

## PENGARUH PEMBERIAN GENISTEIN TERHADAP PENURUNAN KADAR TNF ALPHA PADA ZALIR PERITONEAL MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS

RR. Catur Leny Wulandari

Prodi D3 Kebidanan FK Unissula Semarang

Email : caturleny@unissula.ac.id

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian genistein terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  studi pada (*Mus musculus*) model endometriosis. Penelitian dibagi menjadi 8 kelompok, yaitu : kontrol negatif, kontrol positif dengan perlakuan pemberian genistein dosis 50 mg/hari, 100 mg/hari, 200 mg/hari, 300 mg/hari, 400 mg/hari, 500 mg/hari. Pengukuran kadar TNF- $\alpha$  menggunakan *ELISA* kit. Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* dan uji Perbandingan berganda  $|R_i - R_j|$  5%. Menggunakan mencit model endometriosis. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*) dengan menggunakan rancangan percobaan dengan metode *randomized post-test control group design.*, dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Ada pengaruh pemberian genistein terhadap kadar TNF- $\alpha$  dalam cairan peritoneal mencit model endometriosis ( $p < 0,05$ ). Genistein mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  terendah pada dosis 100 mg/hari ( $148.25 \pm 7.89$  pg/ml) bila dibandingkan dengan perlakuan dosis yang lain.

**Kata Kunci:** endometriosis, genistein, TNF- $\alpha$ , model endometriosis

---

### PENDAHULUAN

Endometriosis adalah salah satu gangguan ginekologi yang dipengaruhi oleh hormon estrogen dalam pertumbuhannya. Seorang wanita dikatakan menderita endometriosis apabila ditemukan kelenjar endometrium dan stroma yang terdapat di dalam miometrium ataupun di luar uterus (Anwar, *et al.*, 2011). Soares *et al.*, (2012) melaporkan bahwa patofisiologi dari endometriosis adalah respon inflamasi, *survive* sel, proliferasi, migrasi, adhesi dan invasi serta angiogenesis. Pada wanita dengan endometriosis, terjadi peningkatan jumlah leukosit dan makrofag di dalam dan di sekitar implan endometrium dan cairan peritoneal. Sel-sel ini mensekresi sitokin

(*interleukin 1, 6, dan 8; tumor necrosis factor, RANTES*) dan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) ke dalam lingkungan peritoneal, yang kemudian merekrut sekitar kapiler dan leukosit. Efek utamanya adalah proliferasi implan endometriosis dengan peningkatan pasokan vaskular (Macer *et al.*, 2012).

Proses inflamasi pada rongga panggul memiliki fungsi yang berubah berhubungan dengan sel imun pada lingkungan peritoneal, hal ini memegang peranan penting dalam permulaan dan perkembangan endometriosis (Lu *et al.*, 2013). Beberapa penelitian telah menunjukkan terjadi peningkatan kadar

sitokin pro-inflamasi dalam cairan peritoneal dan serum pada wanita dengan endometriosis (Falconer *et al.*, 2009). Pertama kali ditandai dengan peningkatan aktivasi makrofag dan penurunan sitotoksitas sel *Natural Killer* (NK) pada sel endometrium (Lebovic *et al.*, 2000). Kedua ditandai dengan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi antara lain *interleukin-1 beta* (IL-1 $\beta$ ) dan *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) (Zheng *et al.*, 2012).

Dengan mempertimbangkan dampak yang tidak diinginkan dari terapi endometriosis terutama anti-TNF- $\alpha$ , maka diperlukan senyawa anti-inflamasi yang lebih aman untuk pengobatan dari berbagai gangguan inflamasi akut dan kronik. Genistein merupakan anggota keluarga isoflavon yang memiliki sifat biologis termasuk antikanker, antimikroba, antivirus, anti-inflamasi, aktivitas imunomodulator dan antitrombotik. Struktur genistein menyerupai estradiol, dan memiliki efek baik estrogenik dan antiestrogenik, tergantung pada konsentrasi sirkulasi estrogen endogen dan Estrogen Reseptor (ER). Apabila berikatan dengan reseptor estrogen- $\beta$ , genistein memiliki efek penghambatan pada endometrium (Yavuz *et al.*, 2007). Genistein merupakan isoflavon yang memiliki kemampuan berikatan lebih kuat dengan *reseptor estrogen- $\beta$*  (RE- $\beta$ ). Adanya proses kompetitif inhibitor melalui interaksi dengan RE- $\beta$ , mengakibatkan efek antiestrogenik, sehingga menghambat aktivasi makrofag peritoneal dan produksi *mayor*

*inflammatorysitokin* seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  (Yavuz, 2007). Pemberian genistein dalam konsentrasi yang tinggi dapat menghambat proliferasi sel pada kanker payudara tetapi sebaliknya bila diberikan dengan konsentrasi rendah dapat merangsang proliferasi (Matsukura *et al.*, 2011).

Berdasarkan uraian tersebut diatas dan melihat pentingnya peran genistein pada beberapa penyakit dan berbagai penelitian yang telah dilakukan dan belum pernah dilakukan tentang efek genistein terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada mencit model endometriosis maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Pengaruh pemberian genistein terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada zalir peritoneal mencit model endometriosis".

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan desain *true eksperimental, randomized post-test control group design*. Dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus -September 2014. Sampel yang dipergunakan adalah mencit betina yang dibuat model endometriosis, implantasi jaringan *myometrium* dan endometrium dari bahan operasi tumor jinak (*adenomyosis*). Replikasi pada penelitian ini dengan 1 kelompok kontrol negatif, 1 kontrol positif dan 6 kelompok dengan perlakuan genistein yaitu

50 mg/hari, 100 mg/hari, 200 mg/hari, 300 mg/hari, 400 mg/hari dan 500 mg/hari. Genistein yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah merk dagang Genistein diproduksi oleh *Tokyo Chemical Industry*, Jepang, nomor batch OW86I-QF, dalam kemasan botol. Untuk mempermudah proses pemberian per-oral menggunakan sonde, genistein dalam bentuk serbuk perlu diencerkan menggunakan minyak wijen sampai mencapai volume yang diinginkan (Hilman *et al.*, 2007). Alat yang digunakan meliputi seperangkat alat bedah steril, timbangan analitik, sonde, pengaduk, gelas ukur, spuit, tabung, *camera digital*, *Micro Sentrifuge Tube* 1,5 ml, pipet mikro 50  $\mu$ L, 100  $\mu$ L dan 1000 $\mu$ L, tip *falcon* 15 ml, *Sentrifuge*, serta *Mouse TNF- $\alpha$*  (Catalog# 430907/430908) dan *ELISA Reader*.

### **Prosedur Pembuatan Mencit (*Mus musculus*) Model Endometriosis**

Pembuatan mencit model endometriosis merujuk pada penelitian yang sudah pernah dilakukan oleh Sutrisno *et al.* (2014). Pada hari pertama mencit (*Mus musculus*) pada kelompok K+ dan perlakuan diberikan injeksi *Syclosporin A* sebanyak 0,2 cc/mencit secara *intramuscular* untuk membuat mencit menjadi *imunodefisiensi*. Sementara itu bahan *myometrium* dan *endometrium* diambil dari bahan uterus operasi tumor jinak (*adenomyosis*) setiap mencit akan mendapatkan 0,1 cc disuntikan secara *blind* (intraperitoneal) pada cavum peritoneum mencit. Selanjutnya dilakukan penyuntikan

*Ethynil Estradiol* 0,1 cc/mencit secara *intramuscular* pada hari ke 1 dan 5. Kemudian ditunggu selama 14 hari dengan pemberian makan dan minum, pada hari ke-15 beberapa mencit di lakukan pembedahan untuk mengetahui terjadinya endometriosis yaitu dengan adanya lesi pada peritoneum mencit.

Selanjutnya kelompok perlakuan dipapar genistein dengan berbagai dosis 50 mg/hari (~0,13 mg/hari/mencit), 100 mg/hari (~0,26 mg/hari /mencit), 200 mg/hari (~0,52 mg/hari/mencit), 300 mg/hari (~0,78 mg/hari/mencit) dan 400 mg/hari (~1,04 mg/hari/mencit) dan 500 mg/hari (~1,30 mg/hari/mencit) selama 14 hari. Genistein yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah merk dagang Genistein diproduksi oleh *Tokyo Chemical Industry*, Jepang, nomor *batch* OW86I-QF, kemasan botol, yang dimurnikan dari kacang kedelai. Dengan nomor batch 0939014 dalam kemasan botol. Untuk mempermudah proses pemberian per oral melalui sonde genistein dalam bentuk serbuk perlu diencerkan menggunakan minyak wijen. Pada hari ke 29 dilakukan terminasi untuk diambil cairan peritoneal mencit (*Mus musculus*) dan kemudian diukur kadar TNF- $\alpha$  dengan menggunakan metode ELISA.

### **Prosedur Pengukuran TNF- $\alpha$ dengan ELISA**

Tambahkan 50  $\mu$ L Matrix A ke masing-masing yang akan berisi cairan standar dan 50  $\mu$ L larutan standar. Tambahkan 50  $\mu$ L

Assay Buffer A ke masing-masing yang akan berisi sampel dan 50 uL cairan sampel serum atau plasma, tutup plate dan inkubasi pada suhu kamar selama 2 jam. cuci 4 kali. Tambahkan 100 uL cairan Antibodi mouse TNF- $\alpha$  pada tiap well, tutup plate dan inkubasi pada suhu kamar selama 1 jam, cuci 4 kali. Tambahkan 100 uL cairan Avidin - HRP B pada tiap well, tutup plate dan inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, cuci 5 kali. Tambahkan 100 uL cairan Substrat D untuk masing-masing *well* dan inkubasi pada ruang gelap untuk perubahan warna yang tepat (selama 15 menit). *Well* mengandung mouse TNF- $\alpha$  harus berubah berwarna biru. Selama langkah ini tidak perlu untuk menutup *plate*. Untuk menghentikan reaksi warna dengan menambahkan 100 uL *Stop Solution* untuk setiap *well*. Warna solusi berubah dari biru menjadi kuning.

- K- : Kelompok Kontrol (-), mencit sehat, yang tidak dibuat model endometriosis.
- K+ : Kelompok Kontrol (+), mencit model endometriosis tanpa diberikan genistein.
- P1 : Kelompok Perlakuan 1, mencit model endometriosis dengan pemberian genistein peroral sebanyak 0,13 mg/hari/mencit selama 14 hari.
- P2 : Kelompok Perlakuan 2, mencit model endometriosis dengan pemberian genistein peroral sebanyak 0,26 mg/hari/mencit selama 14 hari.
- P3 : Kelompok Perlakuan 3, mencit model endometriosis dengan pemberian genistein peroral sebanyak 0,52 mg/hari/mencit selama 14 hari.

- P4 : Kelompok Perlakuan 4, mencit model endometriosis dengan pemberian peroral sebanyak 0,78 mg/hari/mencit selama 14 hari.
- P5 : Kelompok Perlakuan 5, mencit model endometriosis dengan pemberian genistein peroral sebanyak 1,04 mg/hari/mencit selama 14 hari.
- P6 : Kelompok Perlakuan 6, mencit model endometriosis dengan pemberian genistein peroral sebanyak 1,3 mg/hari/mencit selama 14 hari.

Dengan menggunakan *micro titer plate reader*, well dibaca dengan panjang gelombang 450 nm. Kadar TNF- $\alpha$  selanjutnya dihitung menggunakan kurva standar, yang menunjukkan nilai OD kadar TNF- $\alpha$ . Nilai OD diperoleh dari masing-masing sampel ditempatkan pada sumbu Y dari kurva standar dan selanjutnya ditarik garis lurus dari sumbu Y ke garis regresi, dari titik potong pada garis regresi tersebut selanjutnya diproyeksikan ke sumbu X untuk mendapatkan kadar TNF- $\alpha$  dalam pg/ml.

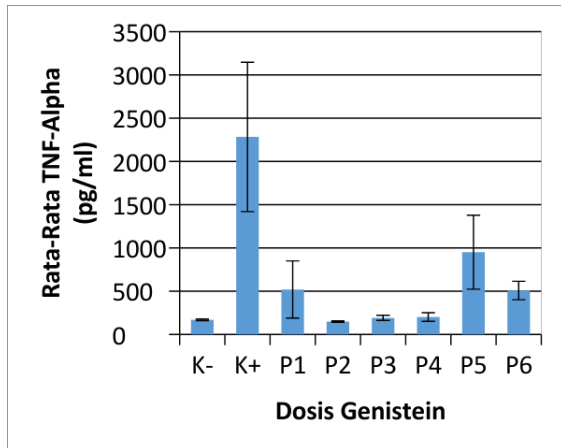
Data dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*, dilanjutkan uji Perbandingan berganda  $|R_i - R_j|$  5%.

Uji statistik dikatakan bermakna bila  $p < 0,05$ . Proses penghitungan dilakukan dengan bantuan piranti lunak (*soft-ware*) SPSS *for windows* 19.0.

### ***Hasil Uji Penurunan Kadar TNF- $\alpha$ Berdasarkan Dosis Genistein***

Proses pengujian pengaruh pemberian genistein terhadap kadar TNF- $\alpha$

dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Sebagaimana telah dijelaskan dalam metode penelitian, perlakuan yang diberikan meliputi kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan. Secara deskriptif, rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada masing-masing perlakuan dijelaskan dalam gambar berikut :



**Gambar 1. Rata-Rata Kadar TNF- $\alpha$  Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan**

**Keterangan :**

Berdasarkan pada gambar 1 di atas, kelompok perlakuan kontrol positif memiliki rata-rata kadar TNF- $\alpha$  paling tinggi. Sedangkan pada mencit yang diberi genistein dengan berbagai level dosis, ditunjukkan bahwa rata-rata kadar TNF- $\alpha$  lebih rendah daripada kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan adanya penurunan kadar TNF- $\alpha$ . Peningkatan dosis genistein berdampak pada penurunan kadar TNF- $\alpha$ . Untuk menguji apakah terjadi penurunan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan atau tidak, dilakukan pengujian dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Berikut hasil uji *Kruskal-Wallis* pengujian kadar TNF- $\alpha$ .

**Tabel 1. Tabel Rata-Rata dan Pengujian *Kruskal-Wallis* Kadar TNF- $\alpha$**

Perlakuan	Mean $\pm$ SD	p-value
K-	169.5 $\pm$ 9.11	b
K+	2283.75 $\pm$ 863.35	g
P1	519.75 $\pm$ 330.16	d
P2	148.25 $\pm$ 7.89	a
P3	191.25 $\pm$ 29.94	c
P4	201.5 $\pm$ 49.17	bc
P5	950.75 $\pm$ 427.8	f
P6	508.5 $\pm$ 106.81	e

Keterangan: Pada rata-rata  $\pm$  sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna.

Berdasarkan tabel 1 di atas, hasil pengujian dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan *p-value* sebesar 0,001 dan lebih kecil daripada  $\alpha = 0,05$ . Sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pemberian genistein berbagai dosis terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ . Atau dengan kata lain, terdapat perbedaan yang signifikan kadar TNF- $\alpha$  pada masing-masing level perlakuan.

Untuk mengetahui lebih lanjut perbandingan kadar TNF- $\alpha$  kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dan perbedaan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  masing-masing level perlakuan, dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji perbandingan berganda  $|R_i - R_j|$  5%. Berikut hasil pengujian  $|R_i - R_j|$  5%:

**Tabel 2. Perbandingan kadar TNF- $\alpha$  Kelompok Kontrol Negatif dengan Kontrol Positif**

Perlakuan	Mean $\pm$ SD	Ri-Rj  5%
K-	169.5 $\pm$ 9.11	b
K+	2283.75 $\pm$ 863.35	g

Berdasarkan tabel 2 di atas, hasil pengujian dengan menggunakan uji |Ri-Rj| 5% didapatkan notasi dengan huruf yang berbeda. Pemberian notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan kadar TNF- $\alpha$  yang signifikan. Dari pengujian tersebut ditunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  kelompok mencit yang sehat berbeda signifikan dengan kelompok mencit endometriosis dimana kadar TNF- $\alpha$  kelompok mencit endometriosis lebih tinggi daripada kelompok mencit sehat.

**Tabel 3. Tabel Uji |Ri-Rj| 5% Kadar TNF- $\alpha$**

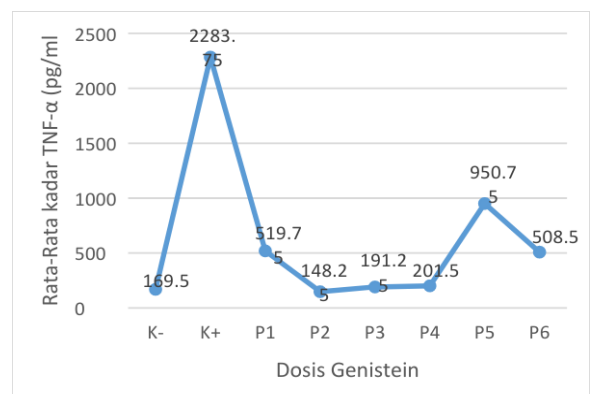
Perlakuan	Total Peringkat	Ri-Rj  5%
P2	21.00	a
K-	37.00	b
P4	45.00	bc
P3	48.00	c
P1	70.00	d
P6	82.00	e
P5	104.00	f
K+	121.00	g

Keterangan: Pada level kontrol dan perlakuan jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna.

Dari tabel 3 hasil perbandingan bergandadengan menggunakan |Ri-Rj| 5%, didapatkan total peringkat paling rendah didapatkan pada kelompok perlakuan pemberian genistein dosis 0,26 mg/hari (P2) (148.25  $\pm$  7.89<sup>a</sup>). Sedangkan total peringkat paling tinggi didapatkan pada kelompok

kontrol positif (2283.75  $\pm$  863.35<sup>g</sup>). Hal ini menunjukkan bahwa kadar pemberian genistein dosis 0,26 mg/hari (P2) berdampak pada penurunan kadar TNF- $\alpha$  paling rendah.

Pada perbandingan kelompok kontrol positif dengan pemberian genistein berbagai dosis, didapatkan pemberian notasi |Ri-Rj| 5% yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian genistein pada berbagai dosis berdampak pada penurunan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan. Perbandingan rata-rata TNF- $\alpha$  antara kontrol negatif dengan pemberian genistein berbagai dosis didapatkan notasi |Ri-Rj| 5% yang tidak berbeda adalah pada P4. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian genistein dosis 0,78 mg/hari (P4) (201.5  $\pm$  49.17<sup>bc</sup>) mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  hingga mendekati kondisi mencit yang sehat. Perbandingan rata-rata TNF- $\alpha$  antar kelompok perlakuan, ditunjukkan bahwa notasi |Ri-Rj| 5% berbeda antar level perlakuan pemberian genistein. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis genistein menunjukkan efek yang berbeda terhadap kadar TNF- $\alpha$ .



**Gambar 2. Tren Perubahan Kadar TNF- $\alpha$  Berbagai Dosis Genistein**

Pada gambar 2 diatas terlihat tren perubahan kadar TNF- $\alpha$ . Dimulai dari kelompok kontrol positif, berturut-turut terjadi penurunan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  hingga titik terendah pada kelompok perlakuan pemberian genistein dosis 0,26 mg/hari (P2). Ditunjukkan pula terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  seiring pemberian genistein lebih dari 0,26 mg/hari namun masih lebih rendah daripada kelompok kontrol positif.

## PEMBAHASAN

### **Pengaruh Pemberian Genistein Berbagai Dosis Terhadap Kadar TNF- $\alpha$ pada Mencit Model Endometriosis pada Kelompok Perlakuan.**

Adanya perbedaan yang bermakna kadar TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol dan semua kelompok perlakuan yang terpapar genistein berbagai dosis. Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh pemberian genistein pada mencit model endometriosis. Dosis optimal terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada mencit model endometriosis yang dipapar genistein berada pada dosis 0,26 mg/hari(P2) setara dengan dosis 100 mg/hari pada manusia, berdampak pada penurunan kadar TNF- $\alpha$  paling rendah dibandingkan dengan dosis 0,78 mg/hari (P4) yang mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  hingga mendekati kondisi mencit yang sehat. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis genistein menunjukkan efek yang berbeda terhadap kadar TNF- $\alpha$ .

Penurunan drastis terjadi pada dosis 100 mg/hari pada manusia terhadap kadar

TNF- $\alpha$  pada mencit model endometriosis yang dipapar genistein. Hal ini didukung dengan penelitian terdahulu membuktikan bahwa pasien dengan diberikan suplemen 50 mg genistein per oral selama 3 minggu menunjukkan adanya penurunan TNF- $\alpha$  melalui supresi aktivitas NF-kB, efek genistein pada sistem imun yaitu dengan menekan aktivitas antigen spesifik respon imun dan respon proliferasi limfosit. Genistein memodulasi respon sitotoksik melalui sel NK, sel T sitotoksik, dan mayor sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ . Genistein juga berperan sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan dalam inhibisi stress oksidatif melalui limfosit. Pada keadaan stress, keganasan dan penyakit kronis, tubuh akan memproduksi TNF- $\alpha$  dengan jumlah yang berlebihan melalui aktivitas NF-kB. (Rahman, 2012). Pemberian genistein pada *wistar* albino betina (berat tikus antara 250-300 gr) yang dibuat endometriosis yang diberi dosis 500 mg/kg BB per oral selama 21 hari didapatkan hasil bahwa secara signifikan dapat menghambat implantasi endometriosis (Yavuz *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian Cortoneo *and* Lamartiniere (2001) pada beberapa studi yang dilakukan untuk menilai hubungan antara pemberian genistein pada hewan coba, diantaranya memberi perlakuan pada tikus ovariektomi yang dihubungkan dengan pertumbuhan implant endometriosis dengan memberikan dosis genistein (5,0  $\mu$ g/g BB dan 16,6  $\mu$ g/g) melalui injeksi *intramuscular* selama 3 minggu yang hasilnya pada dosis genistein 5,0  $\mu$ g/g BB

menghambat pertumbuhan implant endometriosis, sedangkan pada dosis 16,6 µg/g BB menyebabkan adanya pertumbuhan endometriosis. Pada dosis genistein 250 mg/kg BB diet per oral diberikan selama 3 minggu menunjukkan tidak mendukung pertumbuhan implant endometriosis. Pemberian dosis genistein 1000 mg/kg BB diet per oral selama 3 minggu pada tikus ovariektomi yang dihubungkan dengan pertumbuhan implant endometriosis dan ternyata memberikan pengaruh negatif terhadap pertumbuhan implant endometriosis pada tikus ovariektomi.

Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar TNF-α pada masing-masing level dosis genistein secara fluktuatif, dimana kadar TNF-α pada dosis 0,26 mg/hari(P2) terjadi penurunan paling rendah tetapi pada dosis 1,04 mg/hari (P5) terjadi peningkatan. Hal ini dikarenakan genistein yang merupakan *SERM* pengaruhnya tergantung pada berbagai faktor yaitu cara pemberian, *bioavailability* dan metabolisme, waktu dan tingkat paparan, keadaan *estrogen endogen* (Carrol *et al.*, 2013). Metabolisme genistein adalah setelah dikonsumsi, genistein bersama dengan isoflavon lain terkonjugasi dengan glikosida dan dimetabolisme oleh enzim usus (Banerjee *et al.*, 2009). Bentuk aglikon isoflavon dikirim dari usus ke darah atau dimetabolisme secara langsung di usus (Pilsakova *et al.*, 2010). Dalam usus isoflavon dipecah menjadi aglycon bebas gula oleh bakteri. Setelah mengalami perpecahan, 1/3 diabsorpsi sebagai

isoflavon bebas dan sebagian lainnya mengalami fermentasi oleh bakteri yang ada diusus besar. Isoflavon dimetabolisme di usus oleh bakteri mikroflora usus, dimana genistein dikonversi menjadi metabolit yang secara hormonal inaktif yaitu *ethyl-pheno* (Sakai *et al.*, 2008). Pada usus halus aglikon akan diabsorpsi dalam jumlah yang kecil dan selebihnya akan diabsorpsi dalam usus besar. Selanjutnya metabolit diserap melalui membran gastrointestinal dan dibawa menuju liver. Setelah dilakukan metabolisme di liver untuk menghasilkan beberapa bentuk *conjugated* (Sutrisno *et al.*, 2010). Metabolit isoflavon terjadi di hati, terkonjugasi dengan asam glukoranat kemudian disekresi dari tubuh melalui urine dan empedu. Genistein dieliminasi dari tubuh dalam waktu 24 jam (Pilsakova *et al.*, 2010).

Genistein dapat langsung berikatan dengan RE, reseptor berfungsi dalam membantu transmisi pesan dari hormon menuju transkripsi dari inti gen (Fritz, A. and Speroff., 2011). Ikatan genistein dan reseptor estrogen membentuk kompleks estrogen reseptor estrogen kompleks dan mengaktivasi *estrogen responsive elemen* (ERE) sehingga mempengaruhi proses transkripsi (Gruber *et al.*, 2002). Afinitas pengikatan genistein untuk ER-α adalah 4%, dan untuk ER-β adalah 87%, dibandingkan dengan estradiol. Jadi, dengan interaksi dengan reseptor estrogen, blok genistein mengikat estrogen lebih kuat pada saat yang sama dan mempengaruhi metabolisme estrogen, dengan mengerahkan peran yang menguntungkan potensial dalam

pengecahan hormon kanker (Banerjee, 2009; Lee, 2011). Afinitas ini akan lebih ditingkatkan bila konsentrasi fitoestrogennya dalam jumlah yang tinggi. Dengan berikatan dengan RE- $\beta$  maka fungsi RE- $\beta$  akan termodulasi dan akan bersifat anti estrogen bila ada bersamaan dengan RE- $\alpha$  dan akan bersifat estrogenik bila tidak bersama RE- $\alpha$ . Karakter yang bersifat *SERMs* ini yang bisa membuat fitoestrogen sebagai bahan terapi untuk beberapa kelainan dan penyakit yang terkait dengan hormon estrogen (Kayisli, 2002; Riggs and Hartmann, 2003; Pilsakova, 2010).

Genistein yang merupakan unsur utama dari fitoestrogen golongan isoflavon sebagai salah satu pengobatan terbaru (Amberkar et al., 2010, Sutrisno et al., 2014). Senyawa genistein termasuk golongan isoflavon yang pada awalnya diidentifikasi memiliki kemiripan dengan struktur estrogen. Dengan adanya kesamaan struktural untuk 17 $\beta$ -estradiol, genistein telah terbukti bersaing dengan 17 $\beta$ -estradiol dalam mengikat estrogen receptor (ER) dan mengerahkan estrogenik lemah dan/atau efek antiestrogenik pada berbagai sel dan jaringan baik in vitro dan in vivo (Banerjee et al., 2009; Merchant et al., 2012; Deachapunya and Poonyachoti., 2013; Lie et al., 2013).

Temuan ini menunjukkan bahwa TNF- $\alpha$  memainkan peranan penting dalam endometriosis. Keberhasilan mengobati penyakit inflamasi khususnya endometriosis terjadi penghambatan produksi TNF- $\alpha$ .

Genistein yang memiliki struktur menyerupai estrogen dan bersifat SERM diketahui efektif dalam penghambatan produksi TNF- $\alpha$  dengan dosis optimal yaitu 0,26 mg/hari (P2).

### **Keterbatasan Penelitian**

Pada penelitian ini tidak mengukur luas implant sehingga tidak diketahui seberapa besar penurunan luas implant setelah diberi genistein berbagai dosis. Kendala lain yang ditemui pada saat perlakuan pemberian genistein terhadap hewan coba (mencit model endometriosis), dalam penelitian ini peneliti tidak dapat mengendalikan makanan yang dikonsumsi oleh mencit, terkadang didapatkan makanan yang dikonsumsi masih cukup banyak di dalam kandang atau sebaliknya, sehingga asupan makanan setiap mencit berbeda-beda. Hal ini kemungkinan dapat berpengaruh terhadap metabolisme genistein dikarenakan genistein yang merupakan SERM pengaruhnya tergantung pada berbagai faktor yaitu cara pemberian, bioavailability dan metabolisme, waktu dan tingkat paparan, keadaan estrogen endogen.

### **KESIMPULAN**

Ada pengaruh yang signifikan pemberian genistein dosis 0,26 mg/hari (P2) terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada mencit model endometriosis. Genistein dosis 100 mg/hari terbukti yang paling berpengaruh terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  dalam cairan peritoneal mencit (*Mus musculus*) model endometriosis.

## SARAN

Penelitian dengan desain serupa terhadap potensi genistein dalam mempengaruhi sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ ) dapat dilakukan dengan dosis dan frekuensi yang lebih bervariasi.

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut akan potensi genistein yang lain bagi kesehatan manusia terutama dalam bidang imunologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, M., Baziad, A., dan Prabowo, P. 2011. *Endometriosis*. Ilmu Kandungan. Ed 3 Cetakan 1. PT Bina Pustaka Sarwono Prawirodihardjo. Jakarta. 239-250
- Amberkar, M.V., Meena, K.K., Mor,V., Semwal, A., and Adiga, S. 2010. PPAR- $\gamma$ : A Dagger in Endometriosis. *Australasian Medical Journal AMJ*. 3 (12) : 814-820.
- Banerjee S., Li Y., Wang, Z., and Sarkar, F.H. 2009. Multi Targetted Therapy of Cancer by Genistein. *Cancer Lett*. 269 (2): 226-242.
- Deachapunyaa, C., and Poonyachoti, S. 2013. Activation of Chloride Secretion by Isoflavone Genistein in Endometrial Epithelial Cells. *Cell Physiol Biochem*. 32 : 1473-1486.
- Falconer, H., Sundqvist, J., Gemzell-Danielsson, K., Von Schoultz, B., D'Hooghe T.M., and Fried G., 2009. IVF outcome in women with endometriosis in relation to tumour necrosis factor and anti-Müllerian hormone. *Reproductive BioMedicine Online*. 18 (4) : 582-588.
- Fritz, A. and Speroff, L. 2011. Clinical gynecologic endrocrinology and infertility. 8th ed. *Lippincott Williams & Wilkins*. Philadepia.
- Gruber, C.J, Tschugguel, W., Schneeberger, C., and Huber, J.C. 2002. Mechanisms of disease : Production and Actions of Estrogens. *N Engl J Med*. 346 (5) : 340-352.
- Hillman, G.G., Wang, Y., Che, M., Raffoul, J.J, Yudelev, M., Kucuk, O., and Sarkar, F.H., 2007. Progression of renal cell carcinoma is inhibited by genistein and radiation in an orthotopic model. *BMC Cancer*. 7 (4) : 1-12.
- Herington, J.L., Bruner-Tran, K.L., Lucas, J.A., and Osteen, K.G. 2011. Immune interactions in endometriosis. *Expert Rev Clin Immunol*. 7(5): 611–626.
- Kayisli, U.A., Aksu, C.A.H., Berkkanoglu, M., and Arici, A., 2002. Estrogenicity of isoflavon on human endometrial stromal and glandular cells. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. 87(12): 5539-5544.
- Lafuente, A.G., Guillamo, E., Villares, A., Rostagno, M.A., and Martinez, J.A. 2009. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*. 58 : 537–552.
- Lebovic, D.I., Bentzien, F., Chao, V.A., Garrett, E.N., Meong, Y.G., and Taylor,

- R.N. 2000. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 beta. *Mol Hum Reprod.* 6 : 269-275.
- Lee, J.Y., Kim, H.S., and Song, Y.S. 2011. Genistein as a potential anticancer agent against ovarian cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine.* 2 (2) : 96-104.
- Li, Y., Meeran, S.M., Patel, S.N., Chen, H., Hardy, T.M., and Tollefsbol, T.O. 2013. Epigenetic reactivation of estrogen receptor- $\alpha$  (ER $\alpha$ ) by genistein enhances hormonal therapy sensitivity in ER $\alpha$ -negative breast cancer. *Molecular Cancer.* (12) 9 : 1-17.
- Lu, D., Song, H., and Shi, G. 2013. Anti TNF- $\alpha$  treatment for pelvic pain associated with endometriosis (Review). *The Cochrane Library.* <http://www.thecochranelibrary.com>. Downloaded on 23 April 2014.
- Matsukura, H., Aisaki, K., Igarashi, K., Matsushima, Y., Kanno, J., Muramatsu, M., Sudo, K., and Sato, N. 2011. Genistein promotes DNA demethylation of the steroidogenic factor 1 (SF-1) promoter in endometrial stromal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* 412 : 366-372.
- Merchant, K., Kumi-Diaka, J., Rathinavelu, A., Esiobu, N., Zoeller, R., and Hormann, V. 2012. Genistein Modulation of Immune-Associated Genes in LNCaP Prostate Cancer Cell Line. *The Open Prostate Cancer Journal.* 5 : 1-7.
- Meresman, G.F., Bilotas, M.A., Lombardi, E., Tesone, M., Sueldo, C., and Baranao, R.I. 2003. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1 $\beta$  and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Human Reproduction.* 18 (9) : 1767-1771.
- Pilsakova, L., Rieckens, I., and Jagla, F. 2010. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. *Physiological Research.* 59 : 651-664.
- Rahman, S., Islam, R., Swaraz, A.M., Ansari, A., Parvez, A.K., and Paul, D.K. 2012. An insight on genistein as potential pharmacological and therapeutic agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* S1924-S1937.
- Riggs, B.L., and Hartmann, L.D. 2003. Selective Estrogen-Receptor Modulators to Clinical Practice Mechanisms of Action and Application. *N Engl J Med.* 348 : 618-629.
- Soares, S.R., Varea, A.M., Hidalgo-Mora, J.J., and Pellicer, A. 2012. Pharmacologic therapies in endometriosis : a systematic review. *Fertility and Sterility.* 98 (3) : 529-555.
- Sutrisno, S., Mariyani, M., Herawati I., Rinata, E., Jehanara, J., Yueniwati, Y., Nurdiana, N., Noorhamdani, N., Santoso, S., 2014. The effects of genistein as inflammatory and antiangiogenesis in primary endometriosis cell culture. *Asian Pacific Journal of Reproduction.* 3 (4) : 1-6.

- Sutrisno, Soehartono, Arsana. 2010. Efek Genistein terhadap Ekpresi eNOS, BCL2 dan Apoptosis pada kultur sel endotel umbilikus (HUVECs) yang mengalami stres oksidatif. *Laboratorium Obstetri dan Ginekologi FK UNAIR Surabaya*.
- Winarsi, H. 2005. *Isoflavon*. Ed 1, Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Yavuz, E., Oktem, M., Esinler, I., and Toru, S.A. 2007. Genistein causes regression of endometriotic implants in the rat model. *Fertility and Sterility*. 88 (2) : 1129-1134.
- Zheng, Y., Liu, X., and Guo, S W. 2012. Therapeutic potential of andrographolide for treating endometriosis. *Human Reproduction*. 27(5) : 1300-1313