

# Jurnal Veteriner

ISSN : 1411-8327

## JURNAL KEDOKTERAN HEWAN INDONESIA

**Vol. 16 No. 3, September 2015**

- Diagnosis Toksoplasma Kongenital ●
- Kekerabatan Caplak Asal Indonesia ●
- Trichinellosis pada Babi di Kupang ●
- Antibodi Monoklonal Anti-*C.cellulosae* ●
- Preservasi Semen Kambing Peranakan Etawa ●
- Ekstrak Hipotalamus untuk Menyuburkan Kambing ●
- Involusi Uterus Sapi Perah ●
- Jamu dan PMSG untuk Induk Domba ●
- Prilaku Jalak Bali di Nusa Penida dan Bali Barat ●
- Virus Flu Burung H5N1 *Clade* 2.1.3 dan *Clade* 2.3.2 ●
- Tetelo pada Itik di Klungkung ●
- Faktor-faktor Risiko Rabies di Bali ●
- Histopatologi Bursa Fabrisius Pascavaksinasi Gumboro ●
- Keragaman Spesies & Genetik *Staphylococcus* pada Ikan Tuna ●
- Keragaman Spesies Ikan Tuna di Bali ●
- Identifikasi Spesies Ikan Kerapu di Bali ●
- Histologi dan Histomorfometri Daging Sapi Bali ●
- Perlindungan Protein dengan Tanin & Saponin pada Ruminansia ●
- Asam Lemak Terbang dan Glukosa Domba yang Diberi Kedelai ●
- Terproteksi Tanin ●
- Jus Tomat Memadatkan Tulang Tikus Menopause ●

## Jus Tomat Meningkatkan Kepadatan Tulang Tikus Menopause

(*TOMATO JUICE INCREASE BONE DENSITY OF MENOPAUSE RATS*)

Hening Laswati<sup>1</sup>, HENDY HENDARTO<sup>2</sup>, Dian Irawati<sup>3</sup>, Laba Mahaputra<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departemen Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr Soetomo

<sup>2</sup>Departemen Obstetri dan Ginekologi, FK, Unair, RSUD Dr Soetomo

<sup>3</sup>Politeknik Kesehatan Majapahit, Mojokerto,

<sup>4</sup>Laboratorium Kebidanan, Departemen Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Unair  
Jln. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo 6-8, Surabaya, Telp. (031) 5501493,  
Fax: (031) 5038838, email: lputra04@yahoo.com

### Abstrak

Osteoporosis pada perempuan pascamenopause akibat defisiensi estrogen menyebabkan ketidakseimbangan proses pembentukan dan resorpsi tulang. Fitoestrogen saat ini merupakan alternatif pengganti terapi sulih hormon pada perempuan pascamenopause untuk mengatasi defisiensi estrogen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian jus tomat dan kombinasi dengan latihan fisik pada kondisi defisiensi estrogen. Duapuluh delapan ekor tikus betina (*Rattus norvegicus* galur Wistar) pascaovarektomi dibagi secara acak menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (aquades 2 mL), kelompok perlakuan latihan fisik (berenang selama 30 menit, tiga kali dalam satu minggu), kelompok pemberian jus tomat setiap hari (44 mg/200 g bobot badan atau 220 mg/kg bobot badan, dilarutkan dalam aquades 2 mL), dan kelompok kombinasi latihan fisik dan pemberian jus tomat. Setelah perlakuan selama empat minggu, tikus dikorbankan, tulang femur diambil untuk pemeriksaan histomorfologi. Terdapat perbedaan signifikan kepadatan tulang antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Kepadatan tulang tertinggi terdapat pada kelompok pemberian jus tomat. Ada perbedaan bermakna antara kelompok pemberian jus tomat dan kelompok kombinasi ( $p < 0,05$ ), tetapi tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok latihan fisik dan kelompok kombinasi. Jus tomat meningkatkan kepadatan tulang pada kondisi defisiensi estrogen dan kelompok kombinasi mempunyai efek yang sama dengan kelompok latihan fisik.

Kata-kata kunci : osteoporosis, jus tomat, latihan fisik, kepadatan tulang

### Abstract

Osteoporosis in postmenopausal women happened due to estrogen deficiency which leads imbalance bone-formation and bone-resorption process. Recently, phytoestrogen as an alternative hormone replacement therapy in postmenopausal women could overcome estrogen deficiency. The objectives of this study was to evaluate the effect of tomato juice administration and combination of physical exercise on bone density in estrogen deficiency condition. Twenty eight postovarectomy female rats (*Rattus norvegicus*) were randomized into four experiment groups : the controlled group (2 mL aquades administration); the exercised group (swimming for 30 minutes, three times in one week), the tomato juice administration every day (44 mg/200 g body weight), and the combination exercise and tomato juice administration. Four weeks after treatment the samples were collected from os femure for morphological examination. The intervention groups showed a significant difference in bone density with the control group ( $p < 0.05$ ). Bone density highest on the tomato juice administration group. There is significant difference bone density between tomato juice administration group and the combination group ( $p < 0.05$ ), but no significant difference between physical exercise group and the combination group. Tomato juice showed an increasing bone density on estrogen deficiency condition and the combination group have the same effect with the exercised group.

Key words: osteoporosis, tomato juice, physical exercise, bone density

## PENDAHULUAN

Osteoporosis akibat penurunan kadar hormon estrogen pada perempuan pasca-menopause merupakan kasus yang terbanyak dijumpai. Osteoporosis dikenal masyarakat dengan sebutan tulang keropos. Osteoporosis adalah kelainan skeletal sistemik dengan karakteristik penurunan masa tulang disertai kerusakan mikroarsitektur tulang yang menyebabkan tulang rapuh, dengan akibat meningkatkan risiko patah tulang (Siddapur *et al.*, 2015). Patah tulang pangkal paha (femur) akibat osteoporosis merupakan patah tulang akibat osteoporosis yang terbanyak ditemukan. Angka kesakitan dan kecacatan, biaya pengobatan dan angka kematian akibat patah tulang ini cukup tinggi (Baziad, 2003). Prevalensi osteoporosis perempuan pasca-menopause di Surabaya mencapai 26% (Roeshadi, 1997). Pada tahun 2020, diperkirakan perempuan usia menopause di Indonesia yang menderita osteoporosis mencapai 35% (Baziad, 2003). Hasil penelitian dari Puslitbang Gizi dan Makanan DepKes RI pada tahun 2002 menunjukkan proporsi perempuan yang mengalami osteoporosis sebesar 21,7% (Basuni dan Prihatini, 2007). Peran serta masyarakat sangat diperlukan untuk meningkatkan kesadaran untuk pencegahan osteoporosis, deteksi dini dan manajemen faktor risiko dalam penanganan osteoporosis, karena osteoporosis sudah menjadi masalah kesehatan masyarakat. Beberapa faktor risiko pada perempuan pascamenopause yang dapat dimodifikasi adalah inaktivitas (*sedentary lifestyle*) dan asupan kurang fitoestrogen. Latihan fisik merupakan cara pencegahan osteoporosis yang murah, mudah dilaksanakan, tidak memberikan efek samping seperti pemakaian obat. Salah satu sumber fitoestrogen yang murah dan mudah didapat adalah buah tomat (*Lycopersicon commune*) terutama bagian air buahnya. Laswati dan Mahaputra (2011) melaporkan kandungan fitoestrogen dalam ekstrak buah tomat sebesar  $1037,0 \pm 37,7$  pg/g. Tobias (2003) dalam penelitiannya pada mencit Ekspresi reseptor estrogen alpha ( $ER\alpha$ ) *knockout* membuktikan bahwa gangguan respons adaptasi tulang terhadap pembebanan mekanik akibat defisiensi  $ER\alpha$  sel osteoblas menyebabkan penurunan kepadatan tulang. Clifton-Bligh *et al.*, (2001) melaporkan bahwa fitoestrogen dapat meningkatkan densitas tulang femur dan tibia pada mencit  $ER\alpha$  *knock out*. Percobaan *in vivo*

telah membuktikan bahwa kandungan fitoestrogen dari ekstrak daun semanggi dapat meningkatkan secara signifikan ekspresi  $ER\alpha$  sel osteoblas mencit menopause dan peningkatan ekspresi  $ER\alpha$  tertinggi terlihat pada kelompok kombinasi latihan fisik dan pemberian konsumsi ekstrak daun semanggi (Laswati, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kandungan fitoestrogen jus tomat terhadap kepadatan tulang serta efek tambahan latihan fisik pada model tikus menopause.

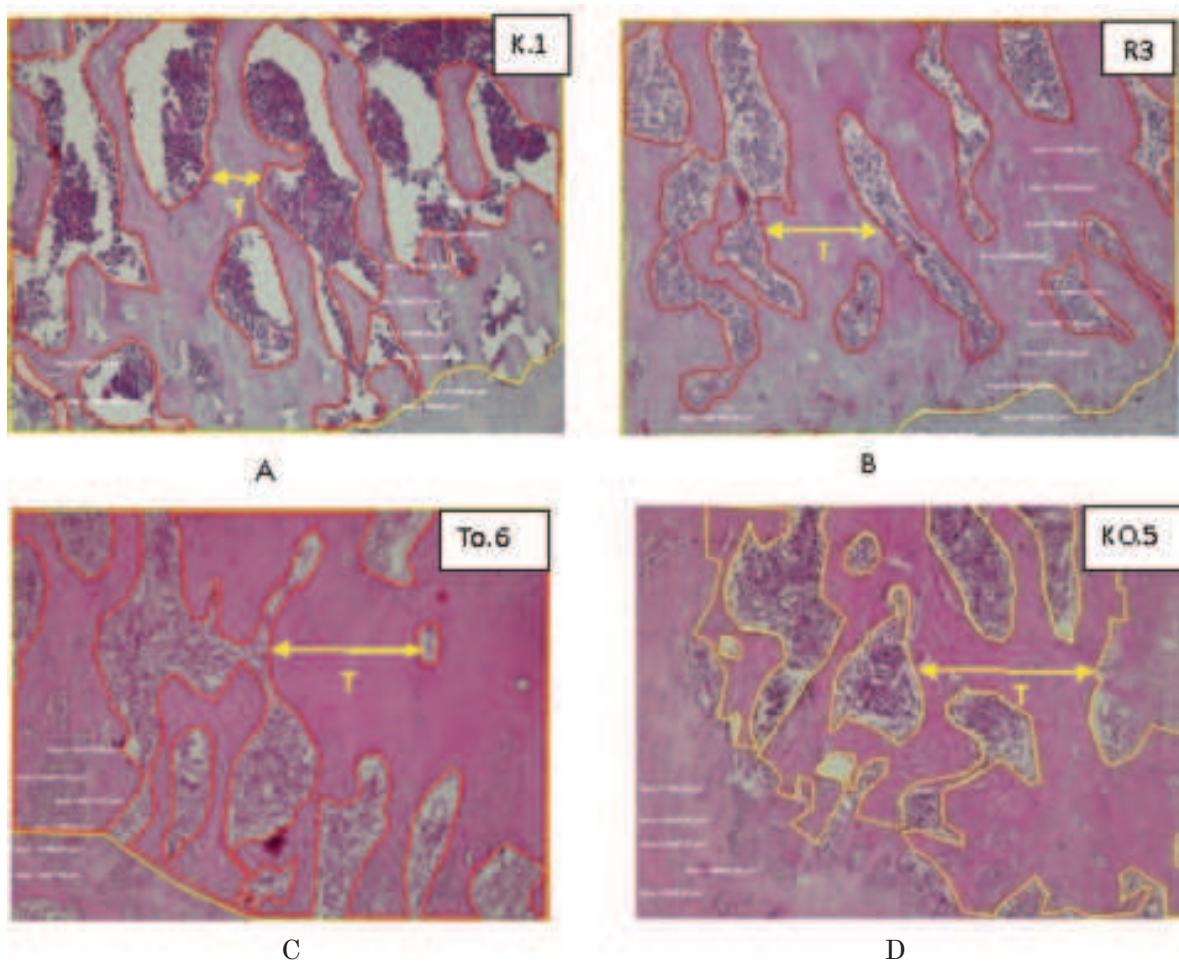
## METODA PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan *posttest only control group design*. Duapuluh delapan ekor tikus putih betina (*Rattus novergicus* galur Wistar) umur delapan hingga sepuluh minggu dari Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Unair dilakukan ovariectomi di Fakultas Kedokteran Hewan, Unair setelah diaklimatisasi selama dua minggu. Perlakuan diberikan setelah dua minggu ovariectomi untuk menunggu proses penyembuhan. Pembuatan jus tomat dengan metode kering beku (*freeze dry*) di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi, Unair. Metode kering beku dilakukan dengan cara pembekuan cepat air buah tomat pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$ , dilanjutkan dengan proses sublimasi dalam *vacuum freeze dried chamber* dengan tekanan 0,036 psi (0,0025 bar) dengan menaikkan suhu secara terkontrol hingga mencapai  $38^{\circ}\text{C}$ . Dari 400 gram tomat didapatkan 2,4 gram jus bagian lendir tomat dalam bentuk kering beku. Penentuan dosis berdasarkan konversi dosis manusia ke hewan coba menurut rumus Ghosh (1971) dari dosis konsumsi manusia 400-600g/hari (Heber, 2004). Pascaovariectomi, 28 tikus betina dikelompokkan secara acak menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol (aquades 2 ml), kelompok perlakuan latihan fisik (berenang selama 30 menit, tiga kali dalam satu minggu), kelompok pemberian jus tomat setiap hari (44 mg/200 g bobot badan mencit atau 220 mg/kg bobot badan mencit, dilarutkan dalam aquades 2 mL), dan kelompok kombinasi latihan fisik dan pemberian jus tomat. Perlakuan dilakukan selama empat minggu. Setelah empat minggu tikus tikus tersebut dikorbankan nyawanya. Pengukuran histomorfologi kepadatan tulang dilakukan pada bagian metafisis tulang femur tikus. Sediaan jaringan tersebut diwarnai

dengan pewarnaan hematoksin eosin (HE) dari bagian metafisis tulang femur tikus. Pemeriksaan densitas tulang dilakukan di Laboratorium Patologi, FKH, Unair. Kepadatan tulang dinyatakan dalam persen dengan cara membagi luas area ( $\mu\text{m}^2$ ) tulang trabekula dengan luas seluruh area pengukuran, menggunakan *soft ware Nikon Image System* yang terkalibrasi pada pembesaran sepuluh kali. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis deskriptif yang ditampilkan sebagai rata-rata. Uji normalitas serta analisis inferensial menggunakan sidik ragam (Anova) satu arah. Jika terdapat perbedaan dilanjutkan uji *post hoc* dengan uji beda nyata terkecil atau *Least Significant Different*. Analisis data menggunakan instrumen SPSS 16.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Bobot badan tikus pascaovarektomi dalam penelitian ini antara 133–170 gram dengan rata-rata bobot badan  $154,32 \pm 9,726$  gram. Uji homogenitas menunjukkan varians tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Kepadatan tulang trabekula pada kelompok kontrol menunjukkan nilai yang paling rendah dibanding kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol  $35,830 \pm 11,229\%$ , kelompok latihan fisik  $56,198 \pm 10,985\%$ , kelompok pemberian jus tomat  $68,421 \pm 7,717\%$  dan kelompok kombinasi  $57,407 \pm 5,645\%$ . Kelompok pemberian jus tomat menunjukkan densitas yang paling tinggi. Pada gambar 1 disajikan area trabekular metafisis tulang femur kelompok perlakuan lebih luas daripada pada kelompok kontrol. Uji normalitas data



Gambar 1. Sayatan jaringan metafisis femur tikus putih model menopause dengan pewarnaan HE diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 kali. A. Kelompok kontrol, B kelompok renang, C. Kelompok pemberian jus tomat, D. Kelompok kombinasi. Tampak area trabekula (T) kelompok perlakuan lebih luas daripada kelompok kontrol dan area trabekula kelompok pemberian jus tomat tampak paling luas.

kepadatan tulang femur menunjukkan data berdistribusi normal ( $p=0,703$ ). Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok renang ( $p=0,000$ ), pemberian jus tomat ( $p=0,000$ ) dan kombinasi ( $p=0,000$ ). Kelompok renang berbeda bermakna dengan kelompok pemberian jus tomat ( $p=0,020$ ) tetapi tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok kombinasi ( $p=0,808$ ). Kelompok pemberian jus tomat berbeda bermakna dengan kelompok kombinasi ( $p=0,035$ ).

Tikus putih model menopause menunjukkan densitas tulang yang rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi pascaovarektomi terjadi penurunan kadar estrogen yang berpengaruh terhadap densitas tulang. Defisiensi estrogen menjadi salah satu faktor utama penurunan densitas tulang (Manolagas, 2000; Finkelstein *et al.*, 2008). Pada kondisi defisiensi estrogen terjadi ketidakseimbangan *remodeling* tulang, dan proses resorpsi tulang oleh sel osteoklas lebih dominan daripada proses pembentukan tulang oleh sel osteoblas (Baziad, 2003). Hormon estrogen merupakan regulator metabolisme tulang pada tingkat seluler dan sistemik (Losel *et al.*, 2003; Miyauchi *et al.*, 2013). Reseptor estrogen terdapat di osteoblas, osteoklas, osteosit, sel stromal sumsum tulang, sel T, dan sel B (Weitzmann dan Pacifici, 2006; Ferlin *et al.*, 2013, Windahl *et al.*, 2013).  $ER\alpha$  berdistribusi luas di sel osteoblas dan telah dibuktikan bahwa ekspresi  $ER\alpha$  di sel osteoblas berkorelasi cukup kuat dengan kadar estrogen ( $r=0,532$ ;  $p=0,004$ ) (Laswati, 2007). Stimulasi  $ER\alpha$  di sel osteoblas mengaktifkan proses anabolik tulang, stimulasi di sel osteoklas menghambat aktivitas resorpsi tulang. Di sel progenitor osteoklas, stimulasi  $ER\alpha$  menurunkan pembentukan sel osteoklas. Defisiensi hormon estrogen menyebabkan *down regulation* jumlah  $ER\alpha$  di sel osteoblas, sehingga menurunkan efek biologis estrogen pada tulang (Tobias, 2003). Efek sistemik pada defisiensi estrogen meningkatkan produksi interleukin-1 dan *Tumor necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) dalam sirkulasi. Sel T berperan dalam proses osteoklastogenesis, dan studi pada mencit *ovx* dengan *p55 TNF receptor KO* dibuktikan bahwa pembentukan osteoklas dapat dihambat (Weitzmann dan Pacifici, 2006). Dalam studi ini kelompok perlakuan renang, pemberian jus tomat dan kombinasi renang dan pemberian jus tomat menunjukkan peningkatan densitas tulang yang bermakna. Hal ini membuktikan

bahwa latihan fisik (renang) dan pemberian kandungan fitoestrogen jus tomat memberikan efek anabolik pada tulang pada tikus putih model menopause. Pada kondisi imobilisasi dengan pembebanan mekanik yang rendah, mengakibatkan penurunan pembentukan tulang dan peningkatan resorpsi tulang, atau ketidakseimbangan *remodeling* tulang (Robling *et al.*, 2006). Latihan fisik dengan intensitas sedang dapat meningkatkan kadar estrogen melalui *HPA-axis* (*Hypothalamic-pituitary-adrenal axis*) (Fuqua dan Rogol, 2013). Latihan fisik dengan pembebanan mekanik menstimulasi efek *mechanotransduction* yaitu proses konversi energi mekanik menjadi sinyal elektrik dan biokimiawi. Sel osteosit sebagai sel mekanoreseptor akan meneruskan sinyal elektrik dan biokimiawi ke sel osteoblas melalui *gap junction channel* (Genetos dan Donahue, 2005). Jessop *et al.*, (2002) melaporkan bahwa estrogen dan *strain* mekanik dapat menginduksi *extracellular signal regulated kinase* (ERK1/2) pada *osteoblastic-like cell line*. Pemberian jus tomat meningkatkan densitas tulang secara bermakna, membuktikan efek anabolik fitoestrogen yang terkandung dalam buah tomat. Buah tomat di samping mengandung air, protein, lemak, dan karbohidrat juga mengandung kalsium, zat besi, magnesium, vitamin A, vitamin C, likopen, beta karoten, dan flavonoid (Thompson, 2006; Ilahy *et al.*, 2010). Studi sebelumnya telah melaporkan bahwa pemberian fitoestrogen pada tikus betina yang telah dilakukan ovarektomi menunjukkan peningkatan kadar estrogen. Efek positif fitoestrogen pada metabolisme tulang melalui aktivasi apoptosis sel osteoklas dan modulasi reseptor estrogen serta stimulasi aktivitas *alkaline phosphatase* (Pilsakova *et al.*, 2010; Ming *et al.*, 2013). Laswati (2007) melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun semanggi yang mengandung fitoestrogen meningkatkan secara bermakna ekspresi  $ER\alpha$  sel osteoblas mencit menopause. Kombinasi renang dan pemberian jus tomat meningkatkan densitas tulang secara bermakna, namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok renang saja. Kelompok renang dan kombinasi memberikan efek yang sama. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kombinasi dan pemberian jus tomat. Pemberian jus tomat saja memberikan peningkatan densitas yang lebih tinggi daripada kelompok kombinasi. Temuan ini berbeda dengan yang dilaporkan oleh Wu *et al.*, (2003) dan Laswati (2007) bahwa fitoestrogen memberikan efek

*additive* terhadap latihan fisik atau fitoestrogen meningkatkan efek osteogenik dari latihan fisik. Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan jenis fitoestrogen, metabolisme dan dosis fitoestrogen dalam studi. Dalam studi ini perlakuan latihan fisik dilakukan dengan cara berenang, berbeda dengan perlakuan dalam studi Wu *et al.*, (2003) dan Laswati (2007) yang menggunakan *treadmill*. Tikus yang berenang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti bobot badan tikus, stres karena takut tenggelam sehingga mengurangi gerak dan kemungkinan hipoksia akibat tenggelam (Kregel *et al.*, 2006). Pembebanan aksial pada femur dengan cara berenang lebih kecil daripada dengan cara berjalan di atas *treadmill* (Robling *et al.*, 2006). Pada kelompok kombinasi kemungkinan stres yang dialami tikus lebih besar karena mendapat perlakuan renang dan pemberian jus tomat per sonde secara bersamaan. Karena pada sampel penelitian ini bobot badan tikus pada 4 kelompok penelitian ini tidak homogen, maka faktor ini dapat juga memengaruhi hasil dari perlakuan pada kelompok kombinasi.

### SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jus tomat terutama bagian lendirnya dapat meningkatkan densitas tulang pada kondisi defisiensi estrogen.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian isolasi bahan aktif yang terkandung dalam jus tomat dan efek terhadap proses molekular pada sel osteoblas dan osteoklas pada kondisi defisiensi estrogen.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Dekan Fakultas Farmasi dan Ketua Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Universitas Airlangga, sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Basuni A, Prihatini S. 2007. Risiko osteoporosis di Indonesia. *Gizi Indonesia* 30(1): 1-11.
- Baziad A. 2003. Menopause dan Andropause. Edisi ke-1. Jakarta. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Hal 75-81
- Clifton-Bligh P B, Baber R J, Fulcher G R, Nery M L, Moreton T. 2001. The effect of isoflavones extracted from Red Clover (Rimostil) on lipid and bone metabolism. *Menopause* 8: 259-265
- Ferlin A, Selice R, Carraro U, Foresta C. 2013. Testicular function and bone metabolism-beyond testosterone. *Endocrinology* 9: 548-552
- Finkelstein J S, Brockwell S E, Mehta V, Greendale G A, Sowers M R, Ettinger B, Lo J C, Johnston J M, Cauley J A, Danielson M E, Neer R M. 2008. Bone mineral density changes during the menopause transition in a multiethnic cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 861-868
- Fuqua J S and Rogol A D. 2013. Neuroendocrine alterations in the exercising human: Implications for energy homeostasis. *Metabolism Clinical and Experimental* 62: 911-921
- Genetos D C, Donahue H J. 2005. Intercellular Communication and Mechanotransduction in Bone. *Curr Opin Orthop* 16 : 311-315
- Gosh M N. 1971. *Fundamentals of Experimental Pharmacology*. 1<sup>st</sup> ed. Calcutta. Scientific Book Agency. Pp 84-88
- Heber D. 2004. Review article. Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases. *Journal Postgrad Med* 50: 145-49
- Iahy R, Hdider C, Lenucci M, Tilli I, Dalessandro I. 2010. Phytochemical composition and antioxidant activity of high-lycopene tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars grown in southern Italy. *Scientia Horticulturae* 127 : 255-61
- Jessop H L, Rawlinson S C F, Pitsillides H A, Lanyon L E. 2002. Mechanical Strain and Fluid Movement Both Activate Extracellular Regulated Kinase (ERK) in Osteoblastic-like Cell but Different Signaling Pathways. *Bone* 31: 186-94

- Kregel K C, Allen D L, Booth F W, Henriksen E J, Musch T L, O'Leary D S, Parks C M, Poole D C, Ra'anan AW, Sheriff D D, Sturkek M S, Toth L A. 2006. *Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols*. Bethesda. American Physiological Society. Pp : 35-41
- Laswati H. 2007. Kombinasi Latihan Fisik dan Pemberian Daun Semanggi Meningkatkan Ekspresi ER $\alpha$  dan ERK1/2 Sel Osteoblas Mencit Menopause. *Journal Biosains Pascasarjana* 9(2): 70-77.
- Laswati H, Mahaputra L. 2011. Natural phytoestrogen contents in several fruits and leaves; the future replacement hormone therapy in menopause women. *Jurnal Cakrawala* 6(1): 88-95.
- Losel R M, Falkenstein E, Feuring M, Shultz A, Tillmann H C, Rossol-Haseroth K, Wehling M. 2003. Nongenomic steroid action: Controversies, Questions and Answers. *Physiol Rev* 83: 965-1003
- Manolagas S C. 2000. Birth and death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis. *Endocrine Reviews* 21(2): 115-37
- Ming L-G, Chen K-M, Xian C J. 2013. Functions and action mechanisms of flavonoids genistein and icariin in regulating bone remodeling. *J Cell. Physiol* 228: 513-521
- Miyauchi Y, Sato Y, Kobayashi T, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Hao W, Miyamoto K, Tando T, Morioka H, Matsumoto M, Chambon P, Johnson RS, Kato S, Toyama Y, Miyamoto T. 2013. HIF1 $\alpha$  is required for osteoclast activation by estrogen deficiency in postmenopausal osteoporosis. *PNAS* 110(41): 16568-73
- Pilšáková L, Riečanský I, Jagla F. 2010. The Physiological action of isoflavone phytoestrogens. *Physiological Research* 59: 651-64
- Robling A G, Castillo A B, Turner, C H. 2006. Biomechanical and Molecular Regulation of Bone Remodeling. *Annu Rev Biomed Eng* 8: 455-98.
- Roeshadi D. 1997. Deteksi Dini Osteoporosis pada Perempuan Pra dan Pasca menopause. Disertasi. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Siddapur P R, Patil A B, Borde V S. 2015. Comparison of Bone Mineral Density, T-scores and serum zink between diabetic and non diabetic postmenopausal women with osteoporosis. *Journal of Laboratory Physicians* 7(1): 43-48
- Thompson L. 2006. Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans, and coumestan. *Nutrition and Cancer* 54(2): 184-201
- Tobias J H. 2003. At the crossroads of skeletal responses to estrogen and exercise. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 14(10): 441-443.
- Weizmann M N, Pacifi R. 2006. Estrogen deficiency and Bone Loss : an Inflammatory Tale. *J Clin. Invest* 116: 1186-1208.
- Windahl S H, Börjesson A E, Farman H H, Engdahl C, Movérare-Skrtic S, Sjögren K, Lagerquist M K, Kindblom J M, Koskela A, Tuukkanen J, Pajevic P D, Feng J Q, Dahlman-Wright K, Atonson P, Gustafsson J-ú, Ohlsson C. 2013. Estrogen receptor- $\alpha$  in osteocytes is important for trabecular bone formation in male mice. *PNAS* 110: 2294-99
- Wu J, Wang X X, Chiba H, Higuchi M, Takasaki M, Ohta A, Ishimi Y. 2003. Combined Intervention of Exercise and Genistein Prevented Androgen Deficiency-Induced Bone Loss in Mice. *J Appl Physiol* 94: 335-42.