).

Akumulasi radikal bebas dalam tubuh banyak terjadi pada lansia akibat paparan sejak awal kehidupan dan jumlahnya meningkat pada kondisi estrogen yang rendah (Mallick *et al.*, 2015; Zalukhu *et al.*, 2016). Radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif dengan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid (Repetto *et al.*, 2012). Peroksidasi lipid terjadi karena struktur radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) non-radikal yang belum stabil akan mencari pasangan elektron lainnya dengan memecah asam lemak tidak jenuh atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) dari membran sel dan lipoprotein plasma. Proses tersebut akan menghasilkan malondialdehid (MDA), *F2-isoprostanes* (F2-IsoPs), *4-hydroxynonenal* (4-HNE), dan *acrolein* (Frijhoff *et al.*, 2015). MDA merupakan hasil yang paling mudah diukur, tidak membutuhkan banyak biaya, dan waktu yang diperlukan cukup singkat (Grotto *et al.*, 2009). MDA juga bersifat paling mutagenik terutama terhadap gen M1dG sehingga dapat menyebabkan kanker (Maddukuri *et al.*, 2010; Ayala *et al.*, 2014).

Terapi hormon banyak digunakan oleh wanita *menopause* karena keluhan yang dialami selama *menopause* disebabkan oleh kurangnya estrogen. Selain itu, pemberian *Hormon Replacement Therapy* (HRT), termasuk terapi hormon estrogen, dapat mengurangi stres oksidatif. Namun, terapi HRT membutuhkan biaya yang banyak, sulit didapatkan karena memerlukan resep dokter, dan dapat menimbulkan efek samping seperti kanker payudara (Suparman, 2014). Fitoestrogen memiliki kerja yang mirip dengan hormon estrogen dan mampu mengurangi stres oksidatif pada wanita *menopause* (Mallick *et al.*, 2015).

Edamame (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan produk unggulan Jember yang memiliki kandungan fitoestrogen (Setiawan, 2014; Wojciak-Kosior *et al.*, 2016). Edamame diproduksi sebesar 27.732 ton pada tahun 2013 (Wardani, 2015). Edamame memiliki potensi sebagai pengganti estrogen pada wanita *menopause* karena mengandung senyawa isoflavon dalam bentuk aglikon, glikosida, asetilglikosida, dan malonilglikosida (Huang *et al.*, 2010). Senyawa isoflavon yang utama pada edamame ialah bentuk glikosida, akan tetapi bentuk glikosida tidak

dapat diserap oleh tubuh sehingga perlu diubah menjadi bentuk aglikon oleh proses hidrolisis enzim  $\beta$ -glucosidase selama fermentasi (Kuligowski *et al.*, 2016). Senyawa glikosida memiliki beberapa bentuk, yaitu genistein, daidzein, dan glycitein (Zaheer dan Akhtar, 2017). Menurut Naufalia (2018), edamame terfermentasi *Rhizopus oligosporus* memiliki kadar daidzein yang tidak lebih tinggi dari edamame non-fermentasi. Penelitian lain melakukan kombinasi *Aspergillus oryzae* dan *R. oligosporus* memiliki hasil yang baik dalam meningkatkan kadar daidzein sebesar  $0,0354 \pm 1,49 \times 10^{-3}$  % (b/b) menjadi  $0,0618 \pm 10,64 \times 10^{-3}$  % (b/b) dibanding edamame non-fermentasi (Imansari, 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kedelai yang difermentasi oleh *Rhizopus spp.* dapat menurunkan kadar MDA serum pada tikus dengan stres oksidatif akibat aktivitas fisik (Harun *et al.*, 2017).

Berdasarkan uraian tersebut, terdapat potensi senyawa isoflavon pada edamame terfermentasi *A. oryzae* dan *R. oligosporus* sebagai sumber estrogen tambahan untuk *menopause*. Kombinasi jamur tersebut bertujuan untuk mendapatkan hasil fermentasi yang baik dan optimal. Pada penelitian ini, digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang diovariectomi sebagai model *menopause*. Penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan nilai jual edamame. Penulis dalam hal ini ingin meneliti pengaruh fitoestrogen edamame terfermentasi terhadap kadar MDA tikus model *menopause*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah pada penelitian ini ialah apakah terdapat pengaruh edamame terfermentasi terhadap kadar MDA serum pada tikus model *menopause*?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui pengaruh edamame terfermentasi terhadap kadar MDA serum pada tikus model *menopause*.



#### 1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini ialah sebagai berikut.

a. Manfaat bagi Peneliti

Manfaat bagi peneliti ialah menambah wawasan pengetahuan dan pengalaman dalam penelitian pengaruh fitoestrogen edamame terfermentasi terhadap kadar MDA pada tikus model *menopause*.

b. Manfaat bagi Pengambil Kebijakan

Manfaat bagi pengambil kebijakan ialah dapat dikembangkannya olahan edamame sehingga akan meningkatkan nilai jual edamame sebagai komoditas lokal unggulan Kabupaten Jember.

c. Manfaat bagi Institusi

Manfaat bagi institusi ialah sebagai dasar penelitian selanjutnya mengenai pengaruh fitoestrogen edamame terhadap kadar MDA.

d. Manfaat bagi Masyarakat

Manfaat bagi masyarakat ialah menambah pengetahuan masyarakat mengenai pengaruh fitoestrogen edamame terfermentasi terhadap kadar MDA pada *menopause* dan dapat dimanfaatkan edamame terfermentasi untuk mencegah penyakit degeneratif secara dini pada wania *menopause*.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Menopause

*Menopause* merupakan keadaan tidak terjadinya menstruasi selama satu tahun akibat kegagalan ovarium dalam memproduksi estrogen secara progresif (Ginzburg *et al.*, 2011). Siklus menstruasi tidak teratur dan ovulasi sering tidak terjadi pada usia 40-50 tahun. Siklus tersebut berhenti setelah beberapa bulan hingga beberapa tahun dan hormon estrogen menjadi berkurang (Guyton dan Hall, 2014).

Ovarium menghasilkan 400 folikel primordial yang tumbuh menjadi folikel matang dan berovulasi. Folikel primordial yang dapat dirangsang oleh *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteal Hormone* (LH) akan berkurang mulai usia 45 tahun sehingga produksi estrogen dari ovarium menurun. Apabila produksi estrogen menurun maka estrogen tidak dapat menghambat produksi FSH dan LH yang berlebih (Guyton dan Hall, 2014). Hal tersebut menjadi karakteristik wanita *menopause*, yaitu hormon FSH dan LH meningkat, akan tetapi terjadi penurunan pada hormon estrogen (Murray *et al.*, 2009).

Kondisi *menopause* dapat disebabkan oleh *natural menopause* atau *surgical menopause*. *Natural menopause* terjadi pada wanita dengan rata-rata usia 51 tahun dan ditandai dengan masa transisi yang disebut dengan *perimenopause*. *Perimenopause* diawali dengan perubahan aliran menstruasi dan panjang siklus menstruasi (Rodriguez dan Shoupe, 2015). Tahap akhir dari *perimenopause* terjadi 4 tahun sebelum menstruasi terakhir, meliputi siklus menstruasi yang tidak teratur, penurunan estradiol, *hot flash*, vagina kering, dan *postmenopause* dini (Kokcu *et al.*, 2015; Rodriguez dan Shoupe, 2015). *Natural menopause* sebelum usia 40 tahun termasuk abnormal dan disebut dengan *premature menopause*. *Premature menopause* disebabkan oleh insufisiensi ovarium primer atau kegagalan ovarium prematur. Kegagalan ovarium tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu radiasi, kemoterapi, penyakit autoimun, dan idiopatik (Hamoda *et al.*, 2017). Operasi pengangkatan kedua ovarium sebelum usia *menopause* disebut *surgical*

*menopause*. *Surgical menopause* dapat terjadi akibat histerektomi atau pembedahan pelvis (Rodriguez dan Shoupe, 2015).

Penurunan hormon estrogen pada wanita *menopause* dapat menyebabkan perubahan fisiologis tubuh. Gejala yang ditimbulkan meliputi *hot flashes*, dispnea, gelisah, letih, ansietas, dan kalsifikasi mineral tulang di seluruh tubuh (Guyton dan Hall, 2014). *Hot flashes* merupakan keluhan utama pada wanita dengan *natural menopause* atau *surgical menopause*. Keluhan yang ditimbulkan yaitu sensasi hangat dari bagian atas kepala hingga kaki dan diikuti dengan menggigil. Faktor risiko *hot flashes* terbagi menjadi dua, yaitu faktor yang dapat dimodifikasi dan tidak dapat dimodifikasi. Faktor risiko yang dapat dimodifikasi meliputi merokok, indeks massa tubuh  $> 30 \text{ kg/m}^2$ , dan kurang olahraga. Faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi antara lain riwayat ibu, *menopause* pada usia  $< 52$  tahun, *surgical menopause*, dan kemoterapi (Ginzburg *et al.*, 2011). Kualitas tidur pada wanita *menopause* menjadi lebih buruk di awal dan akhir menstruasi. Gejala vasomotor juga terdapat pada seluruh masa transisi *menopause*. Profil lipid seperti kolesterol total, trigliserida, dan *lowdensity lipoprotein* (LDL) meningkat pada wanita *menopause* sehingga terjadi peningkatan risiko penyakit kardiovaskuler (Santoro dan Randolph, 2011). Risiko penyakit kardiovaskuler juga didukung oleh peningkatan peroksidasi lipid pada wanita *postmenopause* karena kadar estrogen yang menurun. Kadar estrogen yang terlalu rendah bersifat prooksidan yang akan meningkatkan konsentrasi sitokin proinflamasi dan produk lipid peroksida (Mallick *et al.*, 2015). Peroksidasi lipid diinduksi oleh oksidan berupa radikal bebas yang berlebih dalam tubuh yang dapat mengakibatkan perubahan struktur protein (Repetto *et al.*, 2012).

## 2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk dari ROS yang memiliki elektron tunggal tidak berpasangan di lapisan terluarnya. ROS dikelompokkan menjadi dua sesuai sifat molekulnya, yaitu radikal oksigen bebas dan ROS non-radikal. Oksigen radikal meliputi radikal organik, superoksida, radikal hidroksil, *peroxyl radicals*, oksida nitrat, *alkoxyl radicals*, *thiyl radicals*, *thiyl peroxyl*



*radicals*, disulfida, dan radikal sulfonil. ROS non-radikal meliputi ozon/trioksigen, *singlet oxygen*, hidrogen peroksida, hidroperoksida organik, hipoklorida, lipid peroksida, peroksinitrit, anion nitrokarbonat, anion nitrosoperoksibonat, nitronium, dan dinitrogen dioksida (Liou dan Storz, 2010).

Akumulasi radikal bebas banyak terdapat pada lansia akibat paparan sejak awal kehidupan (Zalukhu *et al.*, 2016). Sumber radikal bebas tersebut berasal dari dalam tubuh (intrinsik) maupun luar tubuh (ekstrinsik). Radikal bebas secara intrinsik dihasilkan oleh peningkatan aktivitas metabolik, peningkatan sinyal reseptor seluler, aktivitas onkogen, aktivitas peroksisom, peningkatan aktivitas oksidase, gangguan homeostasis, dan disfungsi mitokondria. Selain itu, radikal bebas secara fisiologis diproduksi oleh tubuh sebagai akibat dari metabolisme sel aerob atau metabolisme xenobiotik (Liou dan Storz, 2010). Organel sel yang memproduksi radikal bebas yaitu mitokondria karena mitokondria membutuhkan oksigen dalam metabolisme oksidatif. Namun, radikal bebas dapat merusak *deoxyribonucleic acid* mitokondria (mtDNA) sehingga terjadi mutasi mtDNA (Cabrera, 2016). Mutasi tersebut menyebabkan fungsi normal mitokondria hilang dan semakin meningkatkan produksi radikal bebas. Radikal bebas secara normal diproduksi oleh tubuh sebesar 2,5% dari total kebutuhan oksigen dalam sehari. Pengaturan jumlah radikal bebas diimbangi dengan produksi antioksidan. Apabila jumlah radikal bebas dan antioksidan tidak seimbang maka akan menyebabkan stres oksidatif yang berakhir pada kerusakan sel. Kelebihan jumlah radikal bebas dapat disebabkan oleh beberapa faktor ekstrinsik, seperti radiasi sinar rontgen, sinar ultraviolet, obat-obat tertentu, polutan, dan lain-lain (Widayati, 2018).

Beberapa jenis radikal bebas yang memiliki efek paling berbahaya yaitu hidroksil (OH) dan superoksida (O<sup>-</sup>). Radiasi sinar rontgen dan ultraviolet dapat memecah molekul air menjadi OH. Selain itu, ion logam seperti Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>+</sup>, dan Co<sup>2+</sup> dapat bereaksi dengan oksigen atau hidrogen peroksida, kemudian menghasilkan OH. Molekul OH tersebut bersifat tidak stabil sehingga mudah berikatan dengan elektron dari molekul lain (Liou dan Storz, 2010). Ikatan antar molekul yang dihasilkan dapat merusak DNA, lipid, dan protein. Kerusakan DNA disebabkan oleh oksidasi DNA akibat reaksi radikal bebas terhadap basa purin dan pirimidin.

Reaksi tersebut akan menghasilkan 7,8-dihidroksi-8-okso-2'-*deoxyguanosine* (8-oxodG), 8-*Hydroxydeoxyguanosine* (8-OHdG), 5-*chlorocytosine*, dan 5-*chlorouracil* (Marrocco *et al.*, 2017). Kerusakan DNA yang terjadi pada sel germinal dapat diturunkan dan kerusakan DNA pada sel somatik akan mengarah pada keganasan (Widayati, 2018). Radikal bebas juga menyebabkan oksidasi protein yang akan mengakibatkan modifikasi pada asam amino, pemotongan rantai polipeptida, dan pembentukan agregat protein silang. Apabila struktur protein tidak dapat diperbaiki maka akan mempengaruhi sifat fisikokimianya. Protein tersebut dapat menjadi toksik bagi tubuh. Hasil yang didapatkan dari oksidasi protein yaitu karbonil, *advanced peroxidation end products* (ALEs), *advanced glycation end products* (AGEs), *advanced oxidation protein products* (AOPP), dan 3-nitrotyrosine (3-NO-Tyr) (Marrocco *et al.*, 2017).

Kondisi estrogen yang terlalu rendah, seperti pada *menopause*, dapat bersifat prooksidan yang akan mengganggu keseimbangan radikal bebas dan antioksidan (Mallick *et al.*, 2015). Ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif dan meningkatkan risiko penyakit degeneratif pada wanita *menopause*, seperti penyakit jantung, kanker, serta osteoporosis (Cervellati *et al.*, 2013; Zalukhu *et al.*, 2016). Stres oksidatif disebabkan oleh reaksi radikal bebas dengan PUFA dari membran sel dan plasma lipoprotein. Reaksi tersebut akan menghasilkan lipid peroksida yang dapat mengubah struktur protein dan asam nukleat (Repetto *et al.*, 2012). Lipid peroksida bersifat tidak stabil dan dapat diuraikan menjadi beberapa senyawa kompleks, yaitu F2-IsoPs, 4-HNE, *acrolein*, serta MDA (Frijhoff *et al.*, 2015). Penentuan biomarker peroksidasi lipid akibat radikal bebas yang diukur bergantung pada penyakit yang akan diperiksa, seperti pada Tabel 2.1 (Frijhoff *et al.*, 2015). MDA merupakan biomarker yang paling mudah diukur, tidak membutuhkan banyak biaya, dan waktu yang diperlukan cukup singkat (Grotto *et al.*, 2009). Peningkatan MDA serum banyak terjadi pada wanita *postmenopause* akibat kadar estrogen yang terlalu rendah dalam mengontrol gen *ribonucleic acid messenger* (mRNA) antioksidan (Bellanti *et al.*, 2013; Mallick *et al.*, 2015).

Tabel 2.1 Biomarker peroksidasi lipid dan penyakitnya

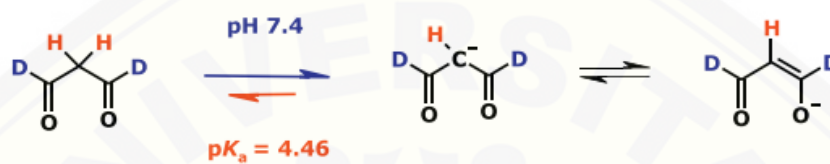
No.	Biomarker	Penyakit
1.	F2-IsoPs	Penyakit jantung koroner Hiperkolesterolemia Hipertensi Kanker paru-paru Kanker hepar <i>Crohn's disease</i> <i>Down syndrome</i>
2.	4-HNE	Gangguan mental Stroke iskemik Ulserasi peptikum pada duodenum Otosklerosis Obesitas Kanker otak <i>Alzheimer's disease</i>
3.	<i>Acrolein</i>	Kanker kolon Kanker prostat
4.	MDA	Infark miokard akut Kanker payudara <i>Parkinson's disease</i> Penyakit metabolik akibat defisiensi suatu hormon

Sumber: Frijhoff *et al.*, 2015.

### 2.3 Malondialdehid

Malondialdehid merupakan hasil akhir dari dekomposisi asam arakidonat dan PUFA melalui proses enzimatik atau nonenzimatik. Proses enzimatik menghasilkan MDA sebagai produk sampingan selama biosintesis *thromboxane* A<sub>2</sub>. Proses nonenzimatik melalui siklusasi hidroperoksida yang akan menghasilkan radikal bebas baru (Ayala *et al.*, 2014). Reaksi radikal oksigen pada radikal bebas akan menghasilkan MDA sebagai indikator stres oksidatif dengan residu PUFA di membran fosfolipid (Banke *et al.*, 2014). MDA digunakan sebagai biomarker stres oksidatif karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu pembentukan MDA meningkat sesuai dengan terjadinya stres oksidatif, produk spesifik dari peroksidasi lipid, kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode yang tersedia, bersifat stabil, pengukurannya tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak dalam diet, serta dapat dideteksi pada seluruh jaringan tubuh dan cairan biologis (Adiswastika, 2013).

MDA memiliki struktur yang terdiri dari tiga karbon aldehid (OHC-CH<sub>2</sub>-CHO) seperti pada Gambar 2.1 dengan berat molekul rendah yang berfungsi sebagai penanda peroksidasi lipid (Grotto *et al.*, 2009). MDA berfungsi sebagai pemberi sinyal dan pengatur sekresi *glucose-stimulated insulin secretion* (GSIS). Selain itu, MDA menginduksi ekspresi kolagen dengan meningkatkan ekspresi gen *Specificity Protein-1* (Sp1) dan Sp3 di sel hepar (Ayala *et al.*, 2014). MDA juga menunjukkan adanya kerusakan protein dan DNA (Banke *et al.*, 2014).



Gambar 2.1 Struktur kimia MDA (Tsikas *et al.*, 2016)

Pemeriksaan MDA dapat dilakukan melalui beberapa metode, yaitu MDA-*thiobarbituric acid* (TBA), *high performance liquid chromatography* (HPLC), dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Marrocco *et al.*, 2017). Metode yang banyak digunakan ialah MDA-TBA karena mudah dilakukan dan tidak membutuhkan biaya yang besar (Grotto *et al.*, 2009). Metode tersebut memiliki prinsip kerja kolorimetri yang akan menghasilkan perubahan warna merah muda dan absorbansinya diukur dengan spektrofotometer (Marrocco *et al.*, 2017). Penurunan kadar MDA secara signifikan dapat diidentifikasi pada wanita dengan penyakit diabetes dan kelainan hormonal (Farhan *et al.*, 2016). Peningkatan kadar MDA disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu penurunan kadar 17 $\beta$ -estradiol serum (Widowati *et al.*, 2018), aktivitas fisik atau olahraga (Harun dkk., 2017), penggunaan pestisida (Banke *et al.*, 2014), abortus spontan (Adiswastika, 2013), dan kondisi osteoporosis pada wanita *postmenopause* (Cervellati *et al.*, 2013). Kadar MDA serum pada wanita *menopause* lebih tinggi akibat penurunan estrogen yang menghasilkan ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan antioksidan. Jumlah radikal bebas dan antioksidan yang tidak seimbang menyebabkan stres oksidatif yang dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler (Mallick *et al.*, 2015). Kejadian stres oksidatif pada wanita *menopause* tersebut dapat dikurangi

dengan pemberian estrogen tambahan (Suparman, 2014). Edamame diketahui memiliki efek estrogenik yang dapat memperbaiki kekurangan kadar estrogen dalam tubuh (Wojciak-Kosior *et al.*, 2016).

#### 2.4 Edamame

Edamame berasal dari bahasa Jepang, yaitu *eda* berarti cabang dan *mame* adalah kacang. Benih edamame berasal dari Jepang dan banyak dikonsumsi oleh orang Asia. Edamame di Eropa lebih dikenal dengan nama *vegetable soybean* atau *green soybean* atau *sweet soybean* dan disebut *mou dou* di Cina. Varietas edamame yang berkembang di Indonesia yaitu *Ocunami*, *Tsurunoko*, *Tsurumidori*, *Taiso*, dan *Ryokkoh* yang merupakan tipe determinit. Edamame memiliki berat biji sebesar 30-50 g/100 biji sehingga berbeda dengan kedelai biasa (*grain soybean*) yang memiliki berat 11-15 g/100 biji. Edamame dipanen dalam bentuk *Pods* dan dipasarkan dalam bentuk segar (*fresh edamame*) atau dalam keadaan beku (*frozen edamame*) (Soewanto *et al.*, 2016).

Edamame dibagi menjadi dua tipe sesuai masa panennya, yaitu tipe musim panas dan tipe musim gugur. Mayoritas varietas edamame yang memiliki tipe musim panas bersifat sensitif terhadap suhu. Sebagian varietas edamame yang lain memiliki tipe musim gugur yang bersifat sensitif terhadap waktu pertumbuhan. Edamame tipe musim panas ditanam saat musim semi dan matang setelah 75-100 hari. Edamame tipe musim gugur ditanam pada awal musim panas dan matang setelah 105 hari (Konovsky *et al.*, 2013).

### 2.5.1 Taksonomi

Taksonomi edamame yaitu sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Fabales  
Famili : Fabaceae  
Genus : *Glycine* Willd.  
Species : *Glycine max* (L.) Merrill (USDA, 2011).

### 2.5.2 Morfologi

Tumbuhan edamame memiliki morfologi yang berbeda-beda bergantung pada varietas dan lingkungan hidupnya. pH tanah dapat memengaruhi pertumbuhan edamame. pH tanah yang ideal untuk edamame yaitu pH 6 (Zhang *et al.*, 2017). Edamame tumbuh tegak dengan tinggi 30-50 cm, Edamame tumbuh tegak dengan tinggi 30-50 cm, memiliki bunga berwarna ungu atau putih, bercabang sedikit hingga banyak, dan berdaun lebat. Daun pertama yang keluar berupa daun tunggal (*unifoliolat*) di bagian atas kotiledon dan letaknya berseberangan. Daun-daun yang terbentuk berikutnya adalah daun-daun *trifoliolat*, yaitu berbentuk tiga daun (Soewanto *et al.*, 2016). Biji edamame berbentuk bulat hingga lonjong dan berwarna hijau terang kemerahan atau keabu-abuan seperti Gambar 2.2. Panjang biji edamame minimal 5 cm dengan lebar 1,4 cm dan memiliki selubung berwarna kuning atau hijau kecoklatan. Edamame memiliki hilum berwarna coklat muda atau abu-abu. Satu *pod* edamame terdiri dari 2-3 biji dengan jumlah 175 *pods* dalam 500 g edamame (Zhang *et al.*, 2017).

### 2.5.3 Kandungan

Edamame memiliki kandungan air, energi, protein, lemak, karbohidrat, serat, gula, kalsium, iron, magnesium, fosfor, potassium, sodium, zinc, vitamin, dan asam lemak (USDA, 2018). Jumlah kandungan nutrisi dalam 100 gram edamame



Gambar 2.2 Biji edamame (Naufalia, 2018)

berbeda sesuai komponen nutrisinya, seperti pada Tabel 2.2. Edamame juga memiliki aroma yang khas karena mengandung beberapa konsentrasi aromatik, meliputi *Z-3-hexenyl acetate*, *linalool*, *acetophenone*, dan *cis-jasmone* (Konovsky *et al.*, 2013). Edamame dikenal sebagai tumbuhan dengan kandungan utama isoflavon. Isoflavon pada edamame memiliki konsentrasi sebesar 48,95 mg/100 g edamame (Bhagwat dan Haytowitz, 2015). Kadar isoflavon pada edamame bervariasi, seperti varietas CSRV121 yang memiliki kandungan isoflavon tertinggi sebesar 4.778,1  $\mu\text{g/g}$  dan kandungan isoflavon terendah dimiliki oleh CS 01316 sebesar 682,4  $\mu\text{g/g}$ . Isoflavon pada kedelai dari Korea menunjukkan rata-rata konsentrasi total tertinggi dibanding Jepang dan Cina, yakni sebesar 2.252,6  $\mu\text{g/g}$  (Kim *et al.*, 2018).

#### 2.5.4 Edamame Terfermentasi

Isoflavon yang paling banyak pada edamame ialah bentuk glikosida dengan konsentrasi sebesar 1-3 mg/g kedelai (Vitale *et al.*, 2013). Isoflavon dalam bentuk glikosida tidak dapat diserap oleh tubuh sehingga perlu diubah menjadi bentuk aglikon oleh enzim  $\beta$ -glucosidase. Enzim tersebut hanya dimiliki oleh mikroflora selama proses fermentasi sehingga isoflavon aktif banyak pada edamame terfermentasi (Kuligowski *et al.*, 2016). Kedelai yang telah difermentasi lebih mudah diserap oleh tubuh karena kapang pada kedelai tersebut dapat menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna (Nurhidayah, 2017). Naufalia (2018) menyatakan bahwa kadar isoflavon dalam bentuk daidzein pada edamame yang difermentasi oleh *R. oligosporus* pada hari ketiga meningkat menjadi  $0,0613 \pm 4 \times 10^{-4}\%$ , akan tetapi

hasil tersebut tidak lebih baik dari edamame nonfermentasi dengan hasil  $0,0720 \pm 7,4 \times 10^{-3}\%$ . Kombinasi *R. oligosporus* dan *A. Oryzae* dapat meningkatkan kadar daidzein lebih tinggi, yaitu sebesar  $0,0618 \pm 10,64 \times 10^{-3}$  (b/b), dibanding edamame nonfermentasi, yaitu sebesar  $0,0354 \pm 1,49 \times 10^{-3}$  (Imansari, 2018). Namun, kadar genistein pada edamame

Tabel 2.2 Kandungan dalam 100 gram kedelai edamame

Nutrisi	Satuan	Kandungan per 100 gram
Air	g	72,77
Energi	kcal	121
Protein	g	11,91
Total Lipid	g	5,2
Karbohidrat	g	8,91
Serat	g	5,2
Total Gula	g	2,18
Kalsium (Ca)	mg	63
Iron (Fe)	mg	2,27
Magnesium (Mg)	mg	64
Fosfor (P)	mg	169
Potassium (K)	mg	436
Sodium (Na)	mg	6
Zinc (Zn)	mg	1,37
Vitamin C	mg	6,1
Thiamin	mg	0,2
Riboflavin	mg	0,155
Niacin	mg	0,915
Vitamin B-6	mg	0,1
Folat	$\mu\text{g}$	311
Vitamin A IU	IU	298
Vitamin E	mg	0,68
Vitamin K	$\mu\text{g}$	26,7
Asam Lemak ( <i>saturated</i> )	g	0,62
Asam Lemak ( <i>monounsaturated</i> )	g	1,282
Asam Lemak ( <i>polyunsaturated</i> )	g	2,156

Sumber: USDA, 2018.

terfermentasi *R. oligosporus* dan *A. Oryzae* pada hari ketiga menunjukkan hasil  $0,0106 \pm 2,38 \times 10^{-4}\%$ , tidak lebih tinggi dari edamame nonfermentasi yaitu sebesar  $0,0188 \pm 2,57 \times 10^{-4}\%$ . Hal ini disebabkan oleh konversi genistein menjadi daidzein sehingga kadar daidzein lebih banyak (Fitriah, 2018).

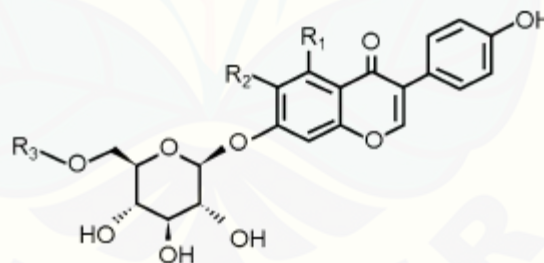
## 2.5 Isoflavon

Isoflavon merupakan bentuk utama dari fitoestrogen kedelai yang memiliki kesamaan struktur dengan  $17\beta$ -estradiol. Isoflavon berikatan dengan *estrogen*



*receptors* (ER) dan menginduksi *estrogen-like effects* sehingga memiliki aktivitas estrogenik (Vitale *et al.*, 2013). Reseptor estrogen terdiri dari dua macam, yaitu ER- $\alpha$  dan ER- $\beta$ . ER- $\alpha$  terletak di vagina, ovarium, dan payudara, sedangkan ER- $\beta$  terdapat di uterus, tulang, mukosa, otak, serta pembuluh darah (Ariyanti dan Apriliana, 2017). ER berada di dalam sitoplasma sel. Ikatan isoflavon dengan ER akan mengaktifkan kompleks hormon-reseptor yang kemudian masuk ke dalam nukleus dan mengawali transkripsi DNA. Selanjutnya, terjadi respon biologis sesuai organ sasaran (Amran *et al.*, 2012).

Isoflavon pada kedelai terdiri dari berbagai macam bentuk, yaitu aglikon, glikosida, asetilglikosida, dan malonilglikosida (Huang *et al.*, 2010). Glikosida merupakan senyawa yang paling banyak pada edamame dibanding bentuk isoflavon yang lain. Senyawa glikosida mempunyai struktur seperti Gambar 2.3 yang disintesis oleh *isoflavone synthase* (IFS) (Vitale *et al.*, 2013). Hasil dari sintesis tersebut meliputi genistein (5, 7, 4'-*trihydroxyisoflavone*) sebesar 60%, daidzein (7, 4'-*dihydroxyisoflavone*) sebesar 30%, serta *glycitein* (7, 4'-*dihydroxy-6-methoxyisoflavone*) sebesar 10% (Zaheer dan Akhtar, 2017).



Gambar 2.3 Struktur kimia glikosida (Vitale *et al.*, 2013)

Bioavailabilitas isoflavon bergantung pada struktur kimia (aglikon atau glikosida) yang memengaruhi penyerapan di lumen usus (Vitale *et al.*, 2013). Isoflavon dalam bentuk glikosida tidak dapat diserap oleh mukosa usus sehingga perlu diubah menjadi bentuk aglikon (Duenas *et al.*, 2012). Isoflavon dalam usus dimetabolisme oleh mikroflora menjadi senyawa equol (7-hydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl)-chroman) yang memiliki afinitas terhadap kedua reseptor estrogen, yaitu ER- $\alpha$  dan ER- $\beta$ . Isoflavon terdeteksi dalam plasma 30 menit setelah

mengonsumsi kedelai dengan kadar tertinggi pada satu jam pertama pasca makan. Peningkatan kadar isoflavon tersebut disebabkan oleh proporsi kecil aglikon yang diserap oleh duodenum. Ekskresi daidzein dan genistein melalui urin terjadi dalam 24 jam pertama setelah mengonsumsi kedelai (Zaheer dan Akhtar, 2017).

Fitoestrogen dapat memengaruhi beberapa organ, yaitu uterus, vagina, dan saraf. Fitoestrogen dalam bentuk isoflavon dapat meningkatkan vaskularisasi uterus, serta memengaruhi pertumbuhan globuler dan alveolar kelenjar uterus. Isoflavon menambah ketebalan dinding endometrium (Suardi, 2016). Isoflavon juga dapat mencegah atrofi vagina pada wanita *postmenopause* dengan meningkatkan *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) yang akan mengakibatkan proliferasi fibroblas. Fibroblas kemudian memicu proliferasi dan maturasi epitel, serta sintesis kolagen. Dinding vagina yang tebal dan elastis dapat mengurangi *dyspareunia* (Prasetya dan Widjayanti, 2015). Pengaruh isoflavon terhadap saraf yaitu induksi sinaptogenesis di hipokampus dan mencegah pembentukan plak beta amiloid yang memengaruhi fungsi kognisi (Kridawati, 2013). *Hot Flashes* pada *menopause* dapat dicegah melalui ikatan isoflavon dengan ER di hipotalamus yang akan mengakibatkan stimulasi termoregulator, vasodilatasi pembuluh darah, dan hambatan ekskresi keringat (Ariyanti dan Apriliana, 2017).

Isoflavon memiliki respons dalam mencegah berbagai penyakit, terutama penyakit degeneratif pada *menopause*, seperti penyakit kardiovaskuler, osteoporosis, dan kanker. Isoflavon mencegah penyakit kardiovaskuler dengan cara menghambat peroksidasi lipid melalui inhibisi produksi superoksida yang dapat meningkatkan kadar *Nitric Oxide* (NO) dan oksidasi LDL. Isoflavon juga mengurangi kadar LDL hingga 10% dari jumlah sebelumnya dan meningkatkan sejumlah kecil kadar HDL (Cavallini *et al.*, 2016). Pengaruh isoflavon pada vaskuler yaitu mencegah terbentuknya plak aterosklerosis dengan cara menghambat pembentukan trombin pada proses koagulasi, menghambat produksi endothelin-1, menghambat vasokonstriksi, dan mencegah pengendapan kolesterol pada lesi vaskuler (Ariyanti dan Apriliana, 2017; Zaheer dan Akhtar, 2017). Isoflavon mencegah osteoporosis melalui peningkatan pembentukan massa tulang yang distimulasi oleh sel-sel osteoblas. Isoflavon juga menurunkan resorpsi tulang

dengan menghambat kerja hormon paratiroid yang distimulasi oleh sel-sel osteoklas (Tit *et al.*, 2018). Isoflavon mencegah kanker dengan cara mengganggu jalur sinyal genomik dan non-genomik (NF- $\kappa$ B, PI3K/Akt atau MAPK/ERK), menginisiasi apoptosis, menghambat angiogenesis dan metastasis, menghambat biosintesis estrogen, memodulasi metabolisme estrogen, serta mengembalikan resistensi obat. Selain itu, isoflavon juga menghambat enzim progesteron 5 $\alpha$ -reduktase dan 17 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenase yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel melalui aktivitas hormon steroid (Basu dan Maier, 2018). Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh isoflavon berupa peningkatan produksi superoksida dismutase yang dapat menurunkan jumlah radikal bebas dalam tubuh (Zaheer dan Akhtar, 2017).

Kadar isoflavon pada kedelai kering lebih tinggi, yaitu sebesar 131,53 mg/100 g kedelai, dibandingkan dengan kedelai segar, yaitu sebesar 128,83 mg/100 g kedelai. Isoflavon pada edamame cukup tinggi jika dibandingkan dengan sumber isoflavon yang lain, terdapat pada Tabel 2.3 (Bhagwat dan Haytowitz, 2015).

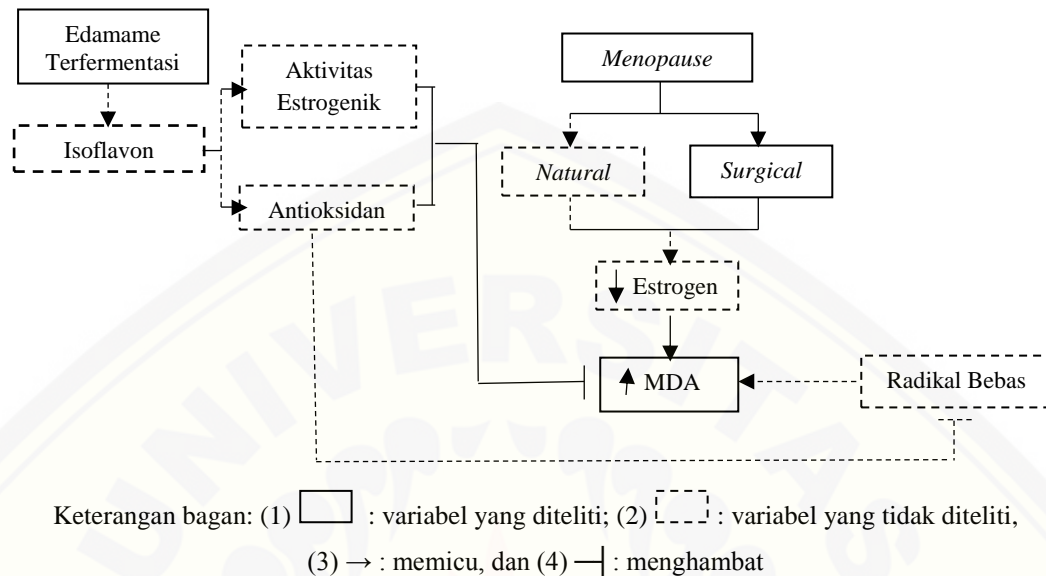
Tabel 2.3 Kandungan isoflavon dalam berbagai sumber isoflavon

No.	Sumber Isoflavon	Kadar Isoflavon (mg/100 g berat tumbuhan)
1.	Kedelai	100,93 - 128,83
2.	Edamame	48,95 - 120,94
3.	Kacang Polong	0,02
4.	Bawang Putih	0,02
5.	<i>Hazelnuts</i>	0,03
6.	Ikan Tuna	0,28
7.	Teh	0,05
8.	Kopi	0,04
9.	Anggur	0,06
10.	Kentang	0,01

Sumber: Bhagwat dan Haytowitz, 2015.

## 2.6 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual penelitian ini seperti pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Kerangka konseptual penelitian

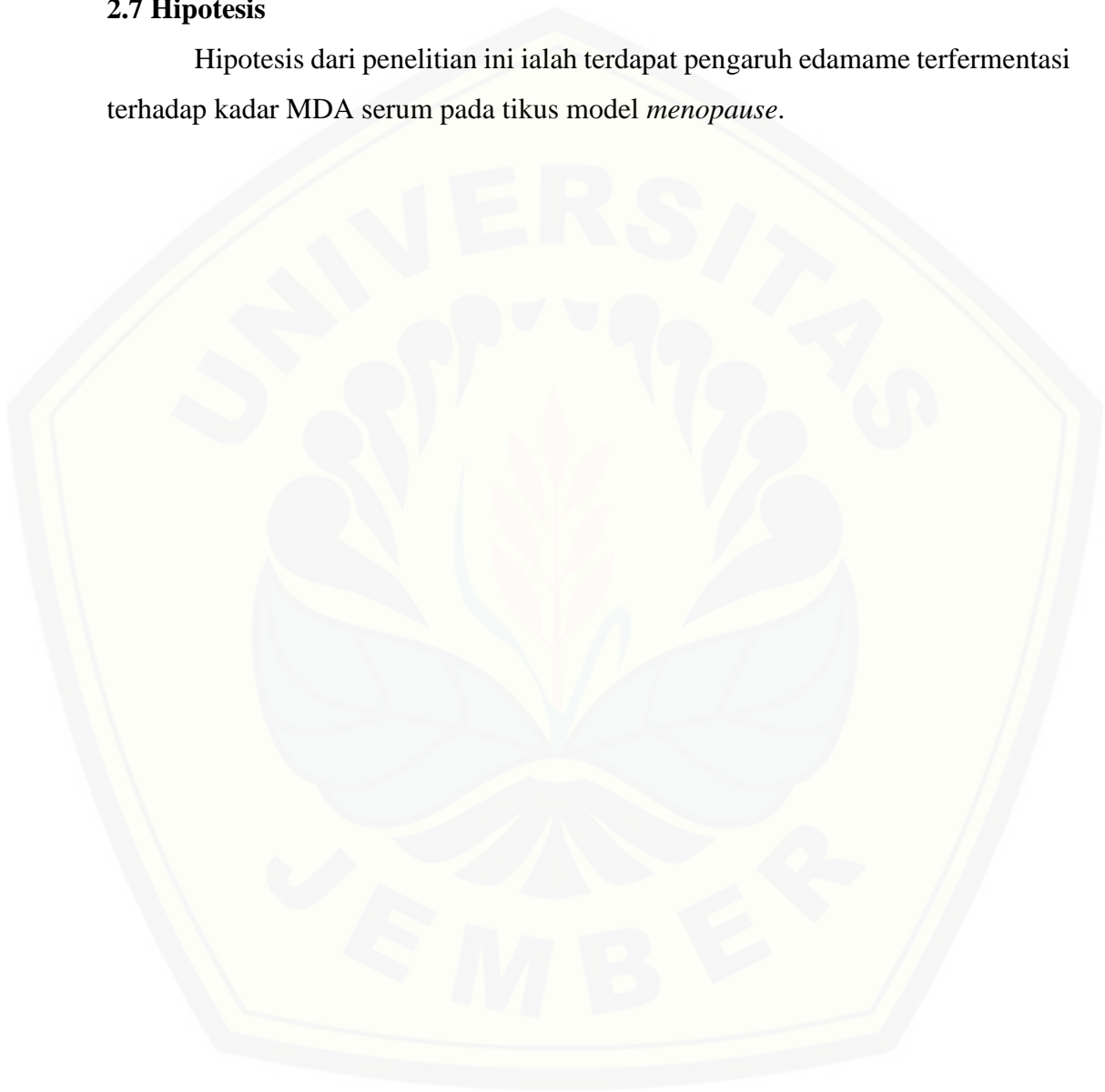
*Menopause* dibagi mejadi dua, yaitu *natural menopause* dan *surgical menopause* (Rodriguez dan Shoupe, 2015). *Natural menopause* disebabkan oleh *aging process*, idiopatik, dan lain-lain (Hamoda *et al.*, 2017). *Surgical menopause* disebabkan oleh riwayat ovariectomi, operasi pelvis, dan lain-lain (Rodriguez dan Shoupe, 2015). Kondisi *menopause* ditandai dengan penurunan estrogen yang mengontrol jalannya sinyal antioksidan dalam tubuh. Estrogen merangsang kontrol gen dari mRNA antioksidan. Kondisi *menopause* akan menyebabkan ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan dalam tubuh yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Bellanti *et al.*, 2013). Stres oksidatif ditandai dengan peningkatan kadar MDA. Radikal bebas juga dapat memengaruhi peningkatan kadar MDA akibat oksidan yang berlebih dalam tubuh (Repetto *et al.*, 2012).

Edamame terfermentasi mengandung senyawa isoflavon yang memiliki aktivitas estrogenik dan antioksidan. Isoflavon berikatan dengan reseptor estrogen sehingga dapat menggantikan kadar estrogen yang rendah dalam tubuh dan mencegah terjadinya defisiensi estrogen (Kuligowski *et al.*, 2016). Keadaan tersebut dapat mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA serum pada wanita

*menopause* karena jumlah estrogen yang dibutuhkan terpenuhi (Mallick *et al.*, 2015). Antioksidan pada edamame juga dapat menghambat radikal bebas yang berlebih dalam tubuh (Kuligowski *et al.*, 2016).

### **2.7 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini ialah terdapat pengaruh edamame terfermentasi terhadap kadar MDA serum pada tikus model *menopause*.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*.

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* seperti pada Gambar 3.1.

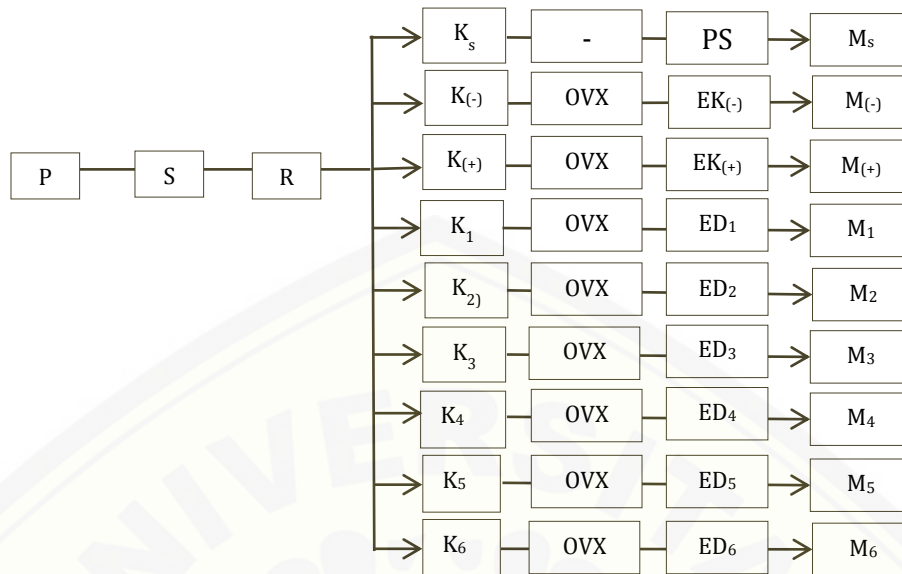
### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini ialah 45 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague dawley*. Usia saat perlakuan tikus yaitu 59 hari dengan berat rata-rata 140-190 gram. Tikus didapatkan dari peternak di Kota Jogja.

#### 3.3.2 Sampel

Sampel yang dipilih adalah tikus betina normal dan sehat tanpa ditemukan kelainan. Sampel dipilih dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*). Kriteria inklusi dari penelitian ini yaitu tikus betina, perawan, usia reproduktif (enam minggu sampai 15 bulan) (Andreollo *et al.*, 2012), normal, dan sehat. Kriteria eksklusi penelitian ini yaitu tikus yang mati saat proses adaptasi hewan coba maupun saat penelitian berlangsung, tikus dengan penampakan rambut rontok atau botak, sedang hamil, sedang menyusui, aktivitas kurang atau tidak aktif, dan keluar eksudat tidak normal dari mata, mulut, anus, atau genital.



Gambar 3.1 Skema penelitian

Keterangan gambar:

- P : Populasi tikus jenis *Spargue dawley*  
 S : Tikus betina dengan usia awal 42 hari dan berat badan awal 140-190 gram  
 R : Randomisasi  
 K : Kelompok tikus yang terdiri dari  $K_s$  (*shamed ovariectomy*),  $K_{(-)}$  (Na CMC),  $K_{(+)}$  (estradiol),  $K_1$  (larutan edamame terfermentasi 100 mg/kgBB),  $K_2$  (larutan edamame terfermentasi 250 mg/kgBB),  $K_3$  (larutan edamame terfermentasi 500 mg/kgBB),  $K_4$  (larutan edamame terfermentasi 750 mg/kgBB),  $K_5$  (larutan edamame terfermentasi 1.000 mg/kgBB),  $K_6$  (larutan edamame terfermentasi 1.250 mg/kgBB)  
 OVX : Ovariectomi pada tikus  
 PS : Pakan dan minuman standar  
 EK<sub>(-)</sub> : Pemberian Na CMC dengan sonde  
 EK<sub>(+)</sub> : Pemberian estradiol dengan sonde  
 ED : Pemberian edamame terfermentasi dengan sonde pada  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ,  $K_4$ ,  $K_5$ , dan  $K_6$   
 M : Pengukuran kadar MDA serum pada  $K_s$ ,  $K_{(-)}$ ,  $K_{(+)}$ ,  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ,  $K_4$ ,  $K_5$ , dan  $K_6$

### 3.3.3 Besar Sampel

Sampel yang digunakan ialah 45 ekor sesuai perhitungan dengan rumus Federer ditambah dua faktor koreksi berkelompok:

$$(p - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$(8 - 1)(n - 1) \geq 15$$

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

$$(n - 1) \geq 2,14$$

$$n \geq 3,14$$

Keterangan : p = jumlah kelompok perlakuan, n = jumlah replikasi.

Penelitian ini terdiri dari 9 perlakuan dengan jumlah sampel yang digunakan adalah 3 ekor tikus untuk setiap kelompok sehingga total sampel yang digunakan adalah 27 ekor tikus (Syahdrajat, 2017). Setiap kelompok ditambahkan 2 faktor koreksi sehingga jumlah tikus ialah 45 ekor.

### **3.4 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April hingga Juni 2018. Determinasi tanaman edamame dilakukan oleh PT. Mitra Tani Dua Tujuh, Kabupaten Jember, Jawa Timur. Pengajuan etik dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember (UNEJ). Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UNEJ. Fermentasi edamame dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi UNEJ, serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNEJ. Pengukuran kadar MDA serum dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UNEJ.

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini ialah larutan edamame terfermentasi dengan variasi dosis sebesar 100, 250, 500, 750, 1.000, dan 1.250 mg/kgBB.

#### **3.5.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini ialah kadar malondialdehid (MDA) serum tikus.



### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu suhu inkubasi pada saat fermentasi edamame, suhu pengeringan edamame fermentasi, kepadatan spora kapang, media tumbuh kapang, jenis tikus, usia tikus, berat tikus, pakan pelet, prosedur ovariektomi, perawatan luka jahitan dan pencegahan infeksi pasca ovariektomi, serta lama perlakuan.

## 3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini ialah sebagai berikut.

### 3.6.1 Edamame

Edamame yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari PT. Mitra Tani 27 Jember dan varietas yang digunakan ialah varietas SPM-1. Edamame dibeli pada Bulan April dan Mei 2018 saat tanah subur sehingga kadar isoflavon yang dihasilkan memiliki kualitas dan kuantitas yang cukup baik (Soewanto, 2016). Pemilihan dosis edamame terfermentasi 100, 250, 500, 750, 1.000, dan 1.250 mg/kgBB berdasarkan dari penelitian sebelumnya (Pop *et al.*, 2008; Harun *et al.*, 2017).

### 3.6.2 Fermentasi

Fermentasi dalam penelitian ini menggunakan isolat kombinasi *A. oryzae* dan *R. oligosporus* yang berasal dari Laboratorium Bioteknologi & Mikrobiologi Fakultas Farmasi UNEJ. Perbandingan isolat yang digunakan yaitu 1:1 dalam 10 mL suspensi campuran dengan kepadatan spora sebesar  $10^6$  spora/mL.

### 3.6.3 MDA

Kadar MDA serum diukur dengan metode MDA-TBA menggunakan reagen *thiobarbituric acid* (TBA) dan *trichloroacetic acid* (TCA). Pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 533 nm. Perubahan warna akan diukur absorbansinya dan dinyatakan dalam satuan  $\mu\text{g/mL}$ . Skala pengukuran yang digunakan adalah rasio.

### 3.7 Alat dan Bahan

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat pembuatan edamame terfermentasi, alat untuk ovariektomi, dan alat pengukuran MDA serum. Alat untuk membuat edamame terfermentasi antara lain seperangkat gelas kaca, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, timbangan analitik, *hot plate*, *rotary evaporator*, autoklaf, jarum ose, vortex, inkubator, mikroskop, oven, hemositometer, grinder, blender, dan ayakan. Alat untuk ovariektomi antara lain seperangkat *minor set* dan papan bedah. Alat pengukuran MDA serum antara lain seperangkat gelas kaca, vortex, mikropipet, *sentrifuge*, *hot plate*, dan spektrofotometer.

#### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bahan pembuatan edamame terfermentasi, bahan untuk ovariektomi, bahan untuk perlakuan tikus dan terminasi, serta bahan pengukuran MDA serum. Bahan untuk membuat edamame terfermentasi antara lain biji edamame, isolat *R. oligosporus* dan *A. oryzae*, aquades, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *tween 80*, kertas saring, kapas, *microtip*, tisu, masker, dan *gloves*. Bahan untuk ovariektomi antara lain alkohol 70%, ketamin, *xylazine*, *catgut*, antibiotik, dan *povidone iodine*. Bahan untuk perlakuan tikus dan terminasi antara lain serbuk kayu halus, *Natrium Carboxy Methyl Cellulose* (Na CMC), estradiol, pakan pellet, serta kloroform. Bahan dalam pengukuran MDA serum antara lain *microtube*, larutan PBS, TCA 100%, HCl 1 N, dan Na-TBA.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Etik Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini ialah tikus *Sprague dawley* yang dalam pelaksanaannya harus mendapatkan sertifikat kelayakan etik sehingga perlu pengajuan etik penelitian ke komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### 3.8.2 Peremajaan Isolat *A. oryzae* dan *R. oligosporus*

Isolat *A. oryzae* dan *R. oligosporus* diremajakan dengan cara memindahkan dua ose *A. oryzae* dan *R. oligosporus* ke dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring. Selanjutnya, PDA berisi isolat *A. oryzae* diinkubasi pada suhu 30 °C selama 1 hari (Jayanti *et al.*, 2013). Begitu pula isolat *R. oligosporus* diinkubasi pada suhu 30 °C selama 3 hari (Lee *et al.*, 2008).

### 3.8.3 Pembuatan Suspensi Spora Kombinasi *A. oryzae* dan *R. oligosporus*

Suspensi spora kombinasi *A. oryzae* dan *R. oligosporus* dibuat dengan 10 mL *aquadest* berisi 0,1% Tween 80 steril (1 mL akuades mengandung 10 µL Tween 80) di bawah *Laminar Air Flow* (LAF). Pengambilan kapang dilakukan dengan cara mengeruk media PDA menggunakan ose steril secara perlahan (dipastikan media tidak terikut), lalu diresuspensi dengan mikropipet. Kepadatan spora dihitung dari masing-masing suspensi yang diperoleh (10 mL tiap kapang) hingga jumlah spora  $10^6$  spora/mL. Kemudian suspensi tersebut dicampur dengan suspensi yang lain menjadi suspensi campuran sebanyak 10 mL dengan kepadatan spora tetap  $10^6$  spora/mL (Cheng *et al.*, 2013).

### 3.8.4 Perhitungan Kepadatan Spora

Kepadatan spora dihitung menggunakan kamar hitung *improved neubauer* dalam hemositometer hingga mengandung kepadatan spora sebesar  $10^6$  spora/mL (Imansari, 2018). Perhitungan spora dilakukan oleh dua orang secara bergantian dan diambil rata-rata jumlah spora yang telah dihitung oleh kedua orang tersebut. Suspensi kombinasi *A. oryzae* dan *R. oligosporus* digunakan sebagai inokulum sampel edamame (Cheng *et al.*, 2013). Prosedur perhitungan kepadatan spora kombinasi ialah sebagai berikut.

- a. Suspensi spora yang telah homogen ditetaskan sebanyak 10 µL pada tiap bidang hitung hemositometer, lalu ditutup dengan gelas penutup.
- b. Kemudian spora *A. oryzae* maupun *R. oligosporus* dihitung di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x, hingga didapatkan bidang hitung pada hemositometer.

- c. Spora yang dihitung hanya yang terletak pada kotak hitung (1 + 2 + 3 + 4 + 5), seperti yang tersaji pada Gambar 3.2.
- d. Cara perhitungan spora mengikuti aturan seperti yang dijelaskan dalam Gambar 3.3, spora yang terletak pada garis batas kotak hitung yang dihitung hanya pada sisi kiri dan atas (Imansari, 2018).
- e. Setelah didapatkan jumlah spora pada kotak hitung 1, 2, 3, 4, dan 5, lalu dihitung jumlah spora/mL pada bidang hitung dengan persamaan sebagai berikut.

$$N = \frac{x}{t \text{ (mm)} \times d \times l \text{ (mm}^2\text{)}} \times 10^3$$

Keterangan:

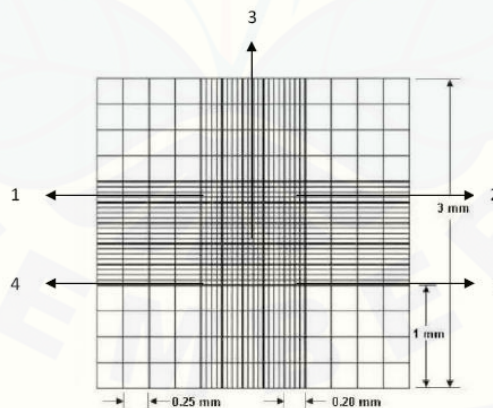
N : Jumlah spora/mL

x : Jumlah spora yang dihitung (1 + 2 + 3 + 4 + 5)

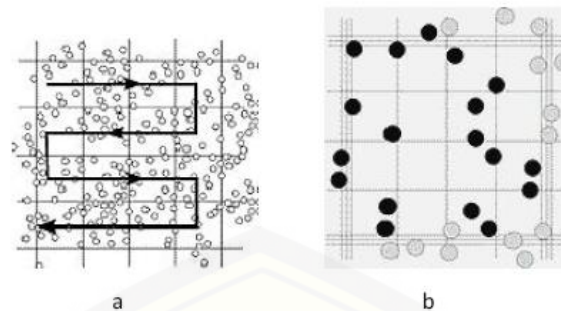
l : Luas kotak hitung ( $0,04 \times 5 = 0,2 \text{ mm}^2$ )

t : Kedalaman bidang hitung (0,1 mm)

$10^3$  : Volume suspensi yang diambil ( $1 \text{ mL} = 10^3 \text{ mm}^3$ ) (Modifikasi dari Tim QC APH Golongan Jamur, 2009)



Gambar 3. 2 Daerah hitung hemositometer *improved neubauer* (Hansen, 2000)



Gambar 3.3 Cara perhitungan spora a. Alur perhitungan spora; b. Cara perhitungan spora dalam kamar hitung (● menunjukkan spora yang dihitung, dan ○ menunjukkan spora yang tidak dihitung) (Tim QC APH Golongan Jamur, 2009)

Apabila spora yang didapatkan memiliki kepadatan lebih dari  $1 \times 10^6$  spora/mL maka dilakukan pengenceran dengan akuades. Akuades digunakan karena suspensi mudah larut dengan air. Pengenceran dilakukan dengan persamaan sebagai berikut (Imansari, 2018).

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

Keterangan:

N1 : Konsentrasi larutan stok (spora/mL)

V1 : Volume larutan stok (mL)

N2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan (spora/mL)

V2 : Volume larutan yang diinginkan (mL)

### 3.8.5 Preparasi Edamame Terfermentasi

Sebanyak 9 kg edamame dicuci lalu direndam dalam air hangat selama  $\pm$  30 menit untuk memudahkan membuang kulit ari. Kemudian biji edamame disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit dan didinginkan. Fermentasi dilakukan dengan menambahkan 1 mL suspensi spora yang mengandung  $10^6$  spora/mL (inokulum) pada setiap 50 gram biji edamame. Selanjutnya, biji edamame dibungkus dengan kertas saring, lalu diinkubasi selama 1- 4 hari pada suhu  $30^\circ\text{C}$ . Hasilnya didapatkan edamame terfermentasi dengan konsistensi padat (*solid-state fermentation*) yang ditumbuhi miselia berwarna putih.

Edamame terfermentasi tersebut diiris tipis dan dikeringkan menggunakan oven suhu 60 °C selama 30 jam. Setelah kering, simplisia kedelai fermentasi dihaluskan menggunakan *blender* dan diayak menggunakan ayakan mesh 80 agar mencapai keseragaman bentuk dan bobot (Lee *et al.*, 2008). Serbuk edamame terfermentasi dilarutkan dengan Na CMC 1% agar mendapatkan edamame terfermentasi dalam bentuk cair untuk disondekan pada tikus sesuai dosis 100, 250, 500, 750, 1.000, dan 1.250 mg/kgBB. Na CMC dipilih sebagai pelarut serbuk edamame terfermentasi karena bersifat hidrofilik yang dapat melarutkan dan memperlambat pengendapan (Anggraini, 2016).

#### 3.8.6 Adaptasi Hewan Coba

Tikus diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Setiap tikus dimasukkan ke dalam kandang yang berbeda dalam suhu kamar atau 20 °C ( $\pm 3$  °C). Tikus diberi pakan standar dan air minum.

#### 3.8.7 Pembagian Kelompok Perlakuan

Pemilihan sampel dilakukan dengan *simple random sampling*. Tikus sebanyak 45 ekor dibagi ke dalam sembilan kelompok, yaitu kelompok *shamed* ovariektomi, kelompok dengan pemberian Na CMC 1%, estradiol 0,45 ppm, edamame terfermentasi 100, 250, 500, 750, 1.000, dan 1.250 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Tikus disonde larutan edamame terfermentasi setiap hari selama 28 hari.

#### 3.8.8 Ovariektomi

Ovariektomi dilakukan oleh peneliti dengan pendampingan orang yang ahli untuk mendapatkan model hewan coba *menopause*. Ovariektomi atau pengambilan kedua ovarium dimulai dari desinfeksi meja operasi dengan *spraying* alkohol 70% di seluruh meja operasi. Alat dan bahan disiapkan di atas meja. Tikus dianestesi dengan *xylazine* dan ketamin 0,2 mL secara *intramuscular* di daerah femur dengan perbandingan 1:1. Tikus diletakkan di atas papan bedah setelah tikus lemas dan tertidur. Rambut di daerah lateral abdomen hingga punggung dan daerah ujung

bawah *costae* 12 hingga bagian proksimal femur dicukur. Selanjutnya, insisi longitudinal sepanjang 1-2 cm pada kulit di daerah punggung dengan jarak dari tulang vertebra yaitu 1,5-2 cm dan jarak dari tulang femur bagian proksimal sebesar 1,5-2 cm. Kedalaman insisi hingga mencapai lapisan lemak di bawah kulit. Darah dibersihkan dengan kapas jika terjadi perdarahan kapiler. Bagian lemak ditarik keluar dan ovarium berbentuk granul diangkat. Tuba falopi bagian distal dijepit menggunakan klem arteri, lalu diikat dan dipotong. Apabila organ-organ yang lain ikut keluar maka dilakukan reposisi organ. Bekas insisi dijahit menggunakan teknik *simple suture*. Luka pasca pembedahan dapat diolesi dengan *povidon iodine* dan ditaburi antibiotik serbuk selama 10 hari masa *recovery* untuk mencegah infeksi. Tikus kemudian diletakkan di kandang dan diberi makan, serta minum (Jimenez, 2014).

#### 3.8.9 Terminasi

Tikus diterminasi setelah diberikan perlakuan 28 hari. Tikus dianestesi menggunakan anestesi inhalasi kloroform. Pembedahan dilakukan untuk pengambilan organ dan darah pada penelitian lain juga. Pembedahan menggunakan *blade*, *scalpel*, *pinset*, klem arteri, silet, gunting, jarum dan benang bedah, bengkok, papan bedah, serta spuit (Astari, 2018). Selanjutnya, dilakukan pengambilan darah melalui jantung untuk pemeriksaan MDA serum.

#### 3.8.10 Pengukuran MDA Serum

Pengukuran kadar MDA serum tikus dilakukan dalam 24 jam setelah pengambilan darah. MDA diukur menggunakan pereaksi TBA yang akan membentuk MDA-TBA berwarna merah muda dan diukur menggunakan spektrofometri. Darah diambil satu kali dengan jarum berukuran 22 G sebanyak 2 mL melalui jantung saat masih berdetak agar tidak terjadi koagulasi darah. Serum dipisahkan dari *whole blood* dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, kemudian dipindahkan dalam *microtube*. Serum dibagi untuk pemeriksaan MDA, LDL, HDL, kolesterol, trigliserida, dan estrogen. Serum untuk MDA diambil sebanyak 100  $\mu$ L, lalu ditambahkan 550  $\mu$ L aquades steril dan 100

$\mu\text{L}$  TCA lalu divortex. Selanjutnya, ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  HCl 1 M dan divortex. Na-TBA sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ditambahkan, kemudian divortex dan disentrifugasi pada panjang gelombang 500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dari sentrifugasi akan diinkubasi dengan suhu 100 °C selama 30 menit. Sampel tersebut didinginkan pada suhu ruang, lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 533 nm (Shofia, 2015).

Pembuatan kurva standar dengan MDA stok kit dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8  $\mu\text{g/mL}$  yang ditambahkan 550  $\mu\text{L}$  aquades steril dan 100  $\mu\text{L}$  TCA 100%, lalu divortex. Selanjutnya, ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  HCl 1 M, lalu divortex. Na-TBA sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ditambahkan, kemudian divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam *microtube* baru. Selanjutnya, supernatan dipanaskan dengan *hot plate* bersuhu 100 °C selama 30 menit, lalu dibiarkan dalam suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 533 nm (Shofia, 2015).

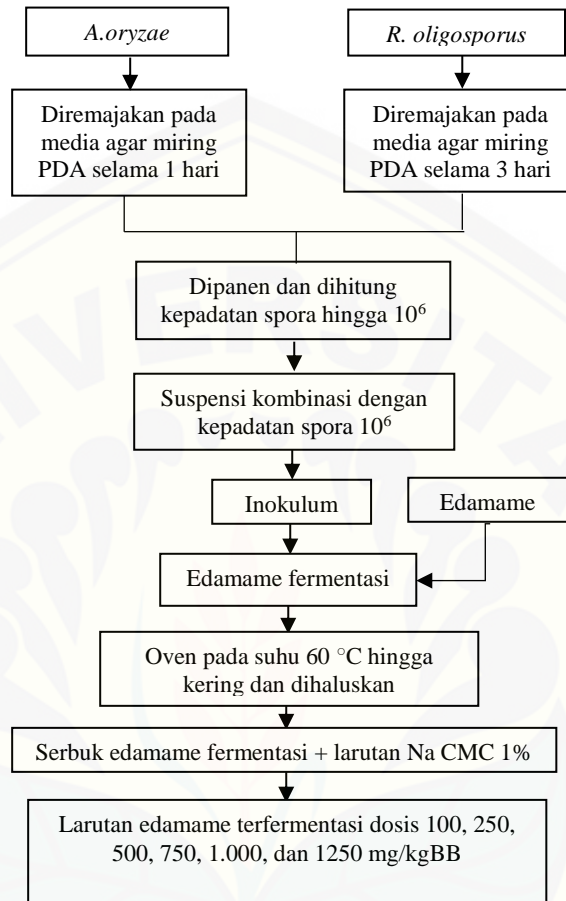
### 3.9 Analisis Data

Data penelitian diuji normalitas dengan menggunakan *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Lavene's Test*. Kemudian dilanjutkan dengan analisis statistik *One Way ANOVA* apabila data terdistribusi normal dan homogen. *Post Hoc Test* berupa uji LSD (*least significant difference*) dilakukan apabila data menghasilkan perbedaan yang signifikan. Data dikatakan berbeda signifikan apabila nilai  $p \leq 0,05$  dengan tingkat keakuratan 95%. Namun, apabila distribusi data tidak normal maka dilakukan analisis statistik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney U* apabila data menghasilkan perbedaan yang signifikan.



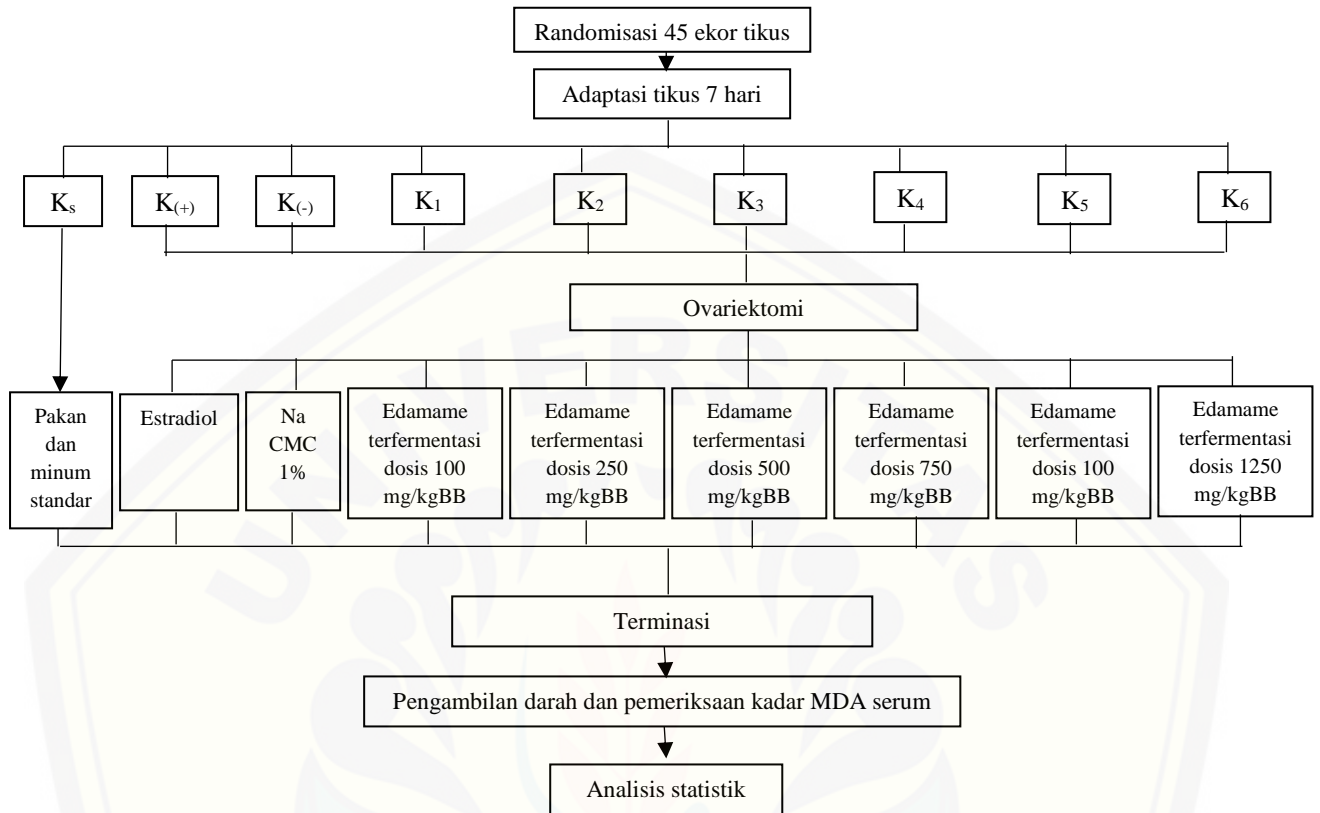
### 3.10 Alur Penelitian

#### 3.10.1 Alur Pembuatan Edamame Terfermentasi



Gambar 3.4 Alur pembuatan edamame terfermentasi

3.10.2 Alur Perlakuan Hewan Coba



Gambar 3.5 Alur perlakuan hewan coba

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa edamame terfermentasi dapat memengaruhi kadar MDA dengan cara meningkatkan kadarnya pada tikus model *menopause*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang diberikan oleh peneliti ialah sebagai berikut.

- a. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh fitoestrogen edamame terfermentasi terhadap kadar MDA tikus model *menopause* dengan jarak waktu antara ovariectomi dan perlakuan lebih lama untuk mengondisikan tikus dalam keadaan membutuhkan estrogen.
- b. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor yang dapat memengaruhi aktivitas estrogenik edamame terhadap kadar MDA.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiswastika, A. P. 2013. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada Abortus Inkomplit Lebih Tinggi Dibandingkan dengan Kehamilan Normal. *Tesis*. Bali: *Biomedik Universitas Udayana*.
- Agrawal, N. dan S. K. Singh. 2017. Obesity: an independent risk factor for oxidative stress. *International Journal of Advances in Medicine*. 4(3): 718-721.
- Amran, R., A. Abadi, Theodorus, dan E. Widiastuti. 2012. Phytoestrogen genistein and black cohosh and marker of bmd in menopausal women. *Media Medika Indonesiana*. 46:6–11.
- Andreollo, N. A., E. F. Santos, M. R. Araujo, dan L. R. Lopes. 2012. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 25(1): 49–51.
- Aggraini, M. 2016. Pengaruh Konsentrasi *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) dan Lama Penyimpanan pada Suhu Dingin terhadap Stabilitas dan Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Nanas. *Skripsi*. Lampung: Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Aprilia, N. I. dan N. Puspitasari. 2007. Faktor yang mempengaruhi tingkat kecemasan pada wanita perimenopause. *The Indonesian Journal of Public Health*. 4(1): 35–42.
- Ariyanti, H. dan E. Apriliyana. 2016. Pengaruh fitoestrogen terhadap gejala menopause. *Jurnal Mikrobiologi FK Unila*. 5(5): 1–5.
- Astari, K. A. 2018. Pembedahan Tikus Percobaan. <https://www.scribd.com/doc/250034860/Cara-Pembedahan-Tikus-Percobaan> [Diakses pada 28 November 2018].
- Ayala, A., M. F. Munoz, dan S. Arguelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014: 1-31.
- Banke, I. S., A. S. Folorunsho, B. Mohammed, S. M. Musa, O. Charles, dan A. J. Olusegun. 2014. Effects of melatonin on changes in cognitive performances and brain malondialdehyde concentration induced by sub-chronic co-administration of chlorpyrifos and cypermethrin in male wister rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(4): 318–323.

- Basu, P. dan C. Maier. 2018. Phytoestrogens and breast cancer: in vitro anticancer activities of isoflavones, lignans, coumestans, stilbenes and their analogs and derivatives. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 107(August): 1648–1666.
- Bellanti, F., M. Matteo, T. Rollo, F. De Rosario, P. Greco, G. Vendemiale, dan G. Serviddio. 2013. Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: impact of estrogen therapy. *Redox Biology*. 1(1):340–346.
- Bhagwat, S. dan D. B. Haytowitz. 2015. USDA database for the isoflavone content of selected foods. 2 (1).
- Brock, O. dan J. Bakker. 2013. The two kisspeptin neuronal populations are differentially organized and activated by estradiol in mice. *Endocrinology*. 154(8):2739–2749.
- Cabrera, A. J. R. 2016. Inflammatory oxidative aging: a new theory of aging. *MOJ Immunology*. 3(5): 1-5.
- Cavallini, D. C. U., M. S. J. Manzoni, R. Bedani, M. N. Roselino, L. S. Celiberto, R. C. Vendramini, G. F. de Valdez, D. S. P. Abdalla, R. A. Pinto, D. Rosetto, S. R. Valentini, dan E. A. Rossi. 2016. Probiotic soy product supplemented with isoflavones improves the lipid profile of moderately hypercholesterolemic men: a randomized controlled trial. *Journal of Nutrients*. 8(52): 1-18.
- Cervellati, C., G. Bonaccorsi, E. Cremonini, C. M. Bergamini, A. Patella, C. Castaldini, S. Ferrazzini, A. Capatti, V. Picarelli, F. S. Pansini, dan L. Massari. 2013. Bone mass density selectively correlates with serum markers of oxidative damage in postmenopausal women. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 51(2): 333–338.
- Cheng, K. C., J. Y. Wu, J. T. Lin, dan W. H. Liu. 2013. Enhancements of isoflavone aglycones, total phenolic content, and antioxidant activity of black soybean by solid-state fermentation with *rhizopus spp*. *European Food Research and Technology*. 236(6): 1107–1113.
- Duenas, M., T. Hernández, S. Robredo, G. Lamparski, I. Estrella, dan R. Muñoz. 2012. Bioactive phenolic compounds of soybean (*glycine max* cv. merit): modifications by different microbiological fermentations. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 62(4): 241–250.
- Farhan, L. O., B. A. Abed, A. S. Nsaif, dan W. A. Mehdi. 2016. Total antioxidant capacity and malondialdehyde as a markers of oxidative stress in women with diabetic and disorder hormones total antioxidant capacity and malondialdehyde as a markers of oxidative stress in women with diabetic and disorder hormones. *Advances in Environmental Biology*. 10(May): 72–176.

- Fitriah, A. M. 2018. Validasi Metode dan Penetapan Kadar Genistein Edamame (*Glycine max*) Terfermentasi oleh *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* dengan KLT-Densitometri. *Skripsi*. Jember: Program Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Frijhoff, J., P. G. Winyard, N. Zarkovic, S. S. Davies, R. Stocker, D. Cheng, A. R. Knight, E. L. Taylor, J. Oettrich, T. Ruskovska, A. C. Gasparovic, A. Cuadrado, D. Weber, H. E. Poulsen, T. Grune, H. H. H. W. Schmidt, dan P. Ghezzi. 2015. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling*. 23(14): 1144–1170.
- Ginzburg, S. B., I. A. Katz, D. E. Woode, N. F. Goodman, dan R. H. Cobin. 2011. Menopause. *AACE*. 17: 1–25.
- Grotto, D., L. S. Maria, J. Valentini, C. Paniz, G. Schmitt, dan C. Garcia. 2009. Importance of the lipid. *Quim Nova*. 32(1): 169–174.
- Guyton, A. C. dan J. E. Hall, 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Hamoda, H., H. Currie, dan B. W. Fenton. 2017. Best practice menopause. *British Medical Journal*. Vol. 2017: 1-50.
- Hansen, P. J. 2000. *Use of a Hemocytometer*. Florida: University of Florida.
- Harun, I., H. Susanto, dan A. Rosidi. 2017. Pemberian tempe menurunkan kadar malondialdehyde (MDA) dan meningkatkan aktivitas enzim superoxide dismutase (SOD) pada tikus dengan aktivitas fisik tinggi. *Jurnal Gizi Pangan*. 12: 211–216.
- Huang, C. C., B. Y. Hsu, N. L. Wu, W. H. Tsui, T. J. Lin, C. C. Su, dan C. F. Hung. 2010. Anti-photoaging effects of soy isoflavone extract (aglycone and acetylglucoside form) from soybean cake. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(12): 4782–4795.
- Imansari, Fanitika. 2018. Validasi Metode dan Pengaruh Fermentasi Kombinasi *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* terhadap Kadar Daidzein Edamame (*Glycine max* L.) Menggunakan KLT Densitometri. *Skripsi*. Jember: Program Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Jayanti, D., Wuryanti, dan Taslimah. 2013. isolasi, karakterisasi, dan amobilisasi  $\alpha$ -amilase dari *Aspergillus oryzae*. *Journal of Chemistry Information*. 1(1): 76-84.

- Jimenez, A. 2014. Rodent Ovariectomy. *Standard Operating Procedure*. United Kingdom: McGill.
- Kemendes RI. 2017. Riset kesehatan lanjut usia. *Pusat Data Dan Informasi*. 1–2.
- Kemendes RI. 2016. Infodatin lanjut usia (lansia). *Pusat Data Dan Informasi Kemendes RI*. 12.
- Kemendes RI. 2014. *Infodatin: Stop Kanker*. Jakarta: Kemendes RI.
- Kim, J.-S., H. Lee, F. Sukma Nirmala, C. Hwa Jung, M. Jung Kim, Y.-J. Jang, T. Youl Ha, J. Ahn, dan J. Dihydrodaidzein. 2018. Dihydrodaidzein and 6-hydroxydaidzein mediate the fermentation-induced increase of anti-osteoporotic effect of soybeans in ovariectomized mice. *The FASEB Journal*. (5): 1–12.
- Kokcu, A., E. Kurtoglu, D. Bildircin, H. Celik, A. Kaya, dan T. Alper. 2015. Does surgical menopause affect sexual performance differently from natural menopause? *Journal of Sexual Medicine*. 12(6): 1407–1414.
- Konovsky, J., T. A. Lumpkin, dan D. McClary. 2013. Edamame: the vegetable soybean. *Understanding the Japanese Food and Agrimarket: A Multifaceted Opportunity*. 173–181.
- Kridawati, A. 2013. Perbedaan pengaruh tepung tempe dan tepung tahu terhadap estrogen serum, beta amiloid serum, dan fungsi kognitif pada tikus betina dengan ovariektomi. 1–90.
- Kuligowski, M., K. Pawłowska, I. Jasińska-Kuligowska, dan J. Nowak. 2016. Isoflavone composition, polyphenols content and antioxidative activity of soybean seeds during tempeh fermentation. *CyTA - Journal of Food*. 15(1):1–7.
- Lee, S. H., M. H. Seo, dan D. K. Oh. 2013. Deglycosylation of isoflavones in isoflavone-rich soy germ flour by *Aspergillus oryzae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(49): 12101–12110
- Liou, G. dan P. Storz. 2010. Reactive oxygen species in cancer. *National Institutes of Health*. 44(5): 1-31.
- Brock, O. dan J. Bakker. 2013. The two kisspeptin neuronal populations are differentially organized and activated by estradiol in mice. *Endocrinology*. 154(8):2739–2749.

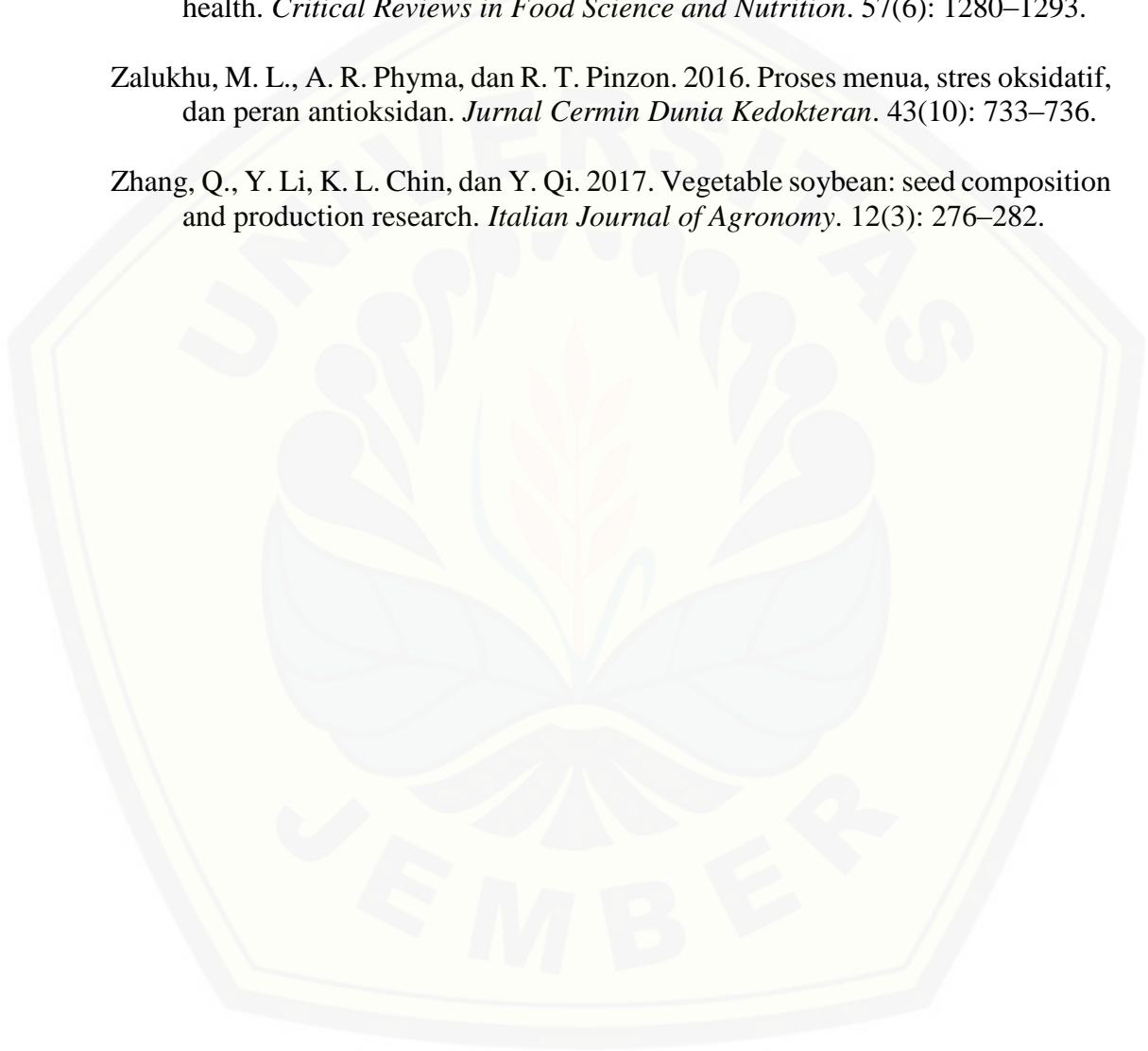
- Maddukuri, L., R. L. Eoff, J. Y. Choi, C. J. Rizzo, F. P. Guengerich, dan L. J. Marnett. 2010. In vitro bypass of the major malondialdehyde-and base propenal-derived dna adduct by human  $\gamma$ -family dna polymerases  $\kappa$ ,  $\tau$ , and  $\text{rev1}$ . *Biochemistry*. 49(38):8415–8424
- Mallick, A. K., B. Das, M. Ahsan, S. Saxena, S. Samanta, dan N. Kumari. 2015. A correlation study between lipid peroxidation and dyslipidemia in postmenopausal women. 3: 669–673.
- Marrocco, I., F. Altieri, dan I. Peluso. 2017. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017
- Marshall, E. 2014. The statistics tutor's quick guide to commonly used statistical tests. *Statistical Journal*.
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes, dan V. W. Rodwell. 2009. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta : EGC.
- Naufalia, A. N. 2018. Validasi Metode dan Penetapan Kadar Daidzein Edamame (*Glycine max*) Terfermentasi oleh *Rhizopus oligosporus* dengan KLT-Densitometri. *Skripsi*. Jember: Program Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Nurhidayah, K. S. 2017. Peranan Kapang *Rhizopus Oligosporus* pada Tempe Kacang Gude (*Cajanuscajan*) terhadap Kandungan Senyawa Isoflavon. *Prosiding Seminar Nasional Simbiosis II*. 30 September 2017. Universitas PGRI Madiun: 342-348.
- Oemiyati, R. dan R. Rustika. 2015. Faktor risiko Penyakit Jantung Koroner (PJK) pada perempuan. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 18(1): 47–55.
- Oviani, M. 2018. Hubungan Dukungan Sosial Suami dan Kepercayaan Diri Dengan Kecemasan Ibu Menjelang Menopause Usia 40-55 Tahun di Desa Pulorejo Kecamatan Tembelang Kabupaten Jombang. Tesis. Surabaya: Fakultas Psikologi Universitas 17 Agustus 1945.
- Pop, A. E., L. M. Fischer, A. D. Coan, M. Gitzinger, J. Nakamura, dan S. H. Zeisel. 2008. Effects of a high daily dose of soy isoflavones on DNA damage, apoptosis and estrogenic outcomes in healthy, postmenopausal women - a phase I clinical trial. *National Institutes of Health*. 15(4): 1-16.
- Prasetya, A. W. dan Y. Widjayanti. 2010. Effect of tomato (*lycopersicum commune*) juice on vaginal wall elasticity.



- Repetto, M., J. Semprine, dan A. Boveris. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. *INTECH*. 1: 3-30.
- Rodriguez, M. dan D. Shoupe. 2015. Surgical menopause. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 44(3): 531–542.
- Santoro, N. Dan J. F. Randolph. 2011. Reproductive hormones and the menopause transition. *Journal of Obstetry Gynecology*. 38: 455-466
- Setiawan, A. 2014. Kedelai Jember Tembus Pasar Internasional. <http://setkab.go.id/kedelai-jember-tembus-pasar-internasional/> [Diakses pada 2 Desember 2018].
- Shofia, V. 2015. Studi *In Silioo*, *In Vitro*, dan *In Vivo* Potensi Ekstrak Metanol Kerang Mas Ngur (*Ataotodea strilata*) terhadap Profil Malondialdehid, Aktivitas Protease, Ekspresi Ooccludin, dan Histopatologi Jejenum Tikus *Rattus novergicus* yang Dipapar Endometasin. *Tesis*. Malang: Program Pasca Sarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Soewanto, H., A. Prasongko, Sumarno. 2016. Agribisnis Edamame untuk Ekspor. Dalam artikel [http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/03/dele\\_18.hasni.pdf](http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/03/dele_18.hasni.pdf) [Diakses 06 September 2017].
- Suardi, R. B., S. Suhandoyo, dan T. Triharjana. 2016. Pengaruh ekstrak kacang panjang (*vigna sinensis*, l.) terhadap jumlah kelenjar dan ketebalan lapisan endometrium tikus putih betina (*rattus norvegicus*, l.). *Biologi S-1*. 5(3):33–40.
- Suparman, E. Dan E. Suparman. 2014. Peran Estrogen dan Progesteron terhadap Kanker Payudara. *Tesis*. Manado: Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi.
- Syahdrajat, T. 2017. *Panduan Penelitian Untuk Skripsi Kedokteran dan Kesehatan*. Yogyakarta: CV Sunrise.
- Syalfina, A. D. 2017. Persepsi tentang menopause. *Hospital Majapahit*. 9(1): 28–42.
- Tim QC APH Golongan Jamur. 2009. *Modul Quality Control (QC) APH Golongan Jamur*. Surabaya: Balai Besar Pembenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan (BPPTP).


- Tit, D., S. Bungau, C. Iovan, D. Nistor Cseppento, L. Endres, C. Sava, A. Sabau, G. Furau, dan C. Furau. 2018. Effects of the hormone replacement therapy and of soy isoflavones on bone resorption in postmenopause. *Journal of Clinical Medicine*. 7(10): 297.
- Tsikakos, D., S. Rothmann, J. Y. Schneider, M. T. Suchy, A. Trettin, D. Modun, N. Stuke, N. Maassen, dan J. C. Frölich. 2016. Development, validation and biomedical applications of stable-isotope dilution GC-MS and GC-MS/MS techniques for circulating malondialdehyde (MDA) after pentafluorobenzyl bromide derivatization: mda as a biomarker of oxidative stress and its relation to 15(S)-8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub> and nitric oxide (NO). *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 1019: 95–111.
- USDA. 2011. Plants Profile for *Glycine max* (Soybean). <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=GLMA4> [Diakses pada 29 November 2018].
- USDA. 2018. National nutrient database for standard reference release 1 April 2018. *Statistics Report*. Edisi 2018: 1–11.
- Vitale, D. C., C. Piazza, B. Melilli, F. Drago, dan S. Salomone. 2013. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 38(1): 15–25.
- Wardani, D. K., M. Marimin, dan K. Kasutjjaningati. 2015. Penerapan manajemen kualitas total: pembelajaran dari produk edamame beku. *Jurnal Manajemen dan Agribisnis*. 12(1): 36–45.
- Widayati, E. 2018. Oksidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioksidan. *Tesis*. Semarang: Fakultas Kedokteran Unissula Semarang.
- Widowati, H., H. Sujuti, dan K. Mintaroem. 2018. Effect of peroral sipermetrin exposure on serum 17 $\beta$ -estradiol and uterine malondialdehyde (MDA) levels in female wistar strain rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Effect of Sipermetrin On Estradiol And MDA*. 26(1): 20-25.
- Wojciak-Kosior, M., I. Sowa, T. Blicharski, M. Strzemski, S. Dresler, G. Szymczak, A. Wnorowski, R. Kocjan, dan R. Wieboda. 2016. The stimulatory effect of strontium ions on phytoestrogens content in *Glycine max* (l.) Merr. *Molecules*. 21(1): 1–9.
- Yue, W., J. P. Wang, Y. Li, P. Fan, G. Liu, N. Zhang, M. Conaway, H. Wang, K. S. Korach, W. Bocchinfuso, dan R. Santen. 2010. Effects of estrogen on breast cancer development: role of estrogen receptor independent mechanisms. *International Journal of Cancer*. 127(8): 1748–1757.

- Yuan, X. xue, B. Zhang, L. li Li, C. wu Xiao, J. xin Fan, M. mei Geng, dan Y. long Yin. 2012. Effects of soybean isoflavones on reproductive parameters in chinese mini-pig boars. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 3(1): 1–8.
- Zaheer, K. dan M. Humayoun Akhtar. 2017. An updated review of dietary isoflavones: nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57(6): 1280–1293.
- Zalukhu, M. L., A. R. Phyma, dan R. T. Pinzon. 2016. Proses menua, stres oksidatif, dan peran antioksidan. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. 43(10): 733–736.
- Zhang, Q., Y. Li, K. L. Chin, dan Y. Qi. 2017. Vegetable soybean: seed composition and production research. *Italian Journal of Agronomy*. 12(3): 276–282.



## Lampiran-lampiran

## Lampiran 3.1 Determinasi Tanaman Edamame



**MITRATANI DUA TUJUH**

DISKRIPSI EDAMAME  
*Glycine max L. Merrill*  
*Var. SPM 1*

Tahun Pemakaian Varietas	:	2010
Pemilik	:	PT. Mitratani Dua Tujuh Jember
Asal Galur	:	Seleksi Massa KS3
Daya Hasil	:	
Segar/basah	<i>RM</i>	: 11.1 – 12.5 ton/ha
	<i>SQ</i>	: 7 – 8 ton/ha
Kering/Benih	:	850 – 1200 kg/ha
Warna Hipokotil	:	Hijau
Warna Epikotil	:	Hijau
Warna Daun	:	Hijau
Warna Bulu	:	Coklat
Warna Bunga	:	Putih
Warna Kulit Biji	:	Kuning
Warna Polong	:	
a. Muda	<i>Mentah</i> :	Hijau
	<i>Matang</i> :	Hijau
b. Tua	:	Cokelat
Warna Kulit biji	:	
a. Muda	:	Hijau
b. Tua	:	Kuning
Warna Hilum	:	Coklat
Bentuk Daun	:	Oval
Bentuk Biji	:	Agak Bulat
Tipe Tumbuh	:	Determinit
Umur Berbunga	:	23 – 25 hst
Umur Produksi	:	
a. Segar	:	63 – 68 hst
b. Benih/Kering	:	87 – 95 hst
Tinggi Tanaman	:	45 - 55 cm
Bobot 100 biji	:	35.4 g
Kandungan Protein	:	
a. Polong muda - matang	:	11.58
b. Polong Tua/Kering	:	37.97
Kandungan Lemak	:	
a. Polong muda - matang	:	10.57
b. Polong Tua/Kering	:	22.35
Bentuk Polong	:	Lekukan antar biji kelihatan
Jumlah Cabang	:	3 – 4 buah
Aroma Polong	:	Biasa
Jumlah Bunga Perpon	:	40 – 50

**MITRATANI DUA TUJUH**

## TAKSONOMI TANAMAN EDAMAME

## KLASIFIKASI EDAMAME:

Divisio	Spermatophyta
Classis	Dicotyledonae
Ordo	Rosales
Familia	Papilionaceae
Genus	Glycine
Species	<i>Glycine max</i> (L.) Merrill (TTG Budidaya Pertanian, 2000, 1)

## SYARAT TUMBUH EDAMAME:


Edamame memerlukan iklim dengan suhu 26 - 32 °C dengan curah hujan relatif tinggi. Pada umumnya pertumbuhan tanaman akan baik pada tanah yang berketinggian 0 - 500 m dpl. Edamame tumbuh baik pada tanah alluvial, regosol, grumosol, latosol dan andosol. Ph tanah 5,8 - 7 dengan aerasi dan drainase yang sesuai. Edamame menghendaki tanah yang subur, gembur dan kaya bahan organik.

Jember, 14 Januari 2019

Edy Zen Yuhantoko

Kepala Divisi Quality Assurance

**Lampiran 3.2 Etik Penelitian**

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMISI ETIK PENELITIAN  
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember  
68121 – Email : fk\_unej@telkom.net

---

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*  
Nomor : [257 /H25.1.11/KE/2019

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**PENGARUH FITOESTROGEN EDAMAME (*Glycine max(L.)Merrill*) TERFERMENTASI TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA TIKUS (*Rattus novergius*) MODEL MENOPAUSE**

Nama Peneliti Utama : Azizah Mursyidani Nurulhayati.  
*Name of the principal investigator*

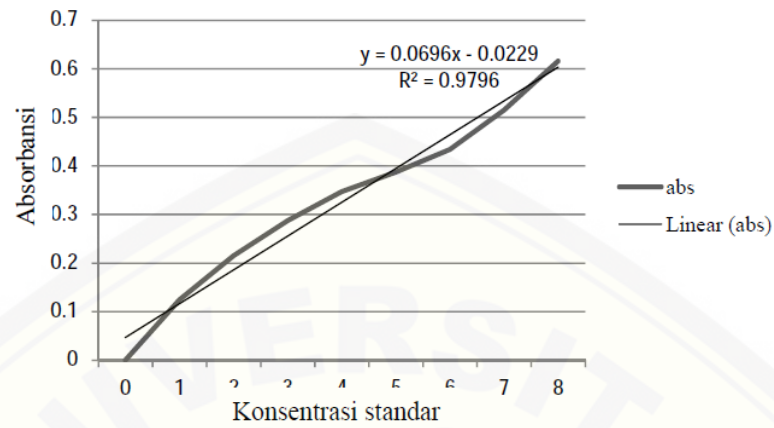
NIM : 152010101029

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 18. 01 2019  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK



**Lampiran 4.1 Kurva Standar Malondialdehid**

Persamaan kurva:

$$y = 0,069x - 0,022$$

Keterangan:

y = nilai absorbansi sampel

x = kadar malondialdehid sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )

**Lampiran 4.2 Data Kadar MDA Serum Setiap Kelompok**

Kelompok Perlakuan	Kode Tikus	Kadar MDA Serum ( $\mu\text{g/mL}$ )	Rata-Rata Kadar MDA Serum ( $\mu\text{g/mL} \pm \text{SE}$ )
<i>Shamed</i> OVX	2.1	3,6479	4,1724 $\pm$ 0,213887
	3.1	4,0502	
	4.1	4,3376	
	5.1	4,6537	
Na CMC	1.7	2,6709	3,2025 $\pm$ 0,206968
	1.8	3,1451	
	1.9	3,3318	
	1.10	3,6623	
Estradiol	1.2	7,8146	8,3654 $\pm$ 0,276907
	1.5	8,5905	
	1.6	8,6910	
Edamame Terfermentasi 100 mg/kgBB	2.2	2,4841	5,5157 $\pm$ 1,43039
	2.3	4,0933	
	2.4	6,4353	
	2.5	9,0502	
Edamame Terfermentasi 250 mg/kgBB	2.8	4,0071	7,4087 $\pm$ 1,343105
	2.9	6,5933	
	2.10	9,0071	
	3.3	10,0272	
Edamame Terfermentasi 500 mg/kgBB	3.4	2,5560	5,3829 $\pm$ 1,974642
	3.5	2,5560	
	3.7	5,4870	
	3.8	10,9324	
Edamame Terfermentasi 750 mg/kgBB	4.2	4,4956	10,2227 $\pm$ 2,360051
	4.3	6,4928	
	4.4	10,0416	
	4.5	12,0244	
	4.6	18,0589	
Edamame Terfermentasi 1.000 mg/kgBB	4.7	5,6164	7,8973 $\pm$ 1,325775
	4.8	5,7457	
	5.2	9,2658	
	5.4	10,9612	
Edamame Terfermentasi 1.250 mg/kgBB	5.5	4,1796	7,0280 $\pm$ 1,231317
	5.6	6,1767	
	5.7	7,7572	
	5.8	9,9985	



**Lampiran 4.3 Hasil Analisis Statistik**

**Uji Normalitas**

kode tikus	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
mda ekstradiol	.347	3	.	.835	3	.200
cmcna	.195	4	.	.987	4	.944
100mg	.190	4	.	.979	4	.895
250mg	.224	4	.	.952	4	.727
500mg	.263	4	.	.833	4	.177
750mg	.166	5	.200 <sup>*</sup>	.962	5	.819
1000mg	.291	4	.	.860	4	.260
1250mg	.136	4	.	.998	4	.995
shame oxx	.150	4	.	.995	4	.981

a. Lilliefors Significance Correction

**Uji Varian Data**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,314	8	27	,009

**Uji Mann Whitney**

Kelompok estradiol dengan kelompok Na CMC

**Ranks**

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 estradiol	3	6.00	18.00
cmcna	4	2.50	10.00
Total	7		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok estradiol dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB

**Ranks**

kode ...		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2	Estradiol	3	5.00	15.00
	100mg	4	3.25	13.00
	Total	7		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.061
Asymp. Sig. (2-tailed)	.289
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok estradiol dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 250 mg/kgBB

**Ranks**

kode ...		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2	Estradiol	3	4.00	12.00
	250mg	4	4.00	16.00
	Total	7		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok estradiol dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB

**Ranks**

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 Estradiol	3	5.00	15.00
500mg	4	3.25	13.00
Total	7		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.070
Asymp. Sig. (2-tailed)	.285
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok estradiol dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB

**Ranks**

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 Estradiol	3	4.00	12.00
750mg	4	4.00	16.00
Total	7		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok estradiol dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

kode ...		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2	Estradiol	3	4.00	12.00
	1.000mg	4	4.00	16.00
	Total	7		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok ekstradiol dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

kode ...		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2	Estradiol	3	5.00	15.00
	1250mg	4	3.25	13.00
	Total	7		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.061
Asymp. Sig. (2-tailed)	.289
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok estradiol dengan kelompok *shame ovariectomy*

**Ranks**

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2	Estradiol	3	6.00	18.00
	shamedovx	4	2.50	10.00
	Total	7		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB

**Ranks**

kode ...		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2	cmc na	4	3.50	14.00
	dosis100	4	5.50	22.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 250 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 cmc na	4	2.50	10.00
dosis250	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 cmc na	4	4.50	18.00
dosis500	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 cmc na	4	2.50	10.00
dosis750	5	7.00	35.00
Total	9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.449
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 cmc na	4	2.50	10.00
dosis1000	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 1vs2 cmc na	4	2.50	10.00
dosis1250	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 1vs2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok Na CMC dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 2vs9 cmc na	4	2.75	11.00
shame ovx	4	6.25	25.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 2vs9
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus



Kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 250 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 3vs4 dosis100	4	3.75	15.00
dosis250	4	5.25	21.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 3vs4
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 3vs5 dosis100	4	4.50	18.00
dosis500	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 3vs5
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 3vs6 dosis100	4	3.25	13.00
dosis750	5	6.40	32.00
Total	9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 3vs6
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.715
Asymp. Sig. (2-tailed)	.086
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.111 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 3vs7 dosis100	4	3.50	14.00
dosis1000	4	5.50	22.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 3vs7
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 3vs8 dosis100	4	3.75	15.00
dosis1250	4	5.25	21.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 3vs8
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 3vs9 dosis100	4	5.00	20.00
shame ovx	4	4.00	16.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 3vs9
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 250 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 4vs5 dosis250	4	5.25	21.00
dosis500	4	3.75	15.00
Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 4vs5
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.871
Asymp. Sig. (2-tailed)	.384
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 250 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB

Ranks

kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 4vs6 dosis250	4	4.00	16.00
dosis750	5	5.80	29.00
Total	9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 4vs6
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.980
Asymp. Sig. (2-tailed)	.327
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.413 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 250 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 4vs7	dosis250	4	4.25	17.00
	dosis1000	4	4.75	19.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 4vs7
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok dosis edamame terfermentasi 250 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 4vs8	dosis250	4	4.75	19.00
	dosis1250	4	4.25	17.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 4vs8
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok dosis edamame terfermentasi 250 mg/kgBB dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 4vs9	dosis250	4	5.75	23.00
	shame ovx	4	3.25	13.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 4vs9
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB

Ranks

	kode ...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 5vs6	dosis500	4	3.50	14.00
	dosis750	5	6.20	31.00
	Total	9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 5vs6
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.476
Asymp. Sig. (2-tailed)	.140
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.190 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 5vs7	dosis500	4	3.25	13.00
	dosis1000	4	5.75	23.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 5vs7
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.452
Asymp. Sig. (2-tailed)	.146
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 5vs8	dosis500	4	3.75	15.00
	dosis1250	4	5.25	21.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 5vs8
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.871
Asymp. Sig. (2-tailed)	.384
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 500 mg/kgBB dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 5vs9	dosis500	4	4.50	18.00
	shame ovx	4	4.50	18.00
Total		8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 5vs9
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 6vs7	dosis750	5	5.60	28.00
	dosis1000	4	4.25	17.00
Total		9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 6vs7
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.735
Asymp. Sig. (2-tailed)	.462
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.556 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus



Kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 6vs7	dosis750	5	5.60	28.00
	dosis1000	4	4.25	17.00
	Total	9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 6vs7
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.735
Asymp. Sig. (2-tailed)	.462
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.556 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

	kode tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 6vs8	dosis750	5	6.00	30.00
	dosis1250	4	3.75	15.00
	Total	9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 6vs8
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-1.225
Asymp. Sig. (2-tailed)	.221
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.286 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 750 mg/kgBB dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 6vs9	dosis750	5	6.80	34.00
	shame ovx	4	2.75	11.00
Total		9		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 6vs9
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.205
Asymp. Sig. (2-tailed)	.027
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB dengan kelompok edamame terfermentasi dosis 1.250 mg/kgBB

Ranks

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 7vs8	dosis1000	4	4.75	19.00
	dosis1250	4	4.25	17.00
Total		8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 7vs8
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 7vs9	dosis1000	4	6.50	26.00
	shame ovx	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 7vs9
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Kelompok edamame terfermentasi dosis 1.000 mg/kgBB dengan kelompok *shamed ovariectomy*

Ranks

kode tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
mda 8vs9	dosis1250	4	6.00	24.00
	shame ovx	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	mda 8vs9
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kode tikus

Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian



1. Biji Edamame setelah Dikupas



2. Fermentasi Edamame



3. Edamame Terfermentasi



4. Adaptasi Tikus



5. Ovariektomi



6. *Recovery* Pasca Ovariektomi



7. Perlakuan



8. Pemberian Kloroform Inhalasi Saat Terminasi



9. Pembedahan



10. Darah dan Serum Tikus



11. Pengukuran Kadar MDA