TAHU MENGHAMBAT KEHILANGAN TULANG LUMBAR TIKUS BETINA OVARIEKTOMI

[Tofu Attenuates Lumbar Bone Loss of Ovariectomized Female Rats]

Samsu Udayana Nurdin [1], Deddy Muchtadi [2], Ita Djuwita [3], Suyanto Pawiroharsono [4]

[1] Department of Agricultural Product Technology, Lampung University, Jln. Sumantri Brojonegoro No. 1Bandar Lampung, 35145;
[2] Department of Food Technology and Human Nutrition, Bogor Agriculture University, Jln. Lingkar Kampus, Dramaga Bogor; 16680;
[3] Laboratory of Embriology, Veteriner Faculty, Bogor Agriculture University, Jln. Agatis, Dramaga Bogor; 16680;
[4] Agency for the Assesment and Application of Technology, Jln. MH. Thamrin no. 8, Jakarta 10340.

ABSTRACT

The objectives of this research were to examine the efeects of feed containing soybean tofu and tempeh on lumbar bone density and mass of ovariectomized female rats. Twenty four 17 weeks-old Sprague-Dawley rats were randomly assigned to four group, i.e.: (1) non-ovariectomized rats fed casein based diet (NonOvx), (2) ovariectomized rats fed casein based diet (OvxC), (3) ovariectomized rats fed diet containing soybean tofu (OvxH), and (4) ovariectomized rats fed diet containing soybean tempeh (OvxT); in three block based on their body weight. The result show that body weight gram of ovariectomized rats was greater than nonovariectomized. Ovariectomy caused atrophy of the uterus, and resulted in higher serum calcium level. The lower lumbar vertebrae density of ovariectomized rats was observed and the decrease was prevented by tofu.

Key words : *Tofu, tempeh, bone loss, and ovariectomy*

PENDAHULUAN

Tempe dan tahu dikonsumsi oleh jutaan masyarakat di Indonesia dan telah menjadi sumber gizi yang sangat penting. Tempe mempunyai kandungan protein yang tinggi dengan nilai PER (*protein eficiency ratio*) yang hampir setara dengan kasein dan susu skim. Tempe merupakan sumber mineral seperti kalsium, fosfor, besi, serta berbagai vitamin (Syarief et al., 1999). Sedangkan tahu sering disebut sebagai daging tak bertulang, karena tahu merupakan produk nabati yang mutu proteinnya setingkat dengan produk hewani, yaitu daging dan ayam, dengan nilai NPU (*net protein utilization*) 65% (Shurtleff dan Aoyagi, 1979). Selain sebagai sumber gizi yang baik, tempe dan tahu juga merupakan sumber isoflavon yang penting karena dapat menyediakan 30 hingga 40 mg setiap penyajian (Indiana Soybean Board, 1998

Isoflavon adalah salah satu senyawa yang termasuk golongan flavonoid dan merupakan bagian terbesar dalam golongan tersebut. Isoflavon yang ditemukan pada *Leguminoceae* berjumlah cukup besar yaitu sekitar 0,25%. Sebanyak 99% isoflavon pada kedelai berupa glikosida dan terdiri dari 64% genistin, 23% daidzin, dan 13% glisitin 7-0-β-glikosida (Naim et al., 1974).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa isoflavon kedelai dapat mengurangi resiko osteoporosis (Messina, 1999a). Isoflavon memiliki struktur kimia yang sangat mirip dengan hormon estrogen dan obat osteoporosis ipriflavon yang merupakan isoflavon sintetis. Estrogen dan ipriflavon telah diketahui dapat melindungi densitas mineral tulang wanita postmenopouse. Beberapa data menunjukkan bahwa isoflavon tidak hanya menghambat kerusakan tulang tetapi juga menstimulasi pembentukannya (Messina, 1999b).

Tikus betina sebagai model telah banyak digunakan untuk penelitian osteoporosis. Pada penelitian ini tikus dibuat kekurangan hormon estrogen dengan cara membuang ovariumnya (*ovariectomy*). Varietas yang umum digunakan adalah Sprague-Dawley (Anderson et al., 1995; Arjmandi et al., 1996; Arjmandi et al., 1998; Fanti et al., 1998). Walaupun hewan model tidak mengalami patah tulang, kemungkinan untuk melakukan uji dengan tulang hewan dapat menjadi cara yang akurat untuk menganalisa kerusakan yang dapat mengakibatkan patah tulang (Tuukkanen, 2001).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian tahu dan tempe terhadap massa (kandungan kalsium tulang/volume tulang) dan densitas (berat tulang/volume tulang) dan densitas tulang lumbar tikus percobaan betina yang diovariektomi. Tulang lumbar merupakan golongan tulang trabekular yang cepat menglami *remodeling* (Heaney, 1999) sehingga lebih responsip terhadap perlakuan (Arjmandi et al., 1996). Untuk melihat ada/tidaknya efek estrogenik isoflavon dalam tahu dan tempe maka diamati berat uterus tikus. Evaluasi juga dilakukan terhadap jumlah konsumsi pakan, pertambahan berat badan, dan efisiensi pakan tikus selama percobaan.

METODOLOGI

Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Pangan dan Gizi Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian; kandang hewan percobaan Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian; Pusat Pengembangan Teknologi Pangan IPB; Laboratorium Teknologi Bioindustri, Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Bioindustri (P_3TB) Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) di kawasan Pusat Pengembangan Ilmu dan Teknologi Serpong.

Pakan, Hewan Percobaan, dan Pelaksanaan Percobaan

Persiapan pakan meliputi pembuatan tahu dan tempe, tepung tahu dan tepung tempe, dan pencampuran pakan. Kedelai yang digunakan adalah impor dari Amerika yang diperoleh dari agen kedelai di daerah Cilendek Bogor. Ragi yang digunakan adalah ragi Hanoman (BPPT) . Bahan penggumpal yang digunakan dalam pembuatan tahu adalah $CaSO_4$. Tahu dan tempe yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan *drum drier* (R Simon Dryers Ltd., England) dan digiling menjadi tepung. Tepung yang dihasilkan digunakan sebagai bahan pakan tikus pada pelaksanaan penelitian.

Analisis kandungan isoflavon (Siregar dan Pawiroharsono, 1997) dilakukan terhadap tepung tahu dan tepung tempe. Analisis proksimat lengkap dilakukan terhadap tepung tahu dan tepung tempe sebagai dasar perhitungan dalam formulasi pakan tikus. Selain itu dianalisis pula kandungan kalsium dan fosfor tepung tahu dan tepung tempe. Selama menunggu waktu analisis dan pemberian pakan, tepung tahu dan tepung tempe dikemas dalam kantung plastik polietilen, kemudian disimpan dalam lemari es.

Komposisi pakan perlakuan yang akan diberikan adalah isonitrogenous dan isoenergi dengan perhitungan yang disesuaikan dengan anjuran AOAC (1990) (Tabel 1).

Semua bahan pakan diaduk hingga homogen dan diukur kadar airnya untuk mengetahui berat kering pakan yang diberikan. Kadar air sisa pakan juga diukur untuk mengetahui berat kering pakan yang tersisa. Berat kering pakan yang dimakan tikus adalah selisih antara berat kering pakan yang diberikan dengan berat kering pakan sisa. Kalsium dan fosfor pada pakan yang menggunakan tepung tahu dan tepung tempe diatur sama dengan pakan kasein menggunakan kalsium karbonat atau potasium fosfat monobasik.

Pemberian pakan perlakuan dilakukan selama 32 hari. Waktu perlakuan ini mengacu pada penelitian Arjmandi et al., (1996) yang mendapatkan bahwa setelah 30 hari, kehilangan tulang telah teramati pada tikus yang diovariektomi. Tikus diberi pakan dan minum air bebas ion secara *ad libitum*. Kandang yang digunakan adalah kandang plastik yang diberi lubang pada bagian bawahnya.

Ovariektomi tikus dilakukan berdasarkan prosedur Hogan et al., (1986). Tikus yang akan diovariektomi dibius dengan ketamin (Ketavet) dengan dosis 1ml/200 gram BB. Ovariektomi tikus dilakukan pada saat tikus berusia 90 hari. Kemudian dilakukan pemulihan hingga jahitan siap dilepas (20 hari). Sebelum percobaan dimulai, tikus normal dan yang diovariektomi diadaptasikan di lingkungan laboratorium percobaan selama 10 hari.

Tabel 1. Komposisi bahan untuk pembuatan 1 kg pakan

Komposisi	Perlakuan			
	NonOvx	OvxC	OvxH	OvxT
Kasein (g)	109,53	109,53	-	-
Tepung tahu (g)	-	-	230,00	
Tepung tempe (g)	-	-		269,59
Minyak jagung (g)	79,80	79,80	32,50	33,70
Selulosa teknis (g)	20	20	8,35	2,12
Mineral mix* (g)	11,31	11,31	9,40	8,71
$CaCO_3$ (g)	37,56	37,56	21,99	28,69
KH_2PO_4 (g)	19,15	19,15	16,66	18,42
Vitamin (Bekamin) (g)	10	10	10	10
Air (g)	41,30	41,30	25,73	19,42
Pati jagung (Maizena) (g)	671,35	671,35	645,37	609,35

Keterangan: * = tanpa $CaCO_3$ dan KH_2PO_4; OvxC = Tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein Casein; NonOvx = Tikus yang tidak diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein Casein; OvxH = Tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tahu; OvxT = Tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tempe.

Percobaan menggunakan 24 (dua puluh empat) tikus betina Sprague-Dawley yang berusia 17 minggu. Tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan berat badan awal (Tabel 2). Setiap kelompok terdiri dari 8 ekor tikus, yaitu 2 ekor tikus betina steril yang akan diberi ransum dengan sumber protein kasein sebagai kontrol negatif (OvxC), 2 tikus betina steril yang akan diberi ransum dengan sumber protein tepung tahu (OvxH), 2 tikus betina steril yang akan diberi ransum dengan sumber protein tepung tempe (OvxT), dan 2 tikus betina normal yang akan diberi ransum dengan sumber protein kasein sebagai kontrol positif (NonOvx).

Setelah 32 hari percobaan, tikus dibius dan dimatikan, kemudian darah dari leher ditampung untuk diambil serumnya. Serum dari setiap tikus ditempatkan ke dalam botol kecil dan disimpan pada suhu lemari es hingga waktu analisis. Tulang yang dianalisis adalah n tulang lumbar keempat (*fourth lumbar bones)* yang dikeluarkan dari tubuh tikus melalui operasi.

Pengamatan

Untuk mengamati pengaruh perlakuan terhadap tulang tikus percobaan maka diamati massa (kandungan kalsium tulang/volume tulang) dan densitas (berat tulang/volume tulang) tulang lumbar keempat, serta kadar kalsium serum. Data lain yang juga diukur adalah berat tikus awal dan setelah percobaan, serta jumlah ransum yang dikonsumsi. Untuk melihat efek estrogenik dari isoflavon, maka diamati juga berat uterus tikus setelah selesai percobaan.

Prosedur penentuan densitas dan massa tulang femur dan Tulang lumbar keempat tikus (Arjmandi et al., 1996)

Tulang yang diamati adalah tulang lumbar keempat. Tulang lumbar keempat dipisahkan dari jaringan lunak menggunakan gunting kecil, jepitan, dan *cotton gauze.* Volume dan densitas tulang diukur dengan memasukkan setiap tulang ke dalam *syringe* (ukuran 1 ml) yang tidak tertutup yang berisi air bebas ion yang telah diletakkan pada ruang vakum hingga bebas gelembung udara. Tulang dalam *syringe* tersebut kemudian dimasukkan ke dalam ruang vakum kembali untuk memastikan bahwa air yang terperangkap sudah terdifusi keluar tulang. Setelah pengukuran volume, tulang-tulang tersebut dipindahkan dari *syringe* dan dikeringkan dengan kertas tisu, kemudian ditimbang. Densitas tulang dihitung dalam g/ml volume tulang. Massa tulang dihitung sebagai mg Ca/100ml volume tulang.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok Lengkap. Pengelompokkan di dasarkan atas berat badan awal. Perlakuan yang diberikan adalah tikus betina ovariektomi yang diberi ransum dengan sumber protein kasein (OvxC), tikus betina ovariektomi yang diberi ransum dengan sumber protein tepung tahu (OvxH), tikus betina ovariektomi yang diberi ransum dengan sumber protein tepung tempe (OvxT), dan tikus betina normal diberi ransum dengan sumber protein kasein (NonOvx).

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 6 kali. Data yang diperoleh kemudian diolah dengan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diuji. Untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan, data yang menunjukkan pengaruh nyata, (Steele and Torrie, 1993), selanjutnya diuji dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat Badan dan Jumlah Konsumsi Pakan

Pengaruh perlakuan terhadap pertambahan berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 2. Tikus yang diovariektomi (OvxC, OvxH, OvxT) mengalami pertambahan berat badan yang lebih besar jika dibandingkan dengan tikus yang tidak diovariektomi (NonOvx). Arjmandi et al., (1996) mendapatkan data pertambahan berat badan yang sejalan dengan penelitian ini, tetapi peningkatan berat badan akibat ovariektomi tersebut dapat dicegah dengan pemberian 17-β estradiol atau konsentrat protein kedelai.

Peningkatan berat badan tikus yang mengalami ovariektomi diduga akibat terjadinya peningkatan simpanan lemak pada jaringan adiposa. Ovariektomi telah menyebabkan berkurangnya produksi estrogen, sehingga terjadi penurunan katabolisme lemak. Akibatnya terjadi peningkatan deposit lemak pada jaringan adiposa. Percobaan menggunakan mencit yang dibuat tidak mampu menghasilkan estrogen endogen (Jones et al., 2000) dan mencit yang tidak memiliki reseptor estrogen alpa (ERα) mendukung dugaan tersebut, yaitu bahwa peningkatan berat badan tikus disebabkan oleh adanya peningkatan berat jaringan lemak putih (*White Adipose Tissue*).

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap pertambahan berat badan, konsumsi pakan rata-rata, dan terhadap perbandingan pertambahan berat badan dengan jumlah konsumsi pakan rata-rata

Perlakuan	Parameter		
	Pertambahan berat badan (g)	Konsumsi pakan rata-rata (g bk)	Pertambahan berat badan/konsumsi pakan rata rata
NonOvx	30,00a	9,56a	3,13a
OvxC	41,33b	10,91a	3,84bc
OvxH	48,33b	10,67a	4,34c
OvxT	38,73b	10,72a	3,62ab

Keterangan: Huruf berbeda ke arah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (α=5%); OvxC = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; NonOvx = Tikus yang tidak diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; OvxH = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tahu; OvxT = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tempe.

Peningkatan berat badan tikus yang mengalami ovariektomi pada penelitian ini ternyata tanpa disertai dengan peningkatan jumlah konsumsi pakan (Lampiran 1 dan Tabel 8). Wade dan Gray (1985) yang dikutip Heine et al., (2000) mendapatkan hal yang sama pada tikus dan hamster, dan menduga hal tersebut disebabkan oleh adanya penurunan pengeluaran energi *(energy expenditure)*. Heine et al., (2000) menganggap bahwa penurunan pengeluaran energi merupakan faktor penting yang menyebabkan kegemukan pada tikus yang tidak memiliki reseptor estrogen alfa (ERα). Tetapi pada mencit yang tidak mampu memproduksi estrogen endogen peningkatan berat badan justru disertai dengan penurunan jumlah konsumsi pangan. Pada mencit jenis ini peningkatan berat badan diduga disebabkan oleh adanya penurunan tingkat aktivitas fisik spontan, penurunan oksidasi glukosa, dan penurunan *lean body mass* (Jones et al., 2000).

Berat Uterus dan Berat Uterus per Berat Badan

Pengaruh perlakuan terhadap berat uterus dan terhadap berat uterus/berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 3. Ovarium adalah sumber utama estrogen yang berperan dalam proliferasi sel-sel uterus (Granner, 1990). Estrogen menyebabkan hiperemia dan meningkatkan penggabungan asam amino, sintesis asam nukleat, dan retensi nitrogen di dalam endometrium. Estrogen juga menstimulasi fosforilasi, glikolisis aerobik dan anaerobik, dan deposisi glikogen (Hafez, 1970).

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap berat uterus dan terhadap perbandingan berat uterus dengan berat badan

Perlakuan	Parameter	
	Berat uterus (g)	Berat uterus/berat badan
NonOvx	0,392a	0,0015a
OvxC	0,0667b	0,00023b
OvxH	0,0709b	0,00027b
OvxT	0,0761b	0,00029b

Keterangan: Huruf berbeda ke arah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (α=5%); OvxC= Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; NonOvx = Tikus yang tidak diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; OvxH = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tahu; OvxT = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tempe.

Ovariektomi menyebabkan hilangnya ovarium, sehingga proliferasi sel-sel uterus terganggu dan menyebabkan terjadinya atropi pada uterus (Tabel 3). Pakan yang mengandung tahu dan tempe tidak mampu mencegah terjadinya atropi. Hal ini disebabkan isoflavon yang terkandung pada tahu dan tempe tidak mempunyai efek estrogenik yang dapat mencegah terjadinya atropi uterus. Beberapa penelitian yang dilakukan pada tikus (Arjmandi et al., 1996; Arjmandi et al., 1998) dan monyet (Anthony et al., 1996) yang diovariektomi menunjukkan data yang serupa. Bahkan penelitian yang menggunakan genistein, yang memiliki efek estrogenik 100% lebih besar dibandingkan dengan daizin (Zhang et al., 1999), tidak mampu mencegah atropi uterus pada tikus menyusui, tikus muda (Anderson et al., 1995) atau mencit (Ishimi et al., 1999) yang diovariektomi.

Uterus mengandung lebih banyak reseptor estrogen alfa (ERα) bila dibandingkan dengan reseptor estrogen beta (ERβ). Isoflavon bersifat antagonis terhadap estrogen pada ERα, sehingga pada jaringan yang banyak mengandung ERα senyawa ini menempati reseptor estrogen dan memblok stimulasi DNA dan sintesis protein yang diinduksi oleh estradiol (Anderson, 1998). Kuiper et al., (1997) sebelumnya juga telah menunjukkan bahwa genistein, sebagai senyawa isoflavon dengan efek estrogenik terkuat, mempunyai afinitas yang lebih tinggi terhadap ERβ bila dibandingkan dengan ERα.

Kadar Kalsium Serum

Dari Tabel 4 dapat diduga bahwa ovariektomi telah menyebabkan terjadinya peningkatan resorpsi tulang pada tikus percobaan. Ovariektomi menyebabkan peningkatan kadar kalsium serum, yang merupakan salah satu indikator terjadinya peningkatan proses resorpsi tulang (Djojosoebagio, 1996). Pemberian ransum yang mengandung tahu dan tempe ternyata tidak mampu mencegah terjadinya peningkatan resorpsi tulang. Hal ini diduga disebabkan rata-rata konsumsi isoflavon oleh tikus yang mengalami ovariektomi relatif kecil untuk mencegah terjadinya resorpsi tulang atau untuk meningkatkan laju pembentukan tulang.

Estrogen menghambat pembentukan interleukin-1 (IL-1), *tumour necrosis factor* (TNF) (Gowen, 1991) dan interleukin-6 (IL-6) (Girasole et al., 1992). Ketiga jenis sitokin ini dapat menstimulasi aktivitas osteoklas sehingga terjadi peningkatan laju resorpsi tulang. Kekurangan estrogen akibat ovariektomi menyebabkan peningkatan produksi ketiga jenis sitokin tersebut.

Walaupun menemukan beberapa indikator terjadinya peningkatan laju remodeling tulang (seperti peningkatan kadar alkalin fosfatase dan *tartrate-resistant acid phosphatase*) akibat ovariektomi, tetapi Arjmandi et.al (1996) tidak menemukan perbedaan kadar kalsium pada serum tikusnya. Peningkatan indikator tersebut tidak dapat dicegah oleh pemberian isoflavon, walaupun isoflavon terbukti menghambat kehilangan tulang. Berdasarkan hal ini maka Arjmandi et al., (1996) berpendapat bahwa isoflavon meningkatkan laju pembentukan tulang sehingga melampaui laju resorpsinya.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap kadar kalsium serum

Perlakuan	Kadar kalsium serum (mg/100ml)
NonOvx	1,39a
OvxC	2,19b
OvxH	2,51b
OvxT	2,29b

Keterangan: Huruf berbeda ke arah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (α=5%); OvxC = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; NonOvx = Tikus yang tidak diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; OvxH = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tahu; OvxT = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tempe.

Massa dan Densitas Tulang Lumbar Keempat

Pada Tabel 5 terlihat bahwa ovariektomi hanya berpengaruh nyata pada densitas tulang tetapi tidak pada massa tulang lumbar tikus. Ovariektomi menyebabkan penurunan densitas tulang dan dapat dihambat dengan pemberian pakan yang mengandung tahu. Tepung tempe ternyata relatif kurang mampu mencegah penurunan densitas tulang lumbar, walaupun kandungan isoflavonnya lebih tinggi bila dibandingkan dengan tepung tahu, sehingga pengaruh terhadap penurunan densitas tulang ini diduga tidak secara langsung disebabkan oleh aktivitas isoflavon pada tulang. Konsumsi rata-rata isoflavon relatif kecil untuk dapat memberikan efek positif terhadap densitas tulang. Isoflavon dalam konsentrasi rendah tidak berpengaruh atau berpengaruh kecil (Fanti et al., 1998; Anderson et al.,1996) atau terlalu tinggi (Fanti et al., 1998) tidak mempunyai efek yang nyata pada tulang. Berdasarkan kadar isoflavon tahu dan tempe (Tabel 6), maka konsumsi rata-rata isoflavon pada penelitian ini lebih rendah (3,34 mg/kg berat badan/hari untuk tahu, dan 4,703 mg/kg berat badan/hari untuk tempe) jika dibandingkan dengan konsumsi rata-rata isoflavon pada penelitian Arjmandi et al. (1996) atau penelitian Arjmandi et al., (1998) yaitu 8,031 mg/kg berat badan/hari.

Tabel 5. Pengaruh perlakuan terhadap massa dan densitas tulang lumbar keempat

Perlakuan	Parameter	
	Massa (mg Ca/100ml)	Densitas (mg/ml)
NonOvx	10,59a	1,74a
OvxC	7,83a	1,44c
OvxH	7,96a	1,61ab
OvxT	8,99a	1,52bc

Keterangan: Huruf berbeda ke arah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (α=5%); OvxC = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; NonOvx = Tikus yang tidak diovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein kasein; OvxH = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tahu; OvxT = Tikus ovariektomi yang mendapat pakan dengan sumber protein tempe.

Tabel 6. Hasil analisis kuantitatif isoflavon tepung tahu dan tepung tempe

Komponen	Tepung tahu	Tepung tempe	Tepung tahu	Tepung tempe
	(mg/100g berat basah)		(mg/100g berat kering)	
Faktor II	1,327	1,275	1,483	1,439
Daidzein	15,315	23,259	17,121	26,237
Glycitein	0,295	0,132	0,330	0,148
Genistein	18,661	18,661	20,862	21,050
Total	35,598	43,237	39,796	48,873

Penghambatan penurunan densitas tulang lumbar oleh pakan yang mengandung tahu diduga karena pakan ini menyebabkan penumpukan lemak abdominal yang lebih besar bila dibandingkan dengan tempe, yang ditunjukkan oleh efisiensi (pertambahan berat badan per konsumsi pakan) tahu yang lebih baik jika dibandingkan dengan tempe (Tabel 2). Walaupun kasein mempunyai efisiensi pakan yang sama dengan tahu, tetapi sebagai protein hewani, kasein dapat meningkatkan ekskresi kalsium melalui urin karena kandungan asam amino sulfurnya yang tinggi (Granner, 1990).

Tempe dengan kandungan isoflavon yang lebih tinggi diduga menghasilkan timbunan lemak abdominal yang lebih sedikit. Hal ini disebabkan karena isoflavon pada jaringan lemak dapat bersifat proestrogen (Arjmandi et al., 1996) yang mampu meningkatkan terjadinya katabolisme lemak.

Timbunan lemak abdominal memberikan keuntungan bagi kesehatan tulang, karena jaringan ini dapat menghasilkan estrogen (Lane, 2001). Pada wanita usia lanjut yang tidak menggunakan terapi pengganti estrogen, lemak tubuh mempunyai peranan penting dalam pemeliharaan tulang dibandingkan otot (Baumgartner et al.,1996).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pertambahan berat badan tikus yang tidak diovariektomi (NonOvx) lebih rendah jika dibandingkan dengan berat badan tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan kasein (OvxC), tahu (OvxH) atau tempe (OvxT) yaitu berturut-turut 30,00 g, 41,33 g, 48,33 g, dan 38,73 g. Konsumsi pakan rata-rata tidak berbeda nyata antarperlakuan, dengan rata-rata konsumsi untuk NonOvx, OvxC, OvxH, dan OvxT masing-masing sebesar 9,56 g, 10,91 g, 10,67 g, dan 10,72 g. Ovariektomi meningkatkan laju resorpsi tulang yang ditandai dengan meningkatnya kadar kalsium serum (yaitu 2,19 mg/100 ml serum untuk OvxC, 2,51 mg/100 ml serum untuk OvxH, dan 2,29 mg/100 ml serum untuk OvxT) dibandingkan tikus normal (1,39 mg/100 ml serum). Densitas tulang lumbar keempat tikus normal dan tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan tahu tidak berbeda nyata (yaitu masing-masing 1,74 mg/100 ml dan 1,61 mg/100 ml) dan lebih baik jika dibandingkan dengan tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan kasein dan tempe (yaitu masing-masing 1,44 mg/100 ml dan 1,52 mg/100 ml. Atropi uterus akibat ovariektomi tidak dapat dicegah oleh pemberian pakan yang mengandung tepung tahu dan tepung tempe, yang dibuktikan oleh berat uterus tikus yang diovariektomi yang mendapat pakan tahu (0,0709 g) atau tempe (0,0761 g) yang jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan tikus normal (0,392 g).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang prilaku hormonal yang berkaitan dengan ovariektomi dan proses remodeling tulang, sehingga pengaruh tahu dan tempe dapat diketahui dengan lebih baik.

Konsentrasi isoflavon dalam pakan ditingkatkan dengan meningkatkan kadar proteinnya sehingga dapat lebih terlihat pengaruh tahu dan tempe dalam proses remodeling tulang.

Meningkatkan jumlah tikus percobaan, sehingga presisi hasil penelitian dapat lebih ditingkatkan.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, J.J., Ambrose, W.W., Garner, S.C. 1995. Orrally Dosed Genistein from Soy and Prevention of Concellous Bone Loss in Two Ovariectimized Rat Models. *J. Nutr.* 25:799S (Abstract).

Anderson, John J.B. 1998. Dietary Phytoestrogens and Bone Health. http://www.soyohio.org/health/diet/bone.htm. 2 Maret 2001

Anthony, M.S., Clarkson, T.B., Hughes, C.L.Jr., Morgan, T.M., Burke, G.L. 1996. Soybean Isoflavones Improve Cardiovascular Risk Factors without

Affecting the Reproductive System of Peripubertal Rhesus Monkeys. *J. Nutr.* 126: 43—50.

AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis of the AOAC.* AOAC, Inc. Arlington, Virginia.

Arjmandi BH., R. Birnbaun, NV. Goyal. MJ. Getlinger, S. Juma, L. Alekel. CM. Hasler, ML. Drum, BW. Hollis, SC. Kukreja. 1998. Bone-Sparing Effect of Soy Protein in Ovarian Hormone-Deficient Rats is Related to Its Isoflavone Content. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(suppl.):1364S-1368S.

Arjmandi, B.H., Alekel, L., Hollis, B.W., Amin, D., Stacewicz-Sapuntzakis, M., Guo, P., Kukreja, S.C. 1996. Dietary Soybean Protein Prevents Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *J. Nutr.* 126: 161—167.

Baumgartner, R.N., Stauber, P.M., Koehler, K.M., Romero, L., Garry, P.J. 1996. Associations of Fat and Muscle Masses with Bone Mineral in Elderly Men and Women. *Am. J. Clin. Nutr.* 63:365-372.

Djojosoebagio, S. 1996. *Fisiologi Kelenjar Endokrin.* UI Press. Jakarta.

Fanti, O., M.C. Faugere, Z. Gang, J. Schmidt, D. Cohen, H.H. Malluche. 1998. Systemic Administration of Genistein partially Prevents Bone Loss in Ovariectomized Rats in nonestrogen-like Mechamins. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(Suppl.): 1517S-1521S.

Girasole, G., Jilka, R.L., Passeri, G., Boswell, S., Boder, G., Williams, D.C., Manolagas, S.C. 1992. 17β-Estradiol Inhibits Interleukin-6 Production by Bone Marrow-derived Stromal Cells and Osteoblasts *in vitro*: a Potential Mechanism for the Antiosteoporotic Effect of Estrogens. *The Journal of Clinical Investigation* 89:883—891.

Gowen, M. 1991. Cytokines and Skeletal disorders. In *Cytokene Interactions and Their Control.* Baxter, A. And Ross, R. (Eds.). Jhon Wiley and Son. West Sussex.

Granner, D.K., 1990. Hormon yang mengatur metabolisme kalsium. Dalam *Biokimia (Harper's Review of Biochemistry).* Diterjemahkan oleh Darmawan, I. EGC. Jakarta.

Hafez, E.S.E. 1970. Female Reproductive Organs. In *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals.* Hafez, E.E.E. (Ed.). Lea and Febriger. Philadelphia.

Heaney, R.P. 1999. Bone Niology in Health and Disease. In *Modern Nutrition in Health and Disease.* Shils, M.E., Olson, J.A., Shike, M., and Ross, A.C. (Eds.). Williams and Wilkins. Maryland.

Heine, PA., Taylor, JA., Iwamoto, G.A., Lubahn, DB., Cooke, PS. 2000. Increased Adipose Tissue in Male and Female Estrogen Receptor-α Knockout Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA. 97(23):12729-12734.

Hogan, B., Costantini, F., Lacy, E. 1986. Manipulating the Mouse Embryo. Cold Spring Harbor Laboratory.

Ishimi, Y., Miyaaura, C., Ohmuro, M., Onoe, Y., Sato, T., Uchiyama, Y., Ito, M., Wang, X., Suda, T., Ikegami, S. 1999. Selective Effects of Genistein, a Soybean Isoflavone, on B-Lymphopoiesis and Bone Loss Caused by Estrogen Deficiency. *Endocrinology.* 140(4):1893-1900.

Indiana soybean Board. 1998. Isoflavone concentration in soy foods. http://www.soyfood.com/nutrition/isoflavoneconcentration.html. Juni 2001.

Jones, M.E.E., Thorburn, A.W., Britt, K.I., Hewitt, K.N., wreford, N.G., Proietto, J., Oz, O.K., Leury, B.J., Robertson, K.M., Yao, S., Simpson, E.R. 2000. Aromatase-Deficient (ArKO) Mice have a Phenotype of Increased Adiposity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA. 97(23):12735-12740.

Kuiper, G.G.J.M., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Haggblod, J., Nilsson, S., Gustafsson, J.A. 1997. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β. *Endocrinology.* 138:863-870.

Lane, N.E. 2001. *Lebih Lengkap Tentang: Osteoporosis.* Diterjemahkan oleh Eri D. Nasution. PT. Rajagrafindo Persada. Jakarta.

Messina, M.J. 1999a. A Close Look at Soybean (Expert Opinion). *In Perspective in Nutrition. Fourth Edition.* G.M. Wardlow (Ed.). The Tikus (mice) Graw-Hill Co. USA.

Messina, M.J. 1999b. Legumes and Soybeans: Overview of Their Nutritional Profiles and Health Effects. *Am. J. Clin. Nutr.* 70(suppl.)439S-450S.

Naim, M., Gestetner, B., Ziekal, S., Bilk, Y., Bondi, A. 1974. Soybean Isoflavone, Characterization, Determination, and Antifungal Activity. *J. Of Agric. Food Chem.* 22(5):806-809.

Shurtleff, W., A. Aoyagi. 1979. *The Book of Tempeh.* Harper and Row. New York.

Siregar, E, Pawiroharsono, S. 1997. Inocula Formulation and Its Role for Biotransformation of Isoflavonoid Compounds. In *Reinventing the Hidden Miracle of Tempe*. Sudarmadji, S. Suparmo, Raharjo, S. (Eds.). Indonesian Tempe Foundation. Jakarta.

Syarief, R. Hermanianto, J., Hariyadi, P., Wiraatmadja. S., Suliantri, Dahrulsyah, Suyatna, N.E., Saragih, Y.P., Arisasmita, J.H., Kuswardani, I., Astuti, M. 1999. *Wacana Tempe Indonesia.* Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya.

Tuukkanen, J. 2001. Department of Anatomy, University of Oulu, Finland. http://www.2bbc.dk/abs029.htm. April 2001.

Zhang, Y., Song, T.T., Cunnick, J.E., Murphy, P.A., Hendrich, S. 1999. Daidzein and Genistein Glucuronides in Vitro are Weakly Estrogenic and Active Human Natural Killer Cell at Nutritionally Relevant Concentrations. *J. Nutr.* 129:399-405.