



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH SUPLEMENTASI SOY ISOFLAVON TERHADAP
RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE
PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE**

DISERTASI

Raditya Wratsangka

0606028445

**PROGRAM DOKTOR ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS INDONESIA
DEPOK - 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH SUPLEMENTASI SOY ISOFLAVON TERHADAP
RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE
PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE**

DISERTASI

untuk memperoleh gelar Doktor dalam Ilmu Kesehatan Masyarakat
pada Universitas Indonesia di bawah pimpinan Rektor Universitas Indonesia
Prof. Dr. der Soz. Sumilar Rusliwa Somantri
dipertahankan di hadapan Senat Akademik Universitas Indonesia
pada hari Kamis, 21 Juli 2011, pukul 13.00 WIB

Raditya Wratsangka

0606028445

**PROGRAM DOKTOR ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS INDONESIA
DEPOK - 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**PENGARUH SUPLEMENTASI SOY ISOFLAVON TERHADAP
RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE
PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE**

**Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber, baik yang dikutip maupun yang dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : Raditya Wratsangka

NPM : 0606028445

Tanggal : 14 Juli 2011

Tanda Tangan : 

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini, saya :

Nama : RADITYA WRATSANGKA
NPM : 0606028445
Mahasiswa Program : S-3/Ilmu Kesehatan Masyarakat
Tahun Akademik : 2006/2007 – 2010/2011

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan disertasi saya yang berjudul :

**PENGARUH SUPLEMENTASI SOY-ISOFILAVON TERHADAP
RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE
PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE**

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan plagiat maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Depok, 21 Juli 2011

METERAI
TEMPEL

PAJAK PEMBANGUN BANGSA
TGL. 20

D9A48A1E5887301A

ENAM RIBU RUPIAH

6000



DJP

(RADITYA WRATSANGKA)

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Disertasi ini diajukan oleh

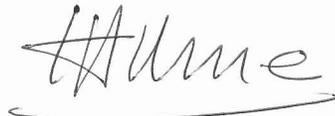
Nama : Raditya Wratsangka
NPM : 0606028445
Program Studi : Ilmu Kesehatan Masyarakat

dengan judul :

PENGARUH SUPLEMENTASI SOY-ISOFILAVON TERHADAP RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE

Telah disetujui pada hari Kamis, 21 Juli 2011 oleh :

Promotor :

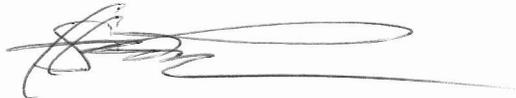


(Prof. dr. Budi Utomo, MPH, PhD.)

Guru Besar Tetap Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Indonesia

Kopromotor :

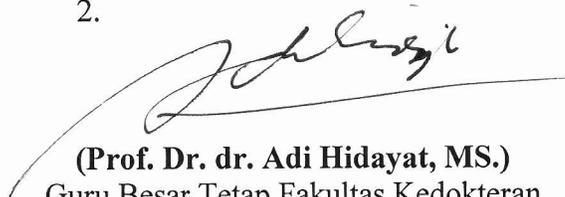
1.



(Prof. Dr. dr. H. Achmad Biben, Sp. OG-KFER)

Guru Besar Tetap Fakultas Kedokteran
Universitas Padjadjaran

2.



(Prof. Dr. dr. Adi Hidayat, MS.)

Guru Besar Tetap Fakultas Kedokteran
Universitas Trisakti

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Disertasi : **PENGARUH SUPLEMENTASI SOY ISOFLAVON TERHADAP
RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE
PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE**

Nama Mahasiswa : Raditya Wratsangka
NPM : 0606028445

Depok, 21 Juli 2011

Tim Penguji:



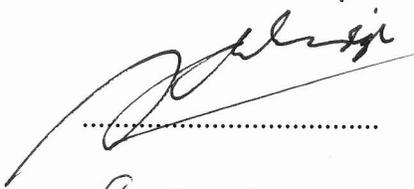
1. Prof. Dr. dr. Sudijanto Kamsu, SKM. (Ketua)



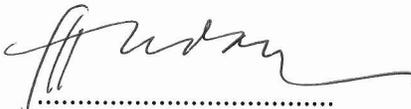
2. Prof. dr. Budi Utomo, MPH, PhD. (Promotor)



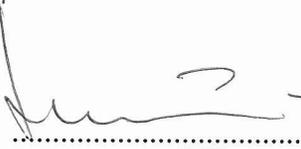
3. Prof. Dr. dr. H. Achmad Biben, Sp. OG, K-FER
(Ko-Promotor)



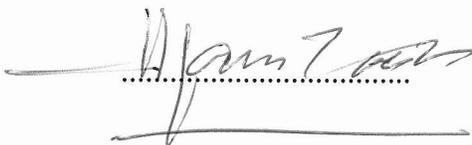
4. Prof. Dr. dr. Adi Hidayat, MS. (Ko-Promotor)



5. Prof. Dr. dr. Sudarto Ronoatmodjo, SKM, MSc.



6. Prof. Dr. dr. Kusharisupeni, MSc.



7. Prof. Dr. dr. Djamhoer Martaadisoebrata, MSPH,
Sp. OG-K

ABSTRAK

Nama : **Raditya Wratsangka**
Program Studi : **Ilmu Kesehatan Masyarakat**
Judul : **Pengaruh Suplementasi Soy-Isoflavon terhadap Respons Imun Spesifik dan Simtom Menopause pada Perempuan Pascamenopause**

Simtom menopause dan penurunan respons imun spesifik yang berkaitan dengan penurunan kadar estrogen dapat menurunkan kualitas hidup yang berkaitan dengan kesehatan (*health-related quality of life*) perempuan pascamenopause. Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh suplementasi harian soy-isoflavon 100 mg terhadap simtom menopause dan respons imun spesifik (humoral dan seluler) pada perempuan pascamenopause yang sehat.

Rancangan *community-based double blind randomized controlled trial* yang digunakan melibatkan 60 perempuan pascamenopause berusia antara 48 – 60 tahun di Kecamatan Mampang Prapatan – Jakarta Selatan. Subyek penelitian secara randomisasi blok menjadi kelompok yang mendapat suplemen soy-isoflavon 100 mg + kalsium 500 mg dan kelompok yang mendapat kalsium 500 mg saja selama 12 minggu, yaitu antara Januari dan April 2010. Penilaian respons imun spesifik dilakukan pada awal penelitian dan sesudah suplementasi dengan mengukur kadar Immunoglobulin G (IgG) dan CD4⁺ dalam darah; penilaian simtom menopause dilakukan dengan menggunakan kuesioner *Menopause Rating Scale* (MRS). Analisis statistik yang digunakan adalah *independent t-test* dan *chi-square test*, *multiple linear regression* dan *logistic regression*.

Sebanyak 56 subyek (93,3%) menyelesaikan penelitian ini tanpa mengalami efek samping yang berarti. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi soy-isoflavon 100 mg selama 12 minggu tidak meningkatkan respons imun spesifik humoral ($p=0,242$) dan tidak menurunkan angka kejadian simtom menopause ($p=0,103$), tetapi cenderung dapat meningkatkan respons imun spesifik seluler ($p=0,850$) pada perempuan pascamenopause. Ditemukan pula bahwa suplementasi soy-isoflavon cenderung meningkatkan respons imun spesifik dan penurunan menurunkan angka kejadian simtom menopause (gejala vasomotor) pada perempuan pascamenopause dengan indeks massa tubuh yang normal dan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup

Kata kunci : soy-isoflavon, respons imun spesifik, simtom menopause, pascamenopause

ABSTRACT

Name : **Raditya Wratsangka**
Study Programme : **Doctoral Programme - Public Health Sciences**
Title : **Effect of Soy-Isoflavone Supplementation on Specific Immune Response and Menopausal Symptoms of Postmenopausal Women**

Menopausal symptoms and immune dysfunction in postmenopausal women tend to decrease health-related quality of life (HRQoL). The present study's objective was to determine the effect of daily supplementation of 100 mg soy-isoflavone on specific immune response and the prevalence of menopausal symptoms among healthy postmenopausal women.

The study design was a community-based double blind randomized controlled trial involving 60 healthy postmenopausal women, aged between 48 – 60 years, in the Mampang Prapatan district of South Jakarta. Participants were blocked randomized to receive either 100 mg soy-isoflavone + 500 mg calcium (intervention group) or 500 mg calcium only (placebo group). Both supplements were taken daily for 12 weeks, from January to April 2010. Specific immune response (measured by serum Immunoglobulin G and CD4⁺) and menopausal symptoms (measured by Menopause Rating Scale questionnaire) were assessed at baseline and after supplementation. Independent t-test, chi-square, multiple linear regression and logistic regression statistic analysis were used to evaluate the effect of soy-isoflavone supplementation on specific immune response and menopausal symptoms.

Fifty-six (93,3%) of participants completed the study without any significant side-effect and adverse events. The daily supplementation of 100 mg soy-isoflavon for 12 weeks did not increase the humoral specific immune response ($p=0,242$) and decrease menopausal symptoms ($p=0,103$), but tend to improve cellular specific immune response ($p= 0,850$). Other findings of this study were soy-isoflavone supplementation tend to improve specific immune response and decrease prevalence of menopausal symptoms (vasomotor) in women with normal body mass index and adequate isoflavon daily food intake.

Keywords : *soy-isoflavone, specific immune response, menopausal symptoms, postmenopause*

KATA PENGANTAR DAN UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan berkah dan rahmatNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis berharap disertasi ini memberikan manfaat bagi perkembangan keilmuan, peningkatan kualitas pelayanan dan peningkatan kesehatan masyarakat, khususnya perempuan pra- dan pascamenopause di Indonesia. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terimakasih kepada berbagai pihak yang dengan penuh ketulusan memberikan perhatian, bantuan, bimbingan dan dukungan yang sangat bermanfaat kepada penulis dalam mempersiapkan dan menyelesaikan disertasi ini, yaitu :

1. Prof. dr. Budi Utomo, MPH, PhD., sebagai Pembimbing sekaligus Promotor yang dengan penuh kesabaran memberikan arahan serta bimbingan kepada penulis dengan wawasan berpikir yang luas dan sistematis, sejak penulis mengikuti perkuliahan program pendidikan doktor, langkah persiapan, pelaksanaan penelitian dan penulisan serta penyelesaian disertasi ini.
2. Prof. Dr. dr. H. Achmad Biben, Sp. OG-KFER, sebagai Ko-promotor yang dengan penuh semangat dan kesabaran memberikan arahan serta bimbingan kepada penulis dengan wawasan keilmuan dalam bidang obstetri-ginekologi serta imunoendokrinologi yang luas dan mendalam, sejak persiapan hingga penyelesaian disertasi ini.
3. Prof. Dr. dr. Adi Hidayat, MS, sebagai Ko-promotor yang di antara begitu banyak kesibukannya secara terus-menerus dan penuh semangat serta kesabaran memberikan perhatian, bimbingan dan dukungan penuh kepada penulis, sehingga kadang membuat penulis merasa kagum sekaligus sungkan atas respons beliau yang begitu cepat bila penulis memohon komentar, koreksi dan saran dari beliau.
4. Prof. Dr. dr. Sudijanto Kamso, SKM, sebagai Ketua Tim Penguji, yang juga memberikan arahan serta bimbingan kepada penulis dengan penuh perhatian dan kesabaran, tidak saja dalam bidang biostatistik yang sangat dikuasai oleh beliau, tapi juga dalam hal bagaimana penulis harus berwawasan, berpikir dan bersikap akademis.
5. Prof. Dr. dr. Sudarto Ronoatmodjo, SKM, MSc., sebagai Anggota Tim Penguji, yang dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dilandasi wawasan epidemiologi yang luas dan cara berpikir beliau yang tajam dan sistematis.
6. Prof. Dr. dr. Kusharisupeni, MSc., sebagai Anggota Tim Penguji, yang memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dengan penuh perhatian dan kelembutan, dilandasi wawasan keilmuan Gizi Masyarakat yang sangat beliau kuasai.
7. Prof. Dr. dr. Djamhoer Martaadisoebrata, MSPH, SpOG(K), sebagai Anggota Tim Penguji, yang walaupun sudah berusia lebih dari 80 tahun, selalu dengan penuh semangat dan perhatian memberikan arahan dan

bimbingan kepada penulis, tidak saja layak sebagai seorang guru kepada muridnya, tapi juga memberikan kedekatan hubungan bapak-anak yang nyaman kepada penulis. Pengalaman luas beliau sebagai seorang profesional di bidang obstetri-ginekologi dan kepakaran di bidang kesehatan masyarakat, selalu membantu penulis dalam memperluas wawasan di bidang obstetri-ginekologi sosial.

Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Rektor Universitas Indonesia Prof. Dr. der Soz Gumilar Rusliwa Somantri, Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia (FKMUI) saat ini Drs. Bambang Wispriyono, Apt., Ph.D, maupun Prof. dr. Hasbullah Thabrany, MPH, DrPH (periode 2004-2008) yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti program pendidikan S3/Doktor. Banyak terimakasih juga penulis sampaikan kepada Dr. drs. Tri Krianto, MKes selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat dan segenap jajaran pimpinan FKMUI yang terus memberikan perhatian dan dukungan kepada penulis. Rasa hormat dan terimakasih juga penulis sampaikan kepada para Guru Besar beserta seluruh staf pengajar/akademik di lingkungan FKMUI yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah membantu penulis dalam menambah keilmuan dan wawasan di bidang kesehatan masyarakat. Penulis juga menyampaikan rasa terimakasih kepada seluruh staf administrasi/penunjang di lingkungan Program Studi IKM dan FKMUI yang dengan sangat tulus-ramah terus membantu dan memberikan dukungan kepada penulis sejak awal penulis mengikuti pendidikan di FKMUI hingga dapat menyelesaikan disertasi ini.

Penghargaan dan terimakasih yang tak terhingga juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Trisakti – Prof. Dr. Thoby Mutis beserta segenap jajaran pimpinan USAKTI, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti – Prof. dr. Julius E. Surjawidjaja, SpMK beserta segenap jajaran pimpinan FK USAKTI yang telah memberikan kesempatan, perhatian dan dukungan kepada penulis untuk mengikuti program pendidikan S3 di FKMUI.

Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Dr. dr. Bambang Yudomustopo, Sp.OG selaku Kepala Departemen Obstetri-Ginekologi dan semua sejawat senior serta adik-adik sesama staf pengajar di Departemen Obstetri-Ginekologi FK USAKTI : dr. Hasrul D. Biran, Sp.OG, dr. H. Fachruddin, Sp.OG, dr. Laksmi Maharani, Sp.OG, dr. Atut C. Mayasari, Sp.OG dan dr. Rully Ayu Nirmalasari HP, yang dengan penuh pengertian terus memberikan perhatian serta dukungan kepada penulis.

Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada Prof. dr. Murad Lesmana, Guru Besar FK USAKTI, yang terus memberikan perhatian, semangat dan dukungan kepada penulis, juga kepada teman-teman staf pengajar di lingkungan FK USAKTI: Dr. dr. Rina K. Kusumaratna, MKes., dr. Elly Herwana, MBiomed., dr. Pusparini, SpPK, dr. Oktavianus Ch. Salim dan banyak lagi teman lainnya yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang memberikan dukungan semangat, membantu dan bekerjasama dengan penulis dalam mempersiapkan, melaksanakan kegiatan penelitian sampai penyelesaian disertasi

ini. Ucapan terimakasih disampaikan juga kepada para tenaga penunjang akademik dan non akademik di lingkungan Departemen Obstetri-Ginekologi dan Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti yang telah banyak membantu serta memberikan kemudahan kepada penulis dalam mengikuti program pendidikan S3 sejak awal hingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada pihak Suku Dinas Pelayanan Kesehatan Jakarta Selatan, Kepala beserta seluruh staf Puskesmas Kecamatan Mampang Prapatan dan Puskesmas Kelurahan di lingkungan Kecamatan Mampang Prapatan, beserta seluruh kader kesehatan dan warga yang telah membantu dan bekerjasama dengan penulis dalam pelaksanaan penelitian lapangan dan penulisan disertasi ini.

Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Pimpinan dan seluruh staf Laboratorium Klinik Prodia yang telah bekerjasama dan memberikan dukungan penuh kepada penulis dalam kegiatan persiapan dan pelaksanaan penelitian di lapangan. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada segenap pimpinan dan staf pelaksana PT Ikapharmindo, Laboratorium Kesehatan Daerah DKI Jakarta, Laboratorium Klinik RS Kanker Dharmais yang selama ini telah banyak membantu dan bekerjasama dengan penulis.

Sembah-sujud dan terimakasih yang tak terhingga penulis haturkan kepada Ayahanda (almarhum) Prof. Dr. Ir. KPH. P. Haryasudirja Sasraningrat dan Ibunda tercinta Elisabeth Raraireng atas segala keteladanan, doa, semangat dan dukungan moril-materiil kepada penulis untuk mulai mengikuti program pendidikan doktor hingga mampu menyelesaikan penulisan disertasi ini. Penulis juga selalu berdoa bagi kesehatan dan kebahagiaan ibunda tercinta di usia beliau yang sudah mencapai hampir 82 tahun.

Rasa haru dan terimakasih juga penulis sampaikan kepada seluruh keluarga tercinta, istri -Dra. Agnes Retno Hascaryani, MSi., Psikolog-, anak-anak: -Yosef Arya Wicaksana-, -Yohanes Satrya Wibawa- dan -Petrus Danurdara Wisnumurti-, atas segala doa, pengorbanan, pengertian, pendampingan dan dukungan lahir-batin yang tak ternilai dan penuh kasih-sayang selama penulis mengikuti program pendidikan S3 ini. Semoga semua yang telah kalian berikan kepada bapak selama ini kiranya membawa kebaikan dan kebahagiaan bagi seluruh keluarga kita. Bapak berharap semoga penyelesaian “tugas” bapak ini kiranya mampu menambah semangat belajar kalian untuk mencapai lebih dari dapat bapak capai. Bapak pasti akan memberikan perhatian dan dukungan penuh sebatas kemampuan bapak kepada kalian semua. Dengan dukungan dan berkat Tuhan Yang Maha Pengasih dan Penyayang, bapak yakin kalian semua mampu untuk mencapainya.

Ucapan terimakasih juga penulis haturkan kepada almarhum Bapak Ir. Tarcitius Sutadi (ayah mertua) serta almarhumah Ibu Yuliana Istyantini (ibu mertua), kakak-kakak kandung, kakak dan adik ipar: mas Brata, mbak Atik dan mas Muchtar, mas Punta dan mbak Tuti, mas Rasmu, dan mbak Linda, Hoho dan Ayi, Yoyok dan Wina, Edi dan Maimai, Budi dan Upi, yang telah memberikan

dukungan doa dan semangat kepada penulis dalam mengikuti pendidikan dan menyelesaikan disertasi ini.

Terimakasih juga kepada pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu dan semua teman-teman se-angkatan S3 : pak Tri, pak HermaNsyah, pak Wijayantono, pak Miko, pak Ukik, pak Pujiyanto, pak Budi Hartono, ibu Helda, ibu Suriah, ibu Aryani, ibu Ayun, atas segala kebersamaan dan dukungan semangat di antara kita dalam mengikuti dan menyelesaikan pendidikan serta penulisan disertasi. Semoga selalu ada kedekatan dan keakraban di antara kita.

Akhirnya penulis juga mohon maaf kepada semua pihak atas kesalahan penulis dan ketidaknyamanan selama penulis mengikuti program pendidikan dan menyelesaikan disertasi ini. Penulis berdoa semoga segala kebaikan para Guru Besar, Ibu, Bapak dan Saudara serta para sahabat semua mendapat balasan anugerah yang berlimpah dari Tuhan Yang Maha Esa dan Kuasa.

Jakarta, Juli 2011

Raditya Wratsangka

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNUTK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Raditya Wratsangka
NPM : 0606028445
Program Studi : S-3/Ilmu Kesehatan Masyarakat
Departemen : Ilmu Kesehatan Masyarakat
Fakultas : Kesehatan Masyarakat
Jenis karya : Disertasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**PENGARUH SUPLEMENTASI SOY-ISOFLAVON TERHADAP
RESPONS IMUN SPESIFIK DAN SIMTOM MENOPAUSE
PADA PEREMPUAN PASCAMENOPAUSE**

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 21 Juli 2011

Yang menyatakan,



(RADITYA WRATSANGKA)

Daftar Isi

	Halaman
Abstrak	i
Ucapan Terimakasih	iii
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Diagram/Gambar	xi
Daftar Lampiran	xii
Daftar Singkatan dan Istilah	xiii
Bab 1	PENDAHULUAN
1.1	Latar belakang masalah 1
1.2	Rumusan masalah 11
1.3	Tujuan penelitian 11
	1.3.1 Tujuan umum 11
	1.3.2 Tujuan khusus 12
1.4	Manfaat penelitian 12
	1.4.1 Manfaat akademik 12
	1.4.2 Manfaat bagi pelayanan masyarakat 12
	1.4.3 Manfaat bagi pengembangan ilmu 12
Bab 2	TINJAUAN PUSTAKA
2.1	Menopause
	2.1.1 Batasan dan teori patofisiologi menopause 13
	2.1.2 Gangguan akibat menopause 17
	2.1.2.1 Simtom atau gejala-gejala menopause 17
	2.1.2.2 Menopause dan osteoporosis 22
	2.1.2.3 Menopause dan penyakit jantung koroner 22
	2.1.2.4 Demensia tipe Alzheimer 23
2.2	Sistem imunitas tubuh 24
	2.2.1 Jenis-jenis respons imun 26
	2.2.2 Hubungan antara estrogen dan respons imun spesifik 29
	2.2.2.1 Pengaruh estrogen terhadap jumlah dan fungsi limfosit T 30
	2.2.2.2 Pengaruh estrogen terhadap jumlah dan fungsi limfosit B 32
	2.2.3 Mekanisme kerja estrogen pada sel-sel imun 32
	2.2.4 Reseptor estrogen 33
	2.2.5 Mekanisme kerja estrogen lainnya pada sistem imun 33
2.3	Hubungan antara proses penuaan (<i>ageing process</i>) dan imunitas tubuh 34
2.4	Timik menopause 36
2.5	Pengaruh defisiensi nutrisi terhadap sistem dan respons imun 36

	Halaman
2.6	Penanganan holistik perempuan pascamenopause 38
2.6.1	Pendekatan psikososial dan perubahan gaya hidup 38
2.6.2	Terapi hormon 40
2.6.3	Terapi non hormonal 42
2.7	Suplementasi fitoestrogen 43
2.7.1	Gambaran umum 43
2.7.2	Efektivitas fitoestrogen 46
2.7.2.1	Efek fitoestrogen terhadap simtom menopause 46
2.7.2.2	Efek fitoestrogen terhadap profil lipid dan sistem kardiovaskular 47
2.7.2.3	Efek fitoestrogen terhadap osteoporosis 48
2.7.2.4	Efek fitoestrogen terhadap kanker payudara 49
2.7.3	Keamanan dan efek samping fitoestrogen 49
2.7.4	Fitoestrogen sebagai imunomodulator 50
2.7.4.1	Isoflavon sebagai agonis dan antagonis lemah terhadap estrogen 50
2.7.4.2	Potensi isoflavon sebagai immunosupresif 51
2.7.4.3	Isoflavon sebagai antioksidan dan antiproliferatif 52
2.7.4.4	Potensi isoflavon untuk mengaktivasi limfosit 53
2.8	Penilaian simtom menopause 54
2.9	Beberapa studi terdahulu tentang suplementasi <i>soy</i> -isoflavon terhadap respons imun spesifik dan simtom menopause 59
2.10	Kerangka teoritis 64
Bab 3	KERANGKA KONSEP, VARIABEL DAN BATASAN OPERASIONAL 67
3.1	Kerangka konsep 68
3.2	Hipotesis 68
3.3	Deskripsi variabel dan batasan operasional 69
Bab 4	METODE PENELITIAN
4.2	Desain penelitian 73
4.3	Populasi dan subyek penelitian 74
4.4	Besar sampel dan cara pengambilan sampel 74
4.4.1	Besar sampel 74
4.4.2	Cara pengambilan sampel 75
4.5	Pemberian suplementasi 78
4.5.1	Randomisasi 78
4.5.2	Intervensi 78
4.5.3	Kepatuhan terhadap prosedur penelitian 79
4.5.4	Pemantauan distribusi dan administrasi suplemen 80
4.6	Prosedur pengumpulan data 81

	Halaman	
4.7	Etika penelitian dan persetujuan setelah penjelasan (<i>informed consent</i>)	84
4.8	Manajemen, pengolahan dan analisis data	85
BAB 5	HASIL PENELITIAN	
5.1	Jumlah dan karakteristik subyek	87
5.2	Pengaruh <i>soy</i> -isoflavon terhadap respons imun spesifik perempuan pascamenopause	92
5.3	Pengaruh <i>soy</i> -isoflavon terhadap simtom menopause pada perempuan pascamenopause	97
5.4	Efek samping dan <i>adverse event</i>	104
5.5	Uji hipotesis	104
	5.5.1 Hipotesis pertama	104
	5.5.2 Hipotesis kedua	105
	5.5.3 Hipotesis ketiga	105
BAB 6	PEMBAHASAN	
6.1	Generalisasi hasil penelitian	106
6.2	Implikasi hasil penelitian terhadap teori	111
	6.2.1 Pengaruh suplementasi <i>soy</i> -isoflavon terhadap respons imun spesifik perempuan pascamenopause	111
	6.2.2 Pengaruh suplementasi <i>soy</i> -isoflavon terhadap simtom menopause pada perempuan pascamenopause	114
6.3	Implikasi hasil penelitian terhadap program suplementasi perempuan pascamenopause	120
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1	Kesimpulan	123
7.2	Saran	123
	7.2.1 Saran akademik	123
	7.2.2 Saran aplikatif	124
	DAFTAR PUSTAKA	125
	LAMPIRAN	

Daftar Tabel

Nomor tabel	Judul tabel	Halaman
2.1	Keluhan klimakterik pada perempuan usia antara 45-54 tahun	18
2.2	Struktur subskala dari masing-masing <i>menopause specific scale</i>	56
2.3	<i>Characteristics of each standardized menopause specific scale</i>	57
2.4	Beberapa penelitian pengaruh pemberian ekstrak <i>soy-isoflavon</i> (dengan kontrol plasebo) terhadap simtom menopause	61
4.1	Jumlah dan alokasi subyek penelitian	77
5.1.1	Beberapa karakteristik penting subyek pada awal penelitian berdasarkan kelompok perlakuan	89
5.1.2	Karakteristik klinik subyek pada awal penelitian berdasarkan kelompok perlakuan	90
5.1.3	Rerata kadar IgG, CD4 ⁺ dan simtom menopause pada awal penelitian berdasarkan kelompok perlakuan	91
5.2.1	Rerata kadar IgG, CD4 ⁺ pasca suplementasi 100mg <i>soy-isoflavon</i> selama 12 minggu berdasarkan kelompok perlakuan	92
5.2.2	Persentase perbedaan relatif (δ) rerata kadar IgG antara sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan subkelompok perempuan pascamenopause	94
5.2.3	Persentase perbedaan (δ) rerata kadar CD4 ⁺ sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan subkelompok perempuan pascamenopause	94
5.2.4	Analisis regresi linier sederhana beberapa variabel klinik penting terhadap kadar IgG dan kadar CD4 ⁺ pada awal penelitian	96
5.2.5	Analisis regresi linier multivariat beberapa variabel klinik penting terhadap kadar IgG dan CD4 ⁺ pada awal penelitian	97
5.3.1	Simtom menopause dan ketiga domain gangguan menopause pasca suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada perempuan pascamenopause	97
5.3.2	Persentase perbedaan relatif (δ) simtom menopause sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause	98
5.3.3	Persentase perbedaan relatif (δ) gangguan psikologik sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause	99
5.3.4	Persentase perbedaan relatif (δ) gangguan vasomotor sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause	100
5.3.5	Persentase perbedaan relatif (δ) gangguan urogenital sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause	102
5.3.6	Analisis bivariat beberapa variabel klinik penting terhadap simtom menopause	103
5.3.7	Analisis regresi logistik multivariat beberapa variabel klinik penting terhadap simtom menopause	103
6.1	Uji komparabilitas rerata beberapa karakteristik demografik dan karakteristik klinik antara kelompok subyek putus-serta dengan kelompok subyek yang mengikuti penelitian sampai selesai	107

Daftar Diagram / Gambar

Nomor Diagram/ Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Tahapan-tahapan masa reproduksi pada perempuan (STRAWS)	15
2.2	Mekanisme utama imunitas bawaan dan didapat	27
2.3	Jenis-jenis imunitas didapat	29
2.4	Struktur kimiawi estrogen (estradiol) dibandingkan dengan isoflavon	44
2.5	Kerangka teoritik hubungan antara menopause dengan penurunan respons imun spesifik dan kejadian gejala-gejala menopause, serta kualitas hidup yang menurun	66
3.1	Kerangka konsep pengaruh suplementasi <i>soy</i> -isoflavon terhadap respons imun spesifik dan simtom menopause pada perempuan pascamenopause	68
4.1	Diagram desain penelitian	73
4.2	Diagram prosedur pengambilan sampel	76

Daftar Lampiran

- Lampiran 1 : Kuesioner Data Subyek dan *Menopause Rating Scale*
- Lampiran 2 : Persetujuan peran-serta dalam penelitian (*Informed-consent-1*)
- Lampiran 3 : Persetujuan peran-serta dalam penelitian (*Informed-consent-2*)
- Lampiran 4 : Formulir pencatatan (*check-list*) suplementasi
- Lampiran 5 : Formulir pencatatan *adverse-event*
- Lampiran 6 : Lembar pencatatan data penelitian
- Lampiran 7 : Formulir *record-diet*
- Lampiran 8 : Formulir *recall-diet*
- Lampiran 9 : Surat Persetujuan Komisi Ahli Riset dan Etik Riset FKMUI
- Lampiran 10 : *Certificate of Analysis Soybean Isoflavones 40%*
- Lampiran 11 : Perhitungan kesetaraan *soy-isoflavone*
- Lampiran 12 : Seritifikat Analisis tablet isoflavon dan tablet kalsium (Ikapharmindo)

Daftar Singkatan / Istilah

<i>AACE</i>	: <i>American Association of Clinical Endocrinologist</i>
<i>ACOG</i>	: <i>American College of Obstetrician & Gynecologist</i>
<i>ACTH</i>	: <i>Adreno Cortico Tropin Hormone</i>
<i>AIDS</i>	: <i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>
<i>Apoptosis</i>	: <i>kematian sel yang terprogram</i>
<i>ASAT</i>	: <i>Asetilkolin Transferase</i>
<i>n-AsK-R</i>	: <i>nikotin AsetilKolin Reseptor</i>
<i>BMI</i>	: <i>Body Mass Index</i>
<i>BMD</i>	: <i>Bone Mass Density</i>
<i>CD4+</i>	: <i>Cluster Differentiation-4</i>
<i>CV</i>	: <i>Coefficient of Variation</i>
<i>Depkes RI</i>	: <i>Departemen Kesehatan Republik Indonesia (sekarang Kemkes)</i>
<i>DTA</i>	: <i>Demensia tipe Alzheimer</i>
<i>ECLIA</i>	: <i>Electrochemiluminescence Immunoassay</i>
<i>ER-α</i>	: <i>Estrogen Receptor type Alpha</i>
<i>ER-β</i>	: <i>Estrogen Receptor type Beta</i>
<i>E2</i>	: <i>Estradiol</i>
<i>E3</i>	: <i>Estriol</i>
<i>FDA</i>	: <i>Food and Drug Administration</i>
<i>FSH</i>	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
<i>HDL</i>	: <i>High Density Lipoprotein</i>
<i>HIFERI</i>	: <i>Himpunan Fertilitas dan Endokrinologi Reproduksi Indonesia</i>
<i>HPLC</i>	: <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>
<i>HRQoL</i>	: <i>Health Related Quality of Life</i>
<i>HT</i>	: <i>Hormone Therapy (HT)</i>
<i>HTA</i>	: <i>Health Technology Assessment</i>
<i>IDI</i>	: <i>Ikatan Dokter Indonesia</i>
<i>IFN-γ</i>	: <i>Interferon-γ</i>
<i>IgG</i>	: <i>Imunoglobulin G</i>
<i>IL-6</i>	: <i>Interleukin-6</i>
<i>IMS</i>	: <i>International Menopause Society</i>
<i>IMT</i>	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
<i>LDL</i>	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
<i>MHC</i>	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
<i>NAMS</i>	: <i>North American Menopause Society</i>
<i>NF-kB</i>	: <i>Nuclear Factor-kB</i>
<i>NK Cells</i>	: <i>Natural Killer cells</i>
<i>PBMCs</i>	: <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs)</i>
<i>PJK</i>	: <i>Penyakit Jantung Koroner</i>
<i>POGI</i>	: <i>Perkumpulan Obstetri-Ginekologi Indonesia</i>
<i>POMC</i>	: <i>Preopiomelanocortin</i>
<i>SERM</i>	: <i>Selective Estrogen Receptor Modulator</i>

SKRT	: Survei Kesehatan Rumah Tangga
<i>SQ-FFQ</i>	: <i>Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire</i>
<i>SNRI</i>	: <i>Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor</i>
<i>SSRI</i>	: <i>Selective Serotonin Reuptake Inhibitor</i>
<i>STRAW</i>	: <i>Stages of Reproductive Aging Workshop</i>
TCR	: T Cells Receptor
Tc	: T cytotoxic
TH	: Terapi Hormonal
Th	: T helper
TNF	: <i>Tumor Necrosing Factors</i>
Ts	: T suppressor
<i>VTE</i>	: <i>Venous Thrombo Embolism</i>
<i>WHI</i>	: <i>Women's Health Initiative</i>
<i>WHO</i>	: <i>World Health Organization</i>
Yanmedik	: Pelayanan Medik

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang masalah

Menopause, sesuai dengan batasan *World Health Organization* (1996) dan *American Association of Clinical Endocrinologist* (2003), adalah haid alami terakhir, yaitu saat berhentinya menstruasi secara permanen akibat hilangnya aktivitas atau tidak bekerjanya folikel ovarium yang disebabkan karena perubahan pada struktur dan fungsinya, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan sekresi hormon seks steroid ovarium terutama estrogen dan progesteron. Secara epidemiologik, definisi menopause ini disesuaikan menjadi “tidak adanya menstruasi selama 1 tahun”. Dengan demikian, menopause merupakan kejadian fisiologik yang normal dalam kehidupan setiap perempuan, dan bukan merupakan suatu penyakit. Beberapa istilah selama ini digunakan untuk menjelaskan kejadian-kejadian yang terjadi pada masa transisi menopause. Sebuah model yang dikembangkan pada saat the *Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW)* menjelaskan adanya tujuh tahapan usia reproduksi, yaitu 5 tahap sebelum menstruasi yang terakhir dan 2 tahap sesudah menstruasi terakhir. Ketujuh tahapan reproduksi ini terdiri dari tahap-tahap reproduktif, yang ditandai dengan siklus menstruasi yang teratur; tahap transisi menopause, yang ditandai dengan siklus menstruasi yang bervariasi dan tingginya kadar *Follicle Stimulating Hormone (FSH)*; dan tahap pascamenopause, yang dimulai dengan berakhirnya periode menstruasi dan berlangsung sampai akhir kehidupan. Tahap pascamenopause ini dibagi menjadi tahap pascamenopause dini (yang dimulai sejak saat menstruasi terakhir sampai 5 tahun berikutnya atau 4 tahun sesudah menopause) dan tahap pascamenopause lanjut (dimulai sejak 5 tahun sesudah menstruasi terakhir) dengan masing-masing tahapan mempunyai karakteristik yang berbeda dalam hal struktur dan fungsi sel, serta kadar hormon estrogen dan kepekaan reseptornya yang berbeda (Soules et al., 2001).

Penurunan kadar hormon seks steroid di dalam tubuh, terutama estrogen, tidak saja mengubah pola haid, tapi mempunyai dampak terhadap kesehatan umum, terutama berupa gangguan somatik/urogenital dan vasomotor, seperti hilangnya elastisitas jaringan kulit sehingga kulit tampak keriput, vagina kering (yang menyebabkan dispareunia), disuria, palpitasi, migren, *hot flushes* atau *hot flashes* (gejolak panas), keringat malam, gangguan tidur (insomnia), dan gangguan seksual, yang semuanya ini dikenal sebagai simtom menopause (*menopausal symptoms*) yang merupakan gejala primer akibat defisiensi estrogen. Meskipun mekanismenya belum dapat dijelaskan secara pasti, kejadian timbulnya simtom menopause ini tidak semata-mata karena penurunan kadar hormon seks steroid, melainkan bersifat multifaktor, yaitu juga disebabkan terjadinya disfungsi organ berkaitan dengan proses penuaan (*ageing process*), apoptosis dan degenerasi yang dialami oleh organ-organ dengan fungsi reproduktif (ovarium dan timus) dan organ-organ dengan fungsi non-reproduktif (metabolisme dan vaskular). Gangguan fungsi ovarium menyebabkan menurunnya kadar estrogen dalam tubuh, sedangkan gangguan atau penurunan fungsi pada timus menyebabkan disfungsi sistem imun. Pada perempuan pascamenopause terjadi pula perubahan komposisi unsur-unsur estrogen, yaitu estradiol (E2) yang semula lebih banyak berperan pada masa reproduktif digantikan dominasinya oleh estriol (E3) yang mempunyai daya afinitas terhadap reseptor estrogen yang berbeda.

Angka kejadian simtom menopause ini di kalangan perempuan Barat (Eropa dan Amerika) mencapai 50-75%, sedangkan di Asia hanya sekitar 20-25% (Hidayat, 2005), bahkan Baziad (2003) melaporkan angka kejadian hanya 10-20%. Data terdahulu yang dilaporkan oleh Boulet (1994) menunjukkan angka kejadian gangguan vasomotor di Indonesia sebesar 6% pada perempuan premenopause, 30% pada perempuan perimenopause dan 8% pada perempuan pascamenopause. Berat atau ringannya keluhan berbeda-beda pada setiap perempuan. Keluhan-keluhan tersebut mencapai puncaknya sebelum dan sesudah menopause, dan dengan meningkatnya usia, keluhan-keluhan tersebut makin jarang ditemukan. Simtom menopause ini dapat mempengaruhi kondisi psikis, mental, prestasi dan kinerja perempuan, serta kehidupan sosialnya. Walaupun menopause biasa diasosiasikan dengan keluhan di atas, tanggapan perempuan dan

masyarakat terhadap menopause berbeda di setiap komunitas. Secara umum dikatakan bahwa perempuan Timur - termasuk Indonesia - menganggap menopause sebagai suatu peristiwa alamiah biasa yang harus dijalani oleh semua perempuan; sementara perempuan Barat memandang menopause sebagai suatu “kehilangan”, misalnya kehilangan kemampuan mempunyai anak dan kehilangan kecantikan.

Sesudah memasuki masa menopause, terkait dengan penurunan kadar estrogen di dalam tubuh, selain simtom yang timbul segera sebagaimana disebutkan di atas, perempuan juga akan memiliki risiko yang meningkat terhadap kelainan-kelainan kronis dalam jangka panjang (sekunder), yaitu: penyakit jantung koroner, osteoporosis, demensia atau penurunan fungsi kognitif dan penyakit kanker atau keganasan (payudara, endometrium dan kolorektal). Lebih kurang 35% perempuan pascamenopause menderita osteoporosis. Menurut Baziad (2003), pada tahun 2050 angka kejadian patah tulang femur di dunia mencapai 6,26 juta orang per tahun, sedangkan di Asia sebanyak 3,25 juta (52%). Di kebanyakan negara berkembang, penyakit kardiovaskular adalah penyebab utama kesakitan dan kematian pada perempuan di atas usia 50 tahun. Penyakit kardiovaskular dan serebrovaskular merupakan penyebab kematian utama pada perempuan pascamenopause (75-76%), lebih tinggi daripada kematian karena kanker payudara (Rosano, Vitale, Marazi, 2007). Menurut Baziad (2003), kemungkinan seorang perempuan usia 50 tahun mendapat infark miokard pada sisa hidupnya adalah 46% dan risiko kematiannya sebesar 34%.

Sebagai akibat dari proses penuaan (*ageing*) dan menurunnya kadar estrogen (yang juga merupakan suatu *immune-modulating hormone*), perempuan menopause juga mengalami penurunan imunitas tubuh, sehingga perempuan menopause menjadi lebih rentan terhadap penyakit infeksi, dan juga biasanya rentan terhadap berbagai penyakit degeneratif, bahkan penyakit autoimun, yang dapat menjadi penyebab kematian perempuan apabila tidak mendapat penanganan yang adekuat (Biben, 2003). *World Health Report* (2003) melaporkan penyakit infeksi saluran pernapasan bagian bawah dan tuberkulosis menempati urutan keempat dan kesembilan sebagai penyebab kematian terbanyak pada mereka yang berusia di atas 60 tahun di seluruh dunia. Di negara yang sedang berkembang,

sekitar 90% kasus infeksi yang menyebabkan kematian adalah infeksi saluran pernapasan, diare, tuberkulosis, malaria dan AIDS (WHO, 2002). Beberapa penelitian menunjukkan adanya pengaruh penurunan estrogen terhadap respons imun spesifik, yaitu bahwa perempuan pasca-menopause menunjukkan adanya pengurangan jumlah limfosit total dibandingkan dengan perempuan reproduktif, sebagai akibat penurunan limfosit B (yang menghasilkan antibodi) dan Th yang menghasilkan sitokin (Yang et al., 2000), meskipun adanya mekanisme-mekanisme lain yang terlibat dalam pengendalian jumlah limfosit pada perempuan tidak dapat disingkirkan, dan salah satu di antaranya adalah karena proses penuaan atau *ageing process* (Miller, 1996; Chakravarti dan Abraham, 1999).

Keberhasilan pembangunan kesehatan di Indonesia membawa dampak meningkatnya status kesehatan dan usia harapan hidup (UHH) penduduk Indonesia. Dari data Departemen Kesehatan (2002) dan *World Health Organization* (WHO, 2007), UHH penduduk Indonesia meningkat dari 52,4 tahun pada tahun 1980 menjadi 66 tahun (laki-laki) dan 69 tahun (perempuan) pada tahun 2005. Di samping itu terjadi pergeseran usia menopause perempuan Indonesia, dari usia 46 tahun (1980) menjadi 49 tahun (2000). Jumlah dan proporsi perempuan yang berusia di atas 50 tahun dan diperkirakan memasuki usia menopause dari tahun ke tahun di Indonesia juga terus meningkat secara bermakna. Berdasarkan Sensus Penduduk pada tahun 2000, jumlah perempuan yang berusia di atas 50 tahun dan diperkirakan telah memasuki usia menopause sebanyak 15,5 juta orang, dan pada tahun 2020 diperkirakan jumlah perempuan yang hidup dalam usia menopause sebanyak 30,3 juta orang atau sekitar 11,5% dari total jumlah penduduk Indonesia (Depkes RI, 2002). Dampak simtom menopause maupun gangguan lain yang ditimbulkan berkaitan dengan defisiensi estrogen ini menjadi sangat penting sejalan dengan meningkatnya usia harapan hidup dan bertambah panjangnya masa kehidupan perempuan di seluruh dunia, karena dengan demikian perempuan masih dapat memiliki kehidupan yang bermakna sesudah mencapai usia menopause. Banyak perempuan kini masih produktif bahkan mencapai puncak karirnya pada usia perimenopause, sehingga penting bagi mereka untuk memiliki kualitas hidup yang baik untuk menunjang

kinerjanya. Berbagai gangguan tersebut di atas yang timbul sebagai akibat atau ada hubungannya dengan menopause, baik pra- maupun pascamenopause, dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup perempuan, terutama kualitas hidup yang terkait dengan kesehatan (*health-related quality of life*).

Terapi hormon (TH) atau *hormone therapy (HT)*, baik berupa estrogen saja, maupun kombinasi estrogen dan progesteron, dalam beberapa tahun terakhir ini masih merupakan jenis obat yang paling banyak diresepkan bagi perempuan pascamenopause di negara-negara industri maju. Pemberian TH ini merupakan bagian dari berbagai upaya mencapai dan mempertahankan kualitas hidup yang baik pada perempuan menopause. Cukup banyak kajian yang membuktikan efek terapi hormon yang bermanfaat, baik terhadap simtom menopause, profil lipid, maupun osteoporosis, demensia dan kanker kolorektal. Kebanyakan perempuan menggunakannya untuk mengatasi simtom menopause, serta mencegah terjadinya penyakit kronik, seperti: osteoporosis, penyakit jantung koroner (PJK) dan demensia Alzheimer. Berdasarkan rekomendasi yang dikeluarkan oleh *North American Menopause Society (NAMS)* dalam *Position Statement (2010)*, indikasi pemberian terapi hormon adalah adanya simtom menopause, seperti gejala vasomotor dan gejala urogenital. Selain banyak manfaat yang didapat dengan pemberian terapi hormon ini, seperti semua obat lainnya, terapi hormon dapat menimbulkan berbagai efek samping, mulai dari efek samping yang ringan (mual, mastalgia, nyeri kepala) sampai timbulnya gangguan yang berat (perdarahan uterus), bahkan beberapa penelitian mengaitkan penggunaan terapi hormon ini dengan meningkatnya risiko beberapa jenis penyakit seperti: penyakit jantung koroner (pada penggunaan preparat kombinasi estrogen dan progesteron), *venous thromboembolism (VTE)* dan risiko timbulnya keganasan ovarium (Shapiro, 2007). Di Indonesia, terapi hormon diberikan hanya pada pasien menopause dengan keluhan terkait defisiensi estrogen yang mengganggu atau adanya ancaman osteoporosis dengan lama pemberian maksimal 5 (lima) tahun (Ditjen Yanmedik Departemen Kesehatan RI, 2004).

Karena adanya kemungkinan timbul efek samping jangka panjang yang sangat merugikan, sebelum dilakukan pemberian terapi hormon, perlu dilakukan pemeriksaan antara lain: diagnosis pasti menopause, penilaian ada/tidaknya

kontraindikasi mutlak dan relatif, *informed consent* (persetujuan setelah penjelasan) mengenai untung-rugi penggunaan terapi hormon, pemeriksaan fisik (meliputi tekanan darah, pemeriksaan payudara dan pelvik), serta sitologi serviks dan mammografi harus memberikan hasil negatif. *The American College of Obstetrics and Gynaecology (ACOG)* menetapkan beberapa keadaan sebagai kontra-indikasi penggunaan terapi hormon (McNaghy, 1999), dan *The Hong Kong College of Obstetricians and Gynaecologists* (2003) juga menyebutkan beberapa kontraindikasi absolut terapi hormon, seperti karsinoma payudara, kanker endometrium, riwayat tromboemboli vena dan penyakit hati akut.

Di Indonesia dan negara-negara Asia umumnya, penggunaan terapi hormon ini masih sangat terbatas dan hanya diberikan kepada pasien menopause dengan keluhan terkait defisiensi estrogen yang mengganggu, atau adanya ancaman osteoporosis dan patah tulang (fraktur). Berbeda dengan negara Barat, keluhan yang lebih sedikit dan penerimaan masyarakat terhadap menopause, faktor pendidikan, sosial dan ekonomi mempengaruhi jumlah pemakaian terapi hormon di wilayah Asia (Aso, 1997). Sesuai dengan rekomendasi yang dihasilkan dalam *First Concensus Meeting on Menopause in the East Asia Region* (WHO, 1997), mengenai perlunya penelitian biososiokultural mengenai penggunaan TH untuk masing-masing negara, telah berhasil disusun suatu pedoman terapi hormon untuk perempuan Asia selama masa perimenopause (Tan, Darmasetiawan, Haines, et al., 2006). Dalam *Health Technology Assessment* (Direktorat Jendral Yanmedik Depkes RI, 2004) beberapa keadaan ditetapkan sebagai kontra-indikasi relatif penggunaan terapi hormon tersebut. Himpunan Fertilitas dan Endokrinologi Reproduksi (HIFERI) Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia (POGI) telah menetapkan Konsensus Penatalaksanaan Menopause (2010) yang isinya antara lain bahwa pemberian terapi hormon pada awalnya dilakukan dalam kurun waktu 1-3 bulan, kemudian pasien dianjurkan untuk melakukan evaluasi dengan kemungkinan toleransi adanya efek samping yang timbul saat penggunaan terapi hormon.

Laporan hasil penelitian *Women Health Initiative* (2002) yang menunjukkan adanya peningkatan risiko terhadap munculnya kanker payudara, penyakit jantung koroner, *stroke* dan *venous thromboembolism* (VTE) pada

pengguna terapi hormon, telah membuat sebagian para perempuan penggunanya mulai menolak penggunaan TH dan mencari alternatif pengobatan lain yang dapat membantu memenuhi kebutuhan mereka untuk mengatasi gangguan-gangguan akibat menopause. Di samping kekhawatiran terhadap efek samping tersebut di atas, adanya beberapa keadaan yang merupakan kontraindikasi (mutlak dan relatif), persyaratan-persyaratan yang harus dipenuhi (pemeriksaan mammografi dan Pap's smear) pada penggunaan terapi sulih hormon, selain harganya yang relatif tinggi bagi sebagian besar masyarakat Indonesia, terlebih bagi para perempuan pascamenopause, menjadikan terapi hormon (TH) di Indonesia sulit dijangkau oleh masyarakat (terutama dari segi ekonomi) dan sangat terbatas penggunaannya di Indonesia.

Meningkatnya kebutuhan dan minat terhadap alternatif penggunaan TH untuk mengatasi gangguan-gangguan akibat menopause telah memunculkan beberapa terapi non-hormonal, seperti penggunaan obat-obat antidepresan, antihipertensi dan fitoestrogen, yang masing-masing telah didukung oleh beberapa penelitian untuk membuktikan manfaatnya dalam mengatasi gangguan-gangguan menopause. Penggunaan antidepresan *gabapentin* (γ -aminobutyric acid analogue), *paroxetine* –suatu *selective serotonin reuptake inhibitor* (SSRI) – dan *venlafaxine* –suatu *serotonin norepinephrine reuptake inhibitor* (SNRI) – terbukti dapat menurunkan frekuensi dan beratnya gejala panas (*hot flashes*) dan menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan plasebo (Nelson, 2008). Penggunaan *clonidine* – suatu *antihipertensif sentral α -adrenergik agonist* – menunjukkan adanya penurunan frekuensi dan beratnya gejala panas secara bermakna pada separuh percobaan yang pernah dilakukan. Penggunaan antidepresan dan antihipertensif untuk mengatasi gejala-gejala menopause belum mendapat persetujuan dari lembaga yang mengatur obat-obat menopause, dan terutama terkait dengan efek samping yang merugikan para penggunanya (Albertazzi, 2007; Nelson, 2008).

Fitoestrogen merupakan suatu bahan alamiah dari tumbuhan yang mempunyai rumus bangun kimiawi sangat berbeda dengan estrogen, namun khasiat dan “perilaku”nya sangat mirip dengan estrogen, sehingga disebut sebagai “*estrogen like substance*” dan dikenal pula sebagai “herbal-estrogen”. Senyawa

ini dapat berikatan dengan reseptor estrogen (ER- α dan ER- β), serta mempunyai aktivitas estrogenik sekaligus juga anti-estrogenik lemah (Ryan-Borchers, 2006). Di antara beberapa jenis fitoestrogen yang terdapat dalam tumbuhan, dan pada manusia mempunyai dua efek penting, yaitu estrogenik dan antiestrogenik, bergantung kepada kadar kadar estrogen endogen dan reseptor estrogen, sehingga fitoestrogen ini juga dikenal sebagai suatu *Selective Estrogen Receptor Modulator (SERM)* yang mempunyai efek agonis maupun antagonis (Rosset, 2005).

Meskipun dari hasil *systematic review* dalam *Cochrane Collaboration* (Lethaby, 2007) menunjukkan tidak terdapat fakta atau bukti yang konklusif perihal manfaat fitoestrogen terhadap gejala vasomotor, beberapa penelitian terkini melaporkan bahwa fitoestrogen (terutama ekstrak *soy isoflavones*) dapat mengurangi gejala gejalak panas (*hot flushes*) secara bermakna, memperbaiki profil lipid plasma, serta menghambat perkembangan aterosklerosis sehingga mengurangi risiko penyakit kardiovaskular (Nedrow, 2006). Selain itu fitoestrogen juga menghambat pertumbuhan sel-sel tumor/kanker payudara dan kanker endometrium (selaput lender rahim), suatu efek yang sangat menguntungkan bagi pengobatan menopause yang dapat dipastikan akan berjangka waktu lama. Akhir-akhir ini juga dilaporkan bahwa pemberian fitoestrogen dapat memulihkan ingatan atau memori, sekaligus mengurangi perasaan tertekan (depresi). Beberapa peneliti mengatakan, bahwa kelemahan fitoestrogen yang dianggap cukup berarti adalah bahwa fitoestrogen sedikit atau tidak berkhasiat dalam pencegahan osteoporosis dan tidak pula menunjukkan manfaat untuk mengatasi kekeringan atau atrofi vagina (*vaginal dryness*) (Nikander, 2003; Kreb, 2004).

Isoflavon merupakan salah satu jenis fitoestrogen, dan beberapa penelitian menunjukkan bahwa *isoflavon* merupakan jenis fitoestrogen yang terbaik, banyak ditemukan dalam kedelai (*soy*) yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dan penduduk Asia lainnya. Selain itu, *isoflavon* juga banyak dijumpai pada buah-buahan, teh hijau, kacang kedelai dan produk kedelai lainnya seperti: tempe, tahu dan tauco (*soy flavon*), yaitu makanan yang selama ini sudah cukup dikenal oleh sebagian besar masyarakat Indonesia dalam makanan sehari-hari mereka dan harganya relatif murah atau terjangkau. Daidzein merupakan

salah satu dari beberapa *isoflavon* yang dikenal cukup potensial dan glikosida daidzein merupakan *isoflavon* kedua terbanyak setelah genistein yang ditemukan pada kacang kedelai dan produk kedelai.

Sesuai dengan rekomendasi dari *First Concensus Meeting on Menopause in the East Asia Region* (1997), penelitian-penelitian menopause yang dilakukan hendaknya tidak saja melihat masalah menopause sebagai model biomedik, akan tetapi lebih sebagai model biopsikososiokultural untuk masing-masing negara. Saat ini masih terus dilakukan berbagai penelitian mengenai peran fitoestrogen untuk dapat menggantikan atau sebagai alternatif terapi sulih hormon untuk meningkatkan kualitas hidup (*quality of life*) dengan mengatasi simtom menopause dan mencegah atau mengurangi risiko osteoporosis, serta beberapa penyakit degeneratif dan keganasan yang terkait dengan menurunnya kadar estrogen dalam tubuh perempuan menopause. Banyak sekali penelitian di luar negeri yang telah mengkaji pengaruh atau manfaat fitoestrogen pada perempuan menopause, walaupun beberapa hasil penelitian masih banyak yang bersifat kontradiktif, sehingga beberapa studi metaanalisisnya bersifat inkonklusif. Beberapa penelitian juga pernah dilakukan untuk mengetahui pengaruh fitoestrogen *isoflavon* terhadap keluhan gejala panas (*hot flashes*), profil lipid dan kejadian osteopenia/osteoporosis pada perempuan menopause di Indonesia.

Data epidemiologik menunjukkan bahwa angka kejadian penyakit-penyakit kronik dan degeneratif lebih rendah secara bermakna pada penduduk Asia yang mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung kedelai, dibandingkan dengan penduduk Amerika atau Eropa. Beberapa hasil penelitian di luar negeri telah mengemukakan hubungan antara kadar hormon seks steroid dengan respons imun pada perempuan serta pengaruh pemberian terapi sulih hormon terhadap respons imun pada perempuan menopause, akan tetapi hingga kini masih sangat terbatas atau sulit didapatkan laporan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian fitoestrogen terhadap respons imun dan simtom menopause perempuan pascamenopause, baik di luar negeri maupun penelitiannya dalam konteks Indonesia.

Soy isoflavon dapat mempengaruhi respons imun karena sifat a- dan antagonis-nya terhadap estrogen. Genistein dan daidzein yang banyak terdapat

dalam *isoflavon* mempunyai aktivitas estrogenik yang lemah karena strukturnya yang mirip dengan 17β -estradiol. Karena sistem imun pada manusia sebagian dipengaruhi oleh hormon steroid, maka *soy isoflavon* dapat mempengaruhi sistem imun melalui mekanisme yang diperantarai oleh reseptor estrogen. *Isoflavon* dapat memberikan beberapa efek biologis yang menguntungkan terhadap sistem imun. Selain itu, *soy isoflavon* juga memiliki beberapa karakteristik imun lainnya, termasuk di antaranya sebagai antioksidan, antiproliferatif, antiinflamasi, kemampuan menginduksi diferensiasi sel, anti-karsinogenik, anti-aterogenik dan anti-osteoporotik (Andra, 2007). Baik data-data penelitian yang dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjang pada suatu kesimpulan bahwa mekanisme seluler *soy isoflavon* sangat peka terhadap kadar estrogen yang beredar dalam sirkulasi darah, jumlah diet isoflavon, dan mungkin yang terpenting adalah jenis jaringan target. Data-data dari studi terdahulu secara *in vitro* maupun percobaan binatang (*in vivo*) telah menunjukkan bahwa *soy isoflavon* dapat memperkuat tapi juga dapat menekan imunokompetensi, tergantung pada konsentrasi, jaringan target dan beberapa faktor lainnya pada binatang percobaan yang mengkonsumsi genistein (unsur yang terbanyak kandungannya dalam makanan kedelai). Pada manusia, konsumsi *isoflavon* dapat meningkatkan produksi sitokin, sedangkan daidzein dan genistein dapat memperkuat aktivitas sel *natural killer* secara *in vitro*.

Konsensus Penatalaksanaan Menopause yang dikeluarkan oleh Himpunan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Indonesia (HIFERI) Ikatan Dokter Indonesia (IDI) tahun 2010 menganjurkan fitoestrogen sebagai salah satu terapi alternatif apabila pada perempuan dengan gangguan menopause ditemukan adanya kontraindikasi absolut penggunaan terapi hormonal. Dalam penelitian ini selain akan diujicoba pengaruh pemberian suplementasi *soy isoflavon* terhadap respons imun spesifik (humoral dan seluler), serta juga pengaruhnya terhadap simptom menopause perempuan pascamenopause, meliputi 3 aspek yaitu : aspek psikologi, aspek vasomotor dan aspek urogenital yang belum pernah dilakukan dan dilaporkan hasil penelitiannya di Indonesia. Karakteristik intervensi ini adalah dilakukan pada masyarakat Indonesia yang dikenal banyak mengkonsumsi (*soy isoflavon*) dalam makanan hariannya seperti bangsa Asia lainnya, dengan lama

pemberian serta kadar kandungan *soy* isoflavon dalam suplementasi yang berbeda dengan penelitian-penelitian yang ada sebelumnya. Dosis isoflavon yang digunakan adalah 100 mg per tablet yang merupakan dosis optimal di antara penelitian-penelitian lain yang dilakukan di negara-negara lain yang berkisar antara 80 – 120 mg (Lethaby, 2007; Bolanos, 2010) mengingat bahwa isoflavon ini juga terdapat di dalam makanan harian masyarakat atau penduduk Indonesia. Dosis isoflavon 100 mg ini juga sesuai dengan dosis isoflavon yang terdapat dalam tablet suplemen fitoestrogen yang telah beredar dan dijual di pasaran obat di Indonesia. Lama suplementasi pada penelitian ini adalah 12 (duabelas) minggu, merupakan lama pemberian jangka menengah, yang mana penelitian-penelitian lainnya menggunakan jangka waktu pemberian suplemen bervariasi antara 8 – 16 minggu (Lethaby, 2007; Bolanos, 2010). Penelitian ini juga akan memperhatikan beberapa faktor psikososial, kebiasaan serta gaya hidup yang akan mempengaruhi kualitas hidup perempuan pascamenopause di Indonesia. Dengan demikian melalui penelitian ini diharapkan dapat diketahui sejauh mana suplementasi *soy isoflavon* dapat mempengaruhi respons imun spesifik (humoral dan seluler) serta simptom menopause, dalam kaitannya dengan kualitas hidup (*health-related quality of life*) perempuan pascamenopause di Indonesia.

1.2 Rumusan masalah

Apakah fitoestrogen *soy* isoflavon juga memiliki kemampuan sebagai imunomodulator seperti halnya estrogen, sehingga dapat mempengaruhi respons imun spesifik dan juga dapat menurunkan angka kejadian simptom menopause pada perempuan pascamenopause di Indonesia?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum :

Menilai pengaruh suplementasi *soy* isoflavon terhadap peningkatan kualitas hidup perempuan pascamenopause yang berkaitan dengan kesehatan (*health-related quality of life*).

1.3.2 Tujuan khusus :

Menilai pengaruh suplementasi *soy* isoflavon terhadap :

- a) Respons imun spesifik humoral perempuan pascamenopause
- b) Respons imun spesifik seluler perempuan pascamenopause
- c) Simtom menopause pada perempuan pascamenopause

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat akademik :

Dengan mengetahui pengaruh fitoestrogen *soy* isoflavon terhadap respons imun dan simtom menopause pada perempuan pascamenopause, maka akan dapat menambah pengetahuan besarnya peran fitoestrogen *soy* isoflavon untuk dapat digunakan sebagai pilihan terapi hormon guna mengatasi gangguan atau penyakit pada perempuan menopause akibat defisiensi estrogen.

1.4.2 Manfaat bagi pelayanan masyarakat :

Bila terbukti bahwa fitoestrogen *soy* isoflavon dapat meningkatkan respons imun perempuan pascamenopause yang menurun akibat proses penuaan (*ageing*) dan menurunnya kadar estrogen di dalam tubuh dan mengurangi simtom menopause, maka dapat disarankan kepada para perempuan sejak masa pramenopause dianjurkan untuk mengkonsumsi sediaan fitoestrogen *soy* isoflavon sebagai alternatif terapi hormon (TH) agar memiliki tubuh yang lebih sehat dan kualitas hidup (*health-related quality of life*) yang baik.

1.4.3 Manfaat bagi pengembangan penelitian :

Apabila terbukti bahwa pemberian fitoestrogen *soy* isoflavon dapat meningkatkan respons imun dan kualitas hidup perempuan pascamenopause, maka diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsumsi fitoestrogen *soy isoflavon* ini bagi para perempuan perimenopause (pra- dan pasca-menopause) di Indonesia, menyangkut: dosis fitoestrogen yang dibutuhkan dan aman, serta pola, jenis serta seberapa banyak makanan sehari-hari yang mengandung fitoestrogen *soy isoflavon* perlu dikonsumsi oleh perempuan Indonesia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Menopause

2.1.1 Batasan dan teori patofisiologi menopause

Menopause adalah suatu saat dalam masa kehidupan ketika siklus menstruasi berhenti, yang terjadi karena berkurangnya sekresi hormon estrogen dan progesteron di ovarium, bersamaan dengan habisnya persediaan folikel ovarium yang terbatas. Menopause alamiah didiagnosis secara retrospektif sesudah 12 bulan tidak terjadi menstruasi, yang tidak disebabkan oleh keadaan patologik, maupun tidak diinduksi oleh tindakan pembedahan, kemoterapi dan radiasi. Pada awalnya, siklus menstruasi menjadi tidak teratur, dan kadar *follicle-stimulating hormone* (FSH) meningkat sebagai akibat menurunnya kadar hormon-hormon ovarium. Pada saat proses transisi menopause berlangsung, siklus menstruasi kadang-kadang tidak beraturan dan tidak terjadi menstruasi, sampai akhirnya berhenti sama sekali. Pada beberapa perempuan, kejadian amenorrhoe 3 bulan berturut-turut, atau rata-rata lamanya siklus lebih dari 42 hari, merupakan prediktor ke arah terjadinya menopause (Nelson, 2008).

Oogenesis (proses pembentukan sel telur) akan berakhir pada usia fetus 20 minggu dan yang tinggal hanya 7 juta oosit. Mulai usia 20 minggu sampai dengan saat lahir terjadi pengurangan jumlah primordial folikel secara bermakna. Pada saat seorang anak perempuan lahir, primordial folikel tinggal 500 ribu – 1 juta lagi, dan dalam perjalanan waktu akan terus berkurang jumlahnya. Jumlah folikel yang masih tersedia sangat berbeda pada setiap perempuan. Sebagian perempuan pada usia 35 tahun masih memiliki sebanyak 100 ribu folikel, sedangkan wanita yang lain pada usia yang sama hanya memiliki 10.000 folikel. Penyebab berkurangnya jumlah folikel terletak pada folikel itu sendiri. Seperti sel-sel tubuh yang lain, oosit juga dipengaruhi oleh stres biologik seperti radikal bebas, kerusakan permanen dari DNA, dan bertumpuknya bahan kimia yang dihasilkan dari proses metabolisme tubuh. Karena oosit selalu mengalami kendali mutu yang ketat, oosit yang telah mengalami kelainan akan dikeluarkan melalui proses

apoptosis (kematian sel yang terprogram). Bila jumlah primordial mencapai jumlah yang kritis, akan terjadi gangguan sistem pengaturan hormon (estrogen dan progesteron), yang berakibat terjadinya insufisiensi korpus luteum, siklus haid anovulatorik, dan pada akhirnya terjadi oligomenorea. Bila sudah tidak tersedia lagi folikel, berarti perempuan tersebut telah memasuki usia pascamenopause (Baziad, 2003).

Etiopatogenesis menopause belum diketahui dengan pasti, akan tetapi umumnya para ilmuwan sependapat bahwa berhentinya haid atau mati haid diduga disebabkan terjadinya proses penuaan sel dan jaringan tubuh disertai dengan kematian sel yang terprogram (*apoptosis*), dan kematian bertahap dari folikel/oosit dari kedua ovarium khususnya, yang sebab utamanya adalah gangguan atau kemunduran sistem vaskularisasi terhadap kedua ovarium (Wu, Zelinski dan Ottinger, 2005).

Menurut Biben (2003), salah satu teori kematian sel ovarium adalah berkaitan dengan peran faktor endokrin, parakrin dan otokrin, seperti halnya dengan *proto-oncogenesis*, tumor *supressor gene*, *survival genes*, *death genes* yang semuanya berperan terhadap nasib dari sel ovarium. Faktor lain yang mengontrol proses apoptosis adalah unsur p53 dan komponen matriks ekstraseluler seperti *laminin*, *fibronectin*, dan *Bd-2*. Dikenal adanya gen kematian sel, yaitu *Bax* dan *Bd-2* merupakan gen kehidupan yang mencegah kematian sel indung telur. Ketiga proses utama ini menyebabkan menurunnya kadar hormon seks steroid terutama hormon estrogen dan progesteron dari kedua ovarium. Penurunan hormon seks steroid dengan melalui mekanisme kompleks, interaksi hormon di otak, kelenjar dan uterus mengakibatkan berhentinya haid atau menopause. Dengan demikian, menopause merupakan kejadian fisiologik yang normal dalam kehidupan setiap perempuan, dan bukan merupakan suatu penyakit.

Beberapa istilah selama ini digunakan untuk menjelaskan kejadian-kejadian yang terjadi pada masa transisi menopause. Sebuah model yang dikembangkan pada saat the *Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW)* menjelaskan adanya tujuh tahapan usia reproduksi (Gambar 2.1), yang dibagi menjadi tahap-tahap reproduktif, yang ditandai dengan siklus menstruasi yang teratur; tahap transisi menopause, yang ditandai dengan siklus menstruasi yang

bervariasi dan tingginya kadar FSH; dan tahap pascamenopause, yang dimulai dengan berakhirnya periode menstruasi dan berlangsung sampai akhir kehidupan. Batasan-batasan dan model-model menopause masih terus dikembangkan untuk aplikasi klinik dan penelitian. Meskipun banyak model sangat bermanfaat untuk menjelaskan proses perkembangan kejadian-kejadian yang berkaitan secara umum dengan menopause, hal-hal yang berkaitan dengan variasi individual tetap ada, termasuk lompatan tahap atau maju-mundur di antara tahapan-tahapan tersebut (Soules et al., 2001)

Final Menstrual Period (FMP)
▼

Stages	-5	-4	-3	-2	-1	+1	+2
Terminology	Reproductive			Menopausal transition		Postmenopause	
	Early	Peak	Late	Early	Late	Early	Late
Duration of stage	Variable			Variable		1 year	4 years
				Perimenopause		Until demise	
Menstrual cycle	Variable to regular	Regular		Variable cycle length (>7days different from normal)	≥2 skipped cycles and an interval of amenorrhoe (≥60 days)	Amenorrhoe for 12 months	None
Endocrine	Normal FSH		Increasing FSH	Increasing FSH		Increasing FSH	

Gambar 2.1 Tahapan-tahapan masa reproduksi normal pada perempuan (STRAWS)

Dikutip dari : Soules & colleagues (2001)

FSH = Follicle Stimulating Hormones

Saat masuknya seseorang dalam fase menopause sangat berbeda-beda. Transisi menopause biasanya dimulai pada saat perempuan berusia pertengahan sampai akhir usia 40 tahunan, dan dapat berlangsung selama beberapa tahun, biasanya sekitar 4-5 tahunan. Periode menstruasi biasanya berakhir pada usia antara 40 sampai 58 tahun, dan kalau periode menstruasi tersebut berakhir pada

usia sebelum 40 tahun disebut menopause prematur atau prekoks. Studi populasi menunjukkan bahwa kebiasaan merokok dan status ekonomi rendah berhubungan dengan kejadian menopause prematur. Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi usia pada saat perempuan mengalami menopause antara lain adalah usia menars (pertama kali mengalami menstruasi), paritas (jumlah anak yang dilahirkan), riwayat penggunaan kontrasepsi oral, indeks massa tubuh (*body-mass index/BMI*), asal suku bangsa dan riwayat keluarga (Melby, 2005). Faktor genetik kemungkinan berperan terhadap usia menopause. Wanita kembar dizigot atau perempuan dengan siklus haid memendek memasuki menopause lebih awal jika dibandingkan dengan perempuan yang mempunyai siklus haid normal. Gold, et al. (2001) mengatakan bahwa memasuki usia menopause lebih awal dijumpai juga pada perempuan nullipara, perempuan dengan diabetes mellitus, perokok berat, kurang gizi, perempuan vegetarian, sosioekonomi rendah, dan pada perempuan yang hidup pada ketinggian >4000 m di atas permukaan laut. Perempuan multipara dan perempuan yang banyak mengonsumsi daging, atau minum alkohol akan mengalami menopause lebih lambat (Baziad, 2003). Perempuan di Amerika atau Eropa tidak sama usia menopausenya dengan perempuan di Asia. Usia menopause perempuan di negara Barat seperti Amerika Serikat dan United Kingdom adalah 51,4 dan 50,9 tahun. Untuk negara Asia, ternyata didapatkan nilai usia yang tidak jauh berbeda. Sebuah studi yang dilakukan pada 7 negara Asia Tenggara memperlihatkan usia median terjadinya menopause yaitu 51,09 tahun. Studi yang diadakan di Malaysia terhadap 3 jenis etnik, yaitu Melayu, Cina dan India, menyebutkan bahwa menopause terjadi pada usia 50,7 tahun. Untuk Indonesia sendiri, laporan tahun 1990 menyebutkan usia menopause rata-rata perempuan Indonesia adalah 50 tahun (Melby, 2005). Dalam Konsensus Penatalaksanaan Menopause (HIFERI, 2010) disepakati beberapa istilah dan batasan, yaitu: 1) menopause alami : keadaan tidak haid selama 12 bulan berturut-turut pada usia 40-56 tahun dan atau kadar FSH > 40 mIU/ml dan E2 < 20pg/ml (2x pemeriksaan); 2) menopause prematur : tidak ada haid selama 12 bulan berturut-turut pada usia < 40 tahun dan kadar hormon sesuai dengan keadaan menopause.; 3) menopause terinduksi adalah suatu keadaan terhentinya haid yang disebabkan oleh pengangkatan kedua ovarium atau

kemoterapi/radioterapi; 4) Perimenopause adalah masa perubahan antara premenopause (mulai 40 tahun) dan menopause, ditandai dengan siklus haid yang tidak teratur dan disertai pula dengan perubahan-perubahan fisiologik, termasuk juga masa 12 bulan setelah menopause; sedangkan WHO menetapkan batasan perimenopause adalah : 2-8 tahun sebelum menopause dan 1 tahun setelah berakhirnya haid.

2.1.2 Gangguan akibat menopause

Menopause merupakan suatu kejadian dalam kehidupan perempuan pada saat mana tidak siklus haid tidak terjadi lagi dan ditandai dengan perubahan-perubahan fisiologik dan psikososial dalam kehidupan perempuan. Meskipun menopause merupakan kejadian normal dalam kehidupan, pengalaman individual bervariasi dan sebagian perempuan membutuhkan pertolongan medik untuk mengatasi gejala-gejala menopause. Peralihan atau transisi menuju menopause merupakan suatu proses fisiologik yang kompleks, dan seringkali disertai dengan efek tambahan dari proses penuaan dan penyesuaian atau adaptasi sosial (Nelson, 2008). Sebagian perempuan mengalami sindroma klimakterik, baik berupa keluhan vasomotor, keluhan somatik maupun psikis pada masa transisi menopause atau masa perimenopause. Gejala atau keluhan tersebut antara lain berupa: gejalak panas (*hot flushes* atau *hot flashes*), keringat malam, *bone loss*, atrofi urogenital, infeksi saluran kemih dan inkontinensia, disfungsi seksual, menurunnya libido dan hilangnya elastisitas jaringan kulit, serta meningkatnya risiko kelainan kronis seperti osteoporosis, penyakit kardiovaskuler, kanker kolorektal dan penurunan fungsi kognitif.

2.1.2.1 Simtom atau gejala-gejala menopause

Keluhan vasomotor, berupa gangguan tidur dan keringat malam merupakan keluhan yang terbanyak dilaporkan dan mempunyai dampak negatif yang bermakna terhadap kualitas hidup secara keseluruhan pada sebagian perempuan (Baziad, 2003). Dasar perubahan patofisiologi yang terjadi berkaitan dengan defisiensi estrogen yang mekanismenya telah banyak diketahui. Lebih kurang 50-70% perempuan peri- dan pascamenopause di negara-negara Barat

mengalami keluhan vasomotorik, depresif dan keluhan psikis serta somatik lainnya yang dikenal sebagai sindroma klimakterik atau simtom menopause. Berat atau ringannya keluhan berbeda-beda pada setiap perempuan. Keluhan-keluhan tersebut mencapai puncaknya sebelum dan sesudah menopause, dan dengan meningkatnya usia, keluhan-keluhan tersebut makin jarang ditemukan. Simtom menopause ini dapat mempengaruhi kondisi psikis, mental, prestasi dan kinerja perempuan, serta kehidupan sosialnya. Walaupun menopause biasa diasosiasikan dengan keluhan di atas, tanggapan perempuan dan masyarakat terhadap menopause berbeda di setiap komunitas. Wanita Barat (Eropa dan Amerika) yang mengeluhkan gejala menopause mencapai sekitar 50-75%, sedangkan di Asia hanya sekitar 10-20% (Baziad, 2003).

**Tabel 2.1 Keluhan Klimakterik pada Perempuan Usia Antara 45 – 54 tahun
(Baziad, 2003)**

Gejolak panas (<i>hot flashes</i>)	70%
Jantung berdebar-debar	40%
Gangguan tidur	50%
Depresi	70%
Mudah tersinggung, merasa takut, gelisah dan lekas marah	90%
Sakit kepala	70%
Cepat lelah, sulit berkonsentrasi, mudah lupa & kurang tenaga	65%
Berkunang-kunang	20%
Kesemutan	25%
Gangguan libido	30%
Obstipasi	40%
Berat badan bertambah	60%
Nyeri tulang dan otot	50%

Berdasarkan hasil suatu *systematic review* terhadap 66 laporan penelitian di seluruh dunia perihal sindroma klimakterik ini, terutama untuk keluhan gejolak panas dan keringat malam, Freeman (2007) mengemukakan bahwa gejala vasomotor mempunyai prevalensi yang cukup tinggi pada berbagai kalangan masyarakat di seluruh dunia, walau tentunya angka prevalensi tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain: cuaca, diet, gaya hidup, peranan perempuan dan sikapnya terhadap berakhirnya masa reproduksi dan proses penuaan.

Sejak dulu keluhan vasomotorik hanya dikaitkan dengan kadar estrogen yang rendah, akan tetapi kini pendapat tersebut tidak dapat dipertahankan lagi. Pada perempuan peri- dan pascamenopause sering dijumpai keluhan klimaterik, padahal pada fase ini kadar estrogen cukup tinggi. Keluhan yang muncul berupa perasaan panas yang muncul tiba-tiba disertai banyak keringat. Keluhan tersebut pertama kali muncul pada malam hari atau menjelang pagi, dan lambat laun juga akan dirasakan pada siang hari. Etiologi gejala panas masih belum diketahui dengan pasti, namun diduga disebabkan oleh labilnya pusat termoregulator tubuh di hipotalamus yang diinduksi oleh penurunan kadar estrogen dan progesteron (Fredman 1995). Penyebab terjadinya keluhan vasomotorik umumnya pada saat kadar estrogen mulai menurun, dan penurunan ini tidak sampai mencapai kadar yang rendah. Bahkan, keluhan vasomotorik dirasakan makin kuat dengan makin tingginya kadar estrogen darah. Instabilitas ini menimbulkan perubahan yang tiba-tiba berupa vasodilatasi perifer mendadak dan bersifat sementara yang dikeluarkan sebagai gejala panas dengan ditandai adanya peningkatan suhu tubuh pada saat itu. Bila terjadi pada malam hari, keadaan ini dilaporkan sebagai keringat malam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa keluhan vasomotorik dapat terjadi baik pada kadar estrogen yang rendah, normal maupun tinggi, sehingga pengukuran kadar estrogen darah untuk menentukan perlu atau tidaknya pengobatan menjadi tidak bermanfaat (Baziad 2003).

Semburan panas dirasakan mulai dari daerah dada dan menjalar ke leher dan kepala. Kulit di daerah tersebut terlihat kemerahan. Meskipun terasa panas, suhu badan tetap normal. Segera sesudah timbul semburan panas, daerah yang terkena semburan panas tersebut mengeluarkan keringat banyak. Semburan panas ini akan diikuti dengan sakit kepala, perasaan kurang nyaman, dan peningkatan frekuensi nadi. Hal ini disebabkan oleh peningkatan pengeluaran hormon adrenalin dan neurotensin oleh tubuh perempuan tersebut. Selain itu, terjadi pula penurunan sekresi hormon noradrenalin sehingga terjadi vasodilatasi pembuluh darah kulit, temperatur kulit sedikit meningkat dan timbul perasaan panas. Akibat vasodilatasi dan keluarnya keringat, terjadi pengeluaran panas tubuh sehingga kadang-kadang perempuan tersebut merasa kedinginan (Bachman 1999). Rata-rata lamanya semburan panas adalah 3 menit dan dapat berfluktuasi antara

beberapa detik sampai satu jam. Berapa kali semburan panas muncul dalam 1 hari berbeda-beda pada setiap individu. Pada keadaan berat, semburan panas tersebut dapat muncul sampai 20 kali per hari. Semburan panas dan berkeringat yang muncul pada malam hari dapat menyebabkan gangguan tidur, cepat lelah dan cepat tersinggung. Munculnya keluhan semburan panas akan diperberat dengan adanya stres, alkohol, kopi, dan makanan-minuman panas. Lingkungan sekitar yang panas dapat memperburuk perjalanan penyakit tersebut. Semburan panas dapat juga terjadi akibat reaksi alergi dan pada hipertiroid. Selain itu, juga dapat disebabkan oleh obat-obat tertentu seperti insulin, niacin, nifedipin, nitroglicerin, kalsitonin dan antiestrogen.

Hidayat (2005) mengatakan bahwa penelitian yang dilakukan di negara-negara Timur menunjukkan angka kejadian sindroma klimakterik yang lebih rendah. Hanya sekitar 20-25% perempuan Jepang yang mengeluhkan gejala vasomotor dan psikis. Gejala ini dapat menetap lebih dari 5 tahun pada 25% perempuan, bahkan pada sebagian kecil perempuan akan menetap seumur hidup. Angka kejadian yang rendah tersebut kemungkinan berhubungan dengan gaya hidup seperti pola makan, latihan fisik dan sosial-ekonomi. Adanya perbedaan dalam jumlah dan intensitas gejala pada perempuan yang mengalami sindroma klimakterik antara perempuan Timur dan Barat menunjukkan bahwa menopause bukan semata-mata masalah biomedik, melainkan merupakan masalah biopsikososial.

Nyeri tulang dan otot merupakan keluhan yang paling sering dikemukakan oleh perempuan peri- dan pascamenopause. Estrogen memicu pengeluaran β endorfin dari susunan saraf pusat. Kekurangan estrogen menyebabkan pengeluaran β endorfin berkurang, sehingga ambang sakit juga berkurang/menurun. Oleh karena itu, perempuan peri- dan pascamenopause sering mengeluh sakit pinggang atau mengeluh nyeri daerah kemaluan, tulang dan otot. Pemberian estrogen dan progesterone dapat memicu pengeluaran β -endorfin, dan β -endorfin ini dapat mengurangi aktivitas usus halus sehingga mudah terjadi obstipasi. Pada fase luteal siklus menstruasi, di mana kadar estrogen rendah, perempuan mudah terkena diare. Selain itu, stress juga dapat menimbulkan berbagai jenis keluhan.

Stres meningkatkan pengeluaran β -endorfin, dan zat ini memicu pengeluaran Adreno Cortico Tropic Hormone (ACTH). β -endorfin dan ACTH berasal dari precursor yang sama, yaitu Proopiomelanocortin (POMC), yang banyak ditemukan di dalam nukleus arkuatus. POMC ini merupakan suatu peptida yang dapat membentuk β -endorfin di hipotalamus dan ACTH serta β lipotropin di hipofisis bagian depan. β -endorfin dapat meningkatkan nafsu makan yang selanjutnya mengakibatkan kenaikan berat badan (Baziad 2003).

Sudah diketahui bahwa steroid seks sangat berperan terhadap fungsi susunan saraf pusat, terutama terhadap perilaku, suasana hati, serta fungsi kognitif dan sensorik seseorang. Dengan demikian, bila terjadi penurunan steroid seks akan timbul perubahan psikis yang berat dan perubahan fungsi kognitif. Kurangnya aliran darah ke otak menyebabkan sulit berkonsentrasi dan mudah lupa. Akibat kekurangan hormon estrogen pada perempuan pascamenopause, timbullah keluhan seperti mudah tersinggung, cepat marah dan perasaan tertekan (Baziad 2003; Deeks 2003). Kejadian depresi dijumpai sama pada laki-laki dan perempuan. Karena kejadiannya meningkat pada usia klimakterik dan postpartum, serta pemberian estrogen dan progesterone dapat menghilangkan atau mengurangi keluhan tersebut, maka kekurangan steroid seks dapat dianggap sebagai faktor predisposisi terjadinya depresi. Depresi sering juga ditemukan beberapa hari menjelang haid pada perempuan usia reproduksi. Perasaan tertekan, nyeri betis, mudah marah, mudah tersinggung, stres dan cepat lelah merupakan keluhan yang sering dijumpai pada perempuan usia klimakterium dan pada perempuan usia reproduksi dengan keluhan sindrom prahaid (Deeks 2003).

Baziad (2003) mengatakan bahwa gangguan tidur merupakan gejala yang paling banyak dikeluhkan perempuan pascamenopause. Kurang nyenyak tidur pada malam hari akan menurunkan kualitas hidup perempuan tersebut. Estrogen memiliki efek terhadap kualitas tidur. Reseptor estrogen telah ditemukan di otak yang mengatur tidur. Penelitian buta-ganda (*double-blind*) menunjukkan, bahwa perempuan yang diberi estrogen ekuin konjugasi memiliki periode '*rapid eye movement*' yang lebih panjang dan tidak memerlukan waktu lama untuk tidur.

2.1.2.2 Menopause dan osteoporosis

Perempuan mempunyai risiko 2-3 kali lebih besar untuk menderita osteoporosis jika dibandingkan dengan laki-laki. Lebih-kurang 35% perempuan pascamenopause menderita osteoporosis (keropos tulang) dan 50% osteopenia (penipisan massa tulang). Menurut Baziad (2003), di Asia dan negara-negara maju, patah tulang femur merupakan patah-tulang yang paling banyak ditemukan. Jumlah kejadian patah tulang femur di dunia pada tahun 1990 adalah 1,7 juta orang dan di Asia sebanyak 0,57 juta orang (36%). Pada tahun 2050 diperkirakan kejadian patah tulang femur di dunia mencapai 6,26 juta orang per tahun, sedangkan di Asia sebanyak 3,25 juta (52%). Tingginya angka kejadian patah tulang femur di Asia erat kaitannya dengan rendahnya konsumsi kalsium dan kekurangan vitamin D. Di beberapa negara Asia, konsumsi rata-rata kalsium adalah 800-1000 mg/hari, sedangkan dosis kalsium yang dianjurkan adalah 1000-1500 mg/hari.

Risiko patah tulang makin tinggi bila seseorang memiliki banyak faktor risiko, termasuk di antaranya adalah kekurangan estrogen, penyakit diabetes mellitus tipe I dan faktor keturunan. Kekurangan estrogen sangat berperan terhadap patogenesis hilangnya massa tulang. Lebih kurang 20% hilangnya massa tulang terjadi 5-7 tahun setelah menopause. Secara epidemiologik, faktor gaya hidup seperti kebiasaan merokok dan minum alkohol mempunyai hubungan dengan kejadian osteoporosis (Rosen, 2005).

Biaya yang dikeluarkan untuk pasien-pasien patah tulang cukup besar, karena semua pasien memerlukan perawatan, dan sebanyak 20% memerlukan rehabilitasi dan perawatan jangka panjang. Sekitar 50% di antara mereka yang mengalami osteoporosis dan patah tulang tidak dapat melakukan kegiatan fisik maupun sosial.

2.1.2.3 Menopause dan Penyakit Jantung Koroner

Pada perempuan menopause terjadi gangguan metabolisme berupa meningkatnya kadar kolesterol, peningkatan kadar *low density lipoprotein* (LDL) dan penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL) serum yang mempunyai peran pada risiko kelainan kardiovaskuler (Baziad, 2003). Di kebanyakan negara

berkembang, penyakit kardiovaskuler adalah penyebab utama kesakitan dan kematian pada perempuan di atas usia 50 tahun. Penyakit kardiovaskular dan serebrovaskular merupakan penyebab kematian utama pada perempuan pascamenopause (75-76%), lebih tinggi daripada kematian karena kanker payudara (Rosano, Vitale, Marazi, 2007). Kematian akibat infark miokard pada perempuan lebih sering menyebabkan kematian dibandingkan pada laki-laki. Menurut Baziad (2003), kemungkinan seorang perempuan usia 50 tahun mendapat infark pada sisa hidupnya adalah 46%, dan risiko kematiannya sebanyak 34%. Pada perempuan usia antara 45-64 tahun, prevalensi penyakit kardiovaskuler adalah 14% dan pada usia 65 tahun sebanyak 33%. Dalam Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) Departemen Kesehatan RI tahun 1972, penyakit jantung koroner (PJK) merupakan penyebab kematian urutan nomor 11, tapi hasil SKRT tahun 1992, 1995 dan 2001, PJK telah menempati urutan pertama dalam deretan penyebab kematian di Indonesia.

Infark miokard jarang ditemukan pada perempuan muda, tapi kejadiannya meningkat tajam sesudah menopause. Berdasarkan penelitian epidemiologik terbukti bahwa kekurangan estrogen sangat berperan pada terjadinya iskemik (Rosano 2007). Kekurangan estrogen, perubahan pola hidup, serta faktor risiko ikut berperan atas terjadinya aterosklerosis. Penelitian Framingham jelas sekali menunjukkan hubungan antara kekurangan estrogen dengan kejadian penyakit kardiovaskuler (Baziad, 2003).

2.1.2.4 Demensia tipe Alzheimer

Gejala klinis pertama dari Demensia tipe Alzheimer ini adalah gangguan memori yang kemudian diikuti dengan gangguan intelektual sehingga tidak dapat melakukan kegiatan sehari-hari lagi. Kemudian penderita mulai sering lupa, timbul gangguan orientasi, serta sulit dapat mengenali keluarganya sendiri. Gejalanya biasanya baru muncul sesudah usia 65 tahun. Di negara-negara maju, demensia dijumpai cukup tinggi dan yang paling banyak (72%) adalah demensia tipe Alzheimer (DTA), yang lebih banyak diderita oleh perempuan dibandingkan laki-laki. Dengan meningkatnya usia harapan hidup, kejadian DTA juga akan meningkat (Baziad, 2003).

Gangguan sistem neurotransmitter kolinergik dan serotonergik merupakan penyebab dari DTA. Seperti diketahui bahwa *asetilkolin* dan *serotonin* merupakan neurotransmitter yang paling berperan untuk fungsi memori dan kognitif. Pada penderita DTA terjadi penurunan fungsi enzim *asetilkolin transferase (ASAT)*, yaitu enzim yang berperan pada sintesis asetilkolin di korteks serebri, stratum basale, dan hipokampus. Pemberian estrogen menyebabkan terjadinya peningkatan sintesis, peningkatan aktivitas ASAT, serta peningkatan *reseptor nikotin asetilkolin (n-AsK-R)* di hipotalamus (Geerlings, et al., 2001).

Faktor imunologik dan infeksi kronik juga berperan terhadap pathogenesis penyakit Alzheimer. Pada korteks perempuan dengan Alzheimer ditemukan *interleukin-6 (IL-6)* dan faktor komplemen, sedangkan pada perempuan normal tidak ditemukan. IL-6 merupakan penyebab terjadinya perubahan neurodegeneratif dan produksinya dapat ditekan oleh 17- β -estradiol (Baziad, 2003).

2.2 Sistem imunitas tubuh

Menurut Abbas (2008), imunitas didefinisikan sebagai perlawanan terhadap penyakit, khususnya penyakit infeksi. Sekumpulan sel, jaringan dan molekul yang menjadi mediasi perlawanan terhadap infeksi disebut sebagai sistem imun, dan koordinasi reaksi sel-sel dan molekul terhadap mikroba yang menginfeksi disebut sebagai respons imun. Fungsi fisiologik sistem imun adalah mencegah infeksi dan membasmi infeksi yang sudah ada. Seseorang yang mengalami gangguan respons imun dapat berada pada kondisi yang serius dan terancam keselamatannya. Kini telah dikenali pula peran imunologi dan respons imun tidak sebatas masalah infeksi, tapi juga peranannya dalam hal transplantasi organ yang makin sering dilakukan untuk mengatasi masalah kegagalan organ, dan juga perannya dalam penyakit degeneratif. Pengobatan atau perlawanan terhadap kanker juga terus berkembang dengan upaya-upaya meningkatkan respons imun (imunoterapi).

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur patogen, misalnya bakteri, virus, fungus, protozoa dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi pada orang normal umumnya singkat

dan jarang meninggalkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan tubuh manusia memberikan respons imun yang melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen tersebut. Respons imun sangat bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenali molekul asing (antigen) yang terdapat pada patogen potensial dan kemudian membangkitkan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen yang bersangkutan. Proses pengenalan antigen dilakukan oleh unsur utama sistem imun – yaitu limfosit – yang kemudian diikuti oleh fase efektor yang melibatkan beberapa jenis sel. Pengenalan antigen sangat penting dalam fungsi sistem imun normal, karena limfosit harus mengenal semua antigen pada patogen potensial dan pada saat yang sama ia harus mengabaikan molekul-molekul jaringan tubuh sendiri. Untuk mengatasi hal itu, limfosit pada seorang individu melakukan diversifikasi selama perkembangannya demikian rupa sehingga populasi limfosit secara keseluruhan mampu mengenali molekul asing dan membedakannya dari molekul jaringan atau sel tubuh sendiri (Kresno, 2001).

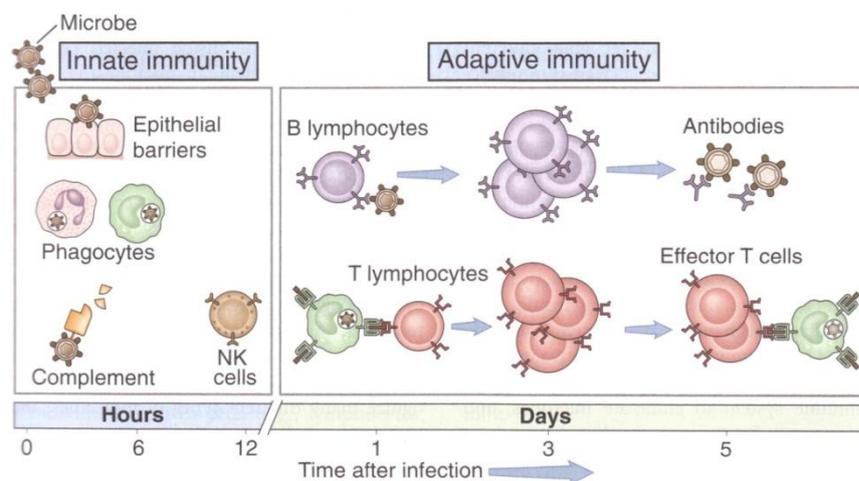
Kemampuan diversifikasi dimiliki oleh komponen-komponen sistem imun yang terdapat dalam jaringan limforetikuler yang letaknya tersebar di seluruh tubuh, misalnya di dalam sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, thymus, sistem saluran nafas, saluran cerna dan organ-organ lain. Sel-sel yang terdapat dalam jaringan ini berasal dari sel induk (*stem cell*) dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, kemudian beredar dalam tubuh melalui darah, getah bening serta jaringan limfoid, dan dapat menunjukkan respon terhadap suatu rangsangan sesuai dengan sifat dan fungsinya masing-masing. Rangsangan terhadap sel-sel tersebut terjadi apabila ke dalam tubuh masuk suatu zat yang oleh sel atau jaringan tadi dianggap asing. Sistem imun dapat membedakan zat asing (*non-self*) dari zat yang berasal dari tubuh sendiri (*self*). Pada beberapa keadaan patologik, sistem imun tidak dapat membedakan sel dari *non-self*, sehingga sel-sel dalam sistem imun membentuk zat anti terhadap jaringan tubuhnya sendiri, yang disebut sebagai “autoantibodi” (Kresno, 2001; Abbas, 2008).

2.2.1 Jenis-jenis respons imun

Secara garis besar terdapat 2 macam sistem imun pada manusia (Gambar 2.2), yaitu: sistem imun nonspesifik (*innate* atau *natural*) dan sistem imun spesifik (*acquired* atau *adaptive*). Perbedaan utama antara kedua jenis respons imun tersebut adalah: 1) respons imun spesifik menunjukkan diversitas yang sangat besar; 2) respons imun spesifik menunjukkan tingkat spesialisasi yang cukup tinggi, ini berarti bahwa mekanisme respons imun terhadap berbagai jenis antigen tidak sama; 3) sistem imun spesifik mampu mengenali kembali antigen yang pernah dijumpainya (memiliki *memory*), sehingga paparan berikutnya akan meningkatkan efektivitas mekanisme pertahanan tubuh (Abbas, Lichtman, Pober, 2000). Ketiga sifat tersebut memang tidak dimiliki oleh sistem imun bawaan, akan tetapi sudah cukup bukti bahwa kedua jenis respons imun yang terjadi tersebut saling meningkatkan efektivitas dan bahwa respons imun yang terjadi sebenarnya merupakan suatu interaksi antara komponen yang satu dengan komponen lainnya yang terdapat di dalam sistem imun. Di antara aktivitas terpadu antara kedua sistem yang paling penting adalah: 1) respons imun bawaan terhadap mikroba merangsang dan mempengaruhi sifat respon imun didapat; 2) sistem imun didapat menggunakan berbagai mekanisme efektor sistem imun bawaan untuk menyingkirkan mikroba dan seringkali ia meningkatkan fungsi sistem imun bawaan. Interaksi tersebut berlangsung bersama-sama secara terpadu demikian rupa sehingga menghasilkan suatu aktivitas biologik yang seirama dan serasi seperti sebuah konser (Kresno 2001). Pada stadium awal (inisiasi) respons imun, sekelompok sel fungsional yang disebut sebagai *antigen presenting cells* (APC) menangkap antigen kemudian menyajikannya kepada limfosit dalam bentuk yang dapat dikenal oleh limfosit. Cara penyajian antigen yang berbeda-beda menentukan apakah akan terjadi respons imun dan jenis respons imun yang mana yang akan terjadi. Imunitas non-spesifik tidak hanya berfungsi memberikan respons dini terhadap mikroba, tetapi juga memegang peran penting dalam menginduksi respons imun spesifik (Abbas, Lichtman, Pober, 2000).

Sistem imun non spesifik adalah lini terdepan pertahanan tubuh melawan infeksi, yang dapat mengenali struktur mikroba yang spesifik. Sel efektor dari respons imun non spesifik ini adalah monosit, makrofag, granulosit (netrofil,

eosinofil dan basofil), sel dendrit dan *natural killer (NK) cells*. Sel-sel ini melawan mikroba yang masuk ke dalam sirkulasi darah dengan cara memfagosit mikroba (netrofil, monosit dan makrofag), melisiskan sel terinfeksi (*NK cells*) atau dengan memproduksi sitokin (*cytokines*) untuk memperkuat respons imun non-spesifik maupun spesifik.

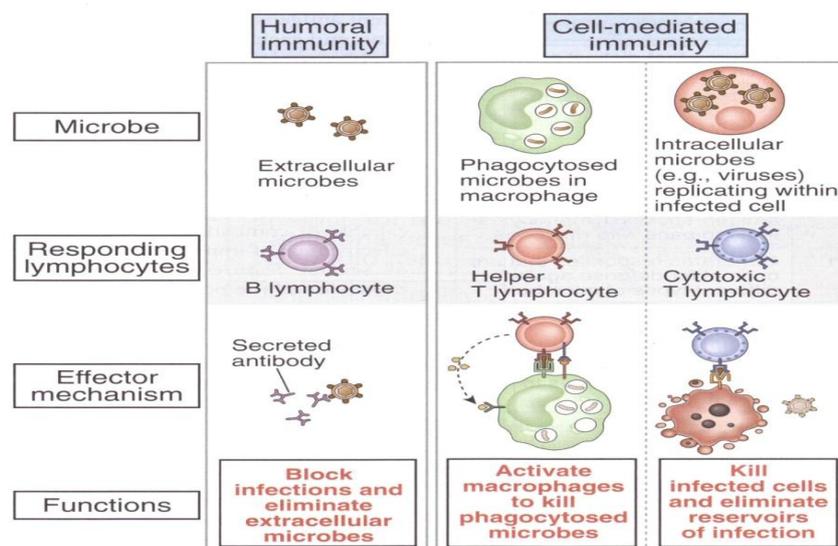


Gambar 2.2 Mekanisme utama imunitas bawaan dan didapat. Mekanisme imunitas bawaan merupakan pertahanan awal terhadap infeksi. Respon imun didapat muncul dan berkembang lebih lambat dan dimediasi oleh limfosit dan produk-produknya. Antibodi melakukan blokade infeksi dan mengeliminasi mikroba, dan limfosit T membasmi makroba intraseluler. [Dikutip dari Abbas (2008)]

Pada sistem imun spesifik (Gambar 2.3), limfosit T merupakan komponen seluler dan limfosit B yang menghasilkan imunoglobulin sebagai komponen humoral. Banyak mikro-organisme yang hidup dan berkembang biak intraseluler, antara lain virus dan mikroba intraseluler yang hidup dalam makrofag sehingga sulit dijangkau oleh antibodi. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler tersebut diperlukan respon imun seluler yang merupakan fungsi limfosit T. Ada dua cara untuk menyingkirkan mikroorganisme intraseluler ini. Sel terinfeksi dapat dibunuh melalui sistem efektor ekstraseluler, misalnya oleh sel T sitotoksik (T_c), atau sel terinfeksi diaktivasi agar mampu membunuh mikroorganisme yang menginfeksi. Subpopulasi sel T yang disebut *T-helper* (T_h) atau sel $CD4^+$ akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan yang terdapat pada sel makrofag atau sel yang terinfeksi melalui *T cell receptor* (TCR) -yang terdiri dari: $\alpha\beta$ -TCR dan $\gamma\delta$ -TCR-, dan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC)

kelas-II. Sinyal yang diterima dari sel terinfeksi ini menginduksi limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk di antaranya interferon, yang dapat membantu makrofag menghancurkan mikro-organisme tersebut. Subpopulasi limfosit T lain yang disebut sel *T-cytotoxic* atau *T-suppressor* (Tc/Ts) atau sel CD8⁺ juga berfungsi menghancurkan mikroorganisme intraseluler yang disajikan melalui atau bersama-sama dengan MHC kelas I dengan cara kontak langsung antar-sel (*cell-to-cell contact*). Selain menghancurkan mikroorganisme secara langsung, sel T sitotoksik juga menghasilkan γ -interferon yang mencegah penyebaran mikroorganisme ke sel-sel lain. Respons imun seluler juga merupakan mekanisme utama dalam pertahanan tubuh terhadap tumor (Bouman, Heineman dan Faas, 2005).

Respons imun humoral dilaksanakan oleh sel B dan produknya, yaitu antibodi, dan berfungsi dalam pertahanan terhadap mikroba ekstraseluler. Respons ini diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah. Pada respons humoral juga berlaku respons primer yang membentuk klon sel B *memory*. Setiap klon limfosit diprogramkan untuk memproduksi satu jenis antibodi spesifik terhadap antigen tertentu (*clonal selection*). Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen-antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut. Agar sel B dapat berdiferensiasi dan membentuk antibodi diperlukan bantuan limfosit Th yang atas sinyal yang diberikan oleh makrofag, merangsang sel B untuk memproduksi antibodi. Selain oleh sel Th, produksi antibodi juga diatur oleh sel T-supresor, demikian rupa sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan (Abbas, 2008).



Gambar 2.3 Jenis-jenis imunitas didapat. Pada imunitas humoral, limfosit B menghasilkan antibodi yang melawan mikroba ekstraseluler. Sedangkan pada imunitas seluler, limfosit T mengaktifkan makrofag yang akan melakukan fagositosis dan menghancurkan mikroba, atau membunuh sel yang terinfeksi. [Dikutip dari Abbas (2008)]

2.2.2 Hubungan antara estrogen dengan respons imun spesifik

Berbagai proses reproduksi yang berbeda, termasuk ovulasi, menstruasi dan kehamilan dipengaruhi oleh sistem imun. Kehamilan merupakan keadaan di mana imunologi mempunyai peranan yang sangat penting, yaitu bahwa sitokin berperan menciptakan lingkungan yang optimal untuk keberhasilan proses implantasi (Laird et al., 2003; Chaouat et al., 2004). Sebaliknya kini telah diketahui pula pengaruh kehamilan terhadap respons imun, yaitu bahwa rasio antara limfosit tipe 1 dan tipe 2 yang diproduksi oleh sitokin menurun selama kehamilan, sementara monosit dan granulosit teraktivasi (van Nieuwenhoven et al., 2003).

Dalam respons imun juga dikenal ada dimorfisme seksual, yaitu bahwa perempuan menghasilkan reaksi imun seluler dan humoral yang lebih kuat, sehingga mereka mempunyai daya tahan yang lebih baik terhadap beberapa penyakit infeksi tertentu (bakterial) dan sebaliknya didapatkannya angka kejadian penyakit autoimun yang lebih tinggi pada perempuan dibandingkan dengan laki-laki (Ansar et al., 1985).

Beberapa penyakit yang berbasis imunitas juga dipengaruhi oleh status reproduksi, yaitu *multiple sclerosis*, asma atau *systemic lupus erythematosus* (SLE), mengalami eksaserbasi selama periode tertentu dalam siklus menstruasi atau kehamilan (Skobeloff et al., 1996; Case dan Reid, 1998; Whitacre, 2001). Perubahan ekspresi penyakit selama kehamilan kemungkinan disebabkan karena adanya penurunan rasio Th1/Th2 sitokin selama kehamilan (Ostensen, 1999).

Perbedaan respons imun tidak saja didapatkan karena perbedaan gender, tetapi juga didapatkan pada perbedaan fase reproduksi perempuan, sehingga diduga bahwa perbedaan respons imun tersebut disebabkan tidak saja karena perbedaan jenis hormon, tapi juga karena adanya variasi (kadar) hormonal. Menurut Biben (2003), pada perempuan menopause, penurunan kadar estrogen yang terjadi berkaitan dengan menurunnya imunitas tubuh. Proses utama penurunan imunitas adalah berkurangnya proliferasi sel T (kelenjar Thymus), atau dikenal dengan istilah *Thymic menopause* karena proses menua. Penurunan sel T dan perubahan *cytokine*, akan menurunkan *Interleukin-2* (IL-2) yang menghasilkan *cytokines proinflammatory* seperti IL-1b, IL-6, *Tumor Necrosing Factors* (TNF)- α , serta gangguan imunitas humoral (IL-4, IL-5).

2.2.2.1 Pengaruh estrogen terhadap jumlah dan fungsi limfosit T

Dalam darah tepi sekitar 30% dari sel darah putih adalah limfosit, sekitar 85-90% di antaranya adalah limfosit T. Di antara limfosit T tersebut, sekitar 95% mengekspresikan $\alpha\beta$ -TCR, dan 5% sisanya mengekspresikan $\gamma\delta$ -TCR. Di antara populasi limfosit yang mengekspresikan $\alpha\beta$ -TCR sekitar 60% adalah sel Th, dan sekitar 30% merupakan sel Tc dan Ts (Polgar et al., 1999). Beberapa penelitian menunjukkan tidak adanya perubahan dalam jumlah limfosit total dan persentase sub tipe limfosit yang beredar dalam sirkulasi selama siklus menstruasi (Faas et al, 2000; Bouman et al., 2001). Ini menunjukkan bahwa estrogen tidak mempengaruhi jumlah limfosit dalam jangka pendek. Walau begitu, ternyata perempuan pasca-menopause menunjukkan adanya pengurangan jumlah limfosit total dibandingkan dengan perempuan reproduktif, sebagai akibat penurunan limfosit B dan Th (Yang et al., 2000). Hal ini

mungkin disebabkan mekanisme lucut (*withdrawal*) jangka panjang estrogen, meskipun adanya mekanisme-mekanisme lain yang terlibat dalam pengendalian jumlah limfosit pada perempuan tidak dapat disingkirkan. Salah satu faktor di antaranya adalah karena proses penuaan atau *aging process* (Miller, 1996; Chakravarti dan Abraham, 1999). Pemberian TSH pada perempuan pascamenopause mempengaruhi limfosit dan subtipe-nya, yaitu terjadinya penurunan pada : total limfosit (Burleson et al., 1998), persentase sel T (Burleson et al., 1998; Yang et al., 2000) dan persentase limfosit Th (Burleson et al., 1998).

Salah satu fungsi utama limfosit Th adalah memproduksi sitokin. Meskipun limfosit Tc juga memproduksi sitokin, akan tetapi fungsi utamanya adalah dalam hal sitotoksitas sel. Perkembangan terakhir mengenai pengaturan respons imun menunjukkan bahwa terdapat deskripsi paradigma Th1/Th2 (Mosmann et al., 1986). Sitokin Th1 seperti interferon- γ (IFN- γ), interleukin (IL)-2 bekerja meningkatkan respons imun seluler, sedangkan sitokin Th2 seperti IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 dan IL-13 memberikan bantuan pada respons imun humoral. Sitokin Th1 dan Th2 melakukan regulasi timbal-balik, yaitu: IFN- γ menghambat proliferasi sel-sel Th2, sementara IL-10 menghambat sel-sel Th1. Giron-Gonzalez et al. (2000) dan Poma et al. (2004) tidak mendapatkan adanya pengaruh kadar estrogen terhadap produksi IFN- γ . Produksi IL-2 oleh limfosit terbukti meningkat pada perempuan pasca-menopause dibandingkan dengan perempuan reproduktif (Kamada et al., 2001), sementara pemberian TH akan menurunkan produksi IL-2 oleh limfosit (Jenkins et al., 1994). Sampai saat ini masih belum dapat dipastikan apakah perbedaan dalam respons imun antar jenis kelamin dan di antara tahapan reproduksi secara langsung disebabkan karena efek steroid seks terhadap produksi sitokin oleh limfosit (Bouman, Heineman and Faas, 2005).

2.2.2.2 Pengaruh estrogen terhadap jumlah dan fungsi limfosit B

Limfosit B adalah sel yang menghasilkan antibodi dan jumlahnya berkisar 5-15% di antara limfosit yang beredar dalam sirkulasi. Tidak ada perbedaan dalam hal jumlah limfosit B sepanjang siklus menstruasi (Lopez-Karpovitchs et al., 1993 dan Auerbach et al., 2002). Secara *in vitro* dapat dibuktikan bahwa estrogen menginduksi aktivasi poliklonal limfosit B pada manusia; dan meningkatkan produksi IgG dan IgM oleh peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) pada laki-laki maupun perempuan. Sesudah menopause, jumlah sel limfosit B ternyata sama (Yang et al., 2000) atau menurun dibandingkan dengan perempuan reproduktif (Giglio et al., 1994). Pada perempuan pascamenopause yang diberikan TH selama lebih dari 12 bulan, ternyata dapat dilihat adanya peningkatan jumlah limfosit B secara bermakna.

2.2.3 Mekanisme kerja estrogen pada sel-sel imun

Reaksi sel/jaringan terhadap estrogen -suatu hormon seks steroid- merupakan hasil pengikatan hormon tersebut pada reseptornya. Karena sifat lipofilik alamiah, hormon steroid dapat menyebar pada permukaan membran sel; walaupun reseptor hormon steroid lebih banyak dijumpai intraseluler dibandingkan pada membran sel. (Beato dan Sanchez-Pacheco, 1996). Hormon steroid yang berikatan dengan reseptor steroid intraseluler mengakibatkan translokasi kompleks ini ke dalam nukleus. Kompleks steroid/reseptor steroid dalam nukleus berfungsi sebagai faktor transkripsi, secara langsung melakukan regulasi ekspresi gen yang berisi *binding site* untuk kompleks tersebut pada *promoter region* (Beato dan Klung, 2000). Efek hormon steroid terhadap produksi sitokin diperantarai oleh *nuclear factor-kB* (NF-kB). Ini adalah faktor transkripsi yang dapat diinduksi yang melakukan regulasi positif ekspresi gen proimun dan pro-inflamasi (McKay dan Cidlowski, 1999). Telah dapat dibuktikan bahwa kompleks steroid/reseptor dapat berinteraksi secara fisik dengan NF-kB dan menghambat aktivitas transaktivasi (McKay dan Cidlowski, 1999). Melalui mekanisme inilah estrogen (juga progesteron dan testosteron) dapat menghambat ekspresi pro-inflamasi sitokin dalam sel-sel imun yang mengekspresikan reseptor

yang respektif. Mekanisme bagaimana steroid -yang berikatan dengan reseptor membran, sebagaimana ikatannya dengan estrogen dan testosteron- dapat mempengaruhi fungsi sel imun hingga kini masih belum jelas.

2.2.4 Reseptor estrogen

Terdapat dua reseptor estrogen (ER), yaitu ER- α dan ER- β (Kuiper et al., 1996; Mosselman et al., 1996). Bila berikatan dengan kedua reseptor tersebut, estrogen yang sama dapat menghasilkan efek yang berlawanan terhadap sistem yang sama (Paech et al., 1997). Dalam populasi limfosit, ER hanya dijumpai pada sel Tc atau Ts (*cytotoxic dan suppressor*), sementara Th yang tidak menunjukkan ikatan steroid yang bermakna, mendukung dugaan tidak adanya reseptor untuk hormon steroid (Cohen, 1983; Stimson, 1988). Limfosit B juga memiliki reseptor estrogen (Suenaga et al., 1998; Benten et al., 2002).

Sudah cukup lama diketahui bahwa ER intraseluler klasik terdapat dalam monosit (Weusten et al., 1986; Wada et al., 1992; Ben Hur et al., 1995; White et al., 1995; Suenaga et al., 1996, 1998). Kini bahkan telah diketahui, bahwa ER- α maupun ER- β dan respon keduanya terhadap estrogen dalam monosit bersifat *dependent* pada tingkat diferensiasi sel, yaitu monosit mengekspresikan ER- β dan makrofag mengekspresikan ER- α . Meskipun demikian, masih sangat sedikit diketahui apakah terdapat variasi ekspresi ER di antara jenis kelamin dan tahap reproduksi, tapi sudah dapat dibuktikan bahwa pada perempuan menopause terdapat penurunan yang bermakna dalam hal persentase monosit yang mengekspresikan ER (Ben Hur et al., 1995). Terdapat pula data yang menunjukkan adanya reseptor estrogen permukaan pada monosit. (Stefano dan Peter, 2001). Terdapat bukti-bukti bahwa netrofil memiliki kedua jenis reseptor ER- α dan ER- β (Molero et al., 2002). Meskipun tidak tersedia data keberadaan ER pada sel NK manusia, akan tetapi sel NK pada darah tepi murine mengekspresikan kedua reseptor ER- α dan ER- β (Curran et al., 2001).

2.2.5 Mekanisme kerja estrogen lainnya pada sistem imun

Meskipun adanya efek estrogen pada sel imun telah dapat dibuktikan, tapi fakta menunjukkan pula bahwa tidak semua sel imun mempunyai reseptor

estrogen. Dengan demikian terdapat kemungkinan adanya mekanisme kerja lain bagaimana hormon steroid dapat mempengaruhi sel-sel imun. Alternatif penjelasan mekanisme tersebut adalah karena sifat lipofiliknya membuat steroid seks berintegrasi ke dalam membran dan merubah struktur membran, misalnya fluiditas, sehingga kemudian dapat merubah fungsi sel-sel imun (Lamche et al., 1990). Masih diperlukan studi lebih lanjut mengenai mekanisme hormon seks steroid pada sel-sel imun.

2.3. Hubungan antara proses penuaan (*ageing process*) dengan imunitas tubuh

Selain terjadi banyak perubahan fungsional, organik, endokrin dan biokimiawi, juga terjadi penurunan imunitas seluler dan humoral yang berhubungan dengan proses penuaan, yang dapat bersifat primer atau sekunder. Penurunan imunitas yang sekunder dapat terjadi karena gizi atau nutrisi yang tidak adekuat, perubahan-perubahan metabolik, obat-obatan dan kurangnya perfusi jaringan, sedangkan penurunan imunitas primer terjadi karena faktor intrinsik di dalam sistem imun sendiri (Chandra, 2002).

Imunosenesensi merupakan suatu proses kompleks yang melibatkan banyak perubahan, dan juga berinteraksi dengan sistem yang lain dalam tubuh, sehingga bukan sekedar penurunan fungsi searah secara sederhana dan lebih tepat bila digunakan istilah disregulasi sistem imun (Vasto, Malavolta, Pawelec, 2006). Kadangkala kita dapat melihat adanya penurunan parameter imunologis secara bermakna pada seseorang, tapi yang bersangkutan masih memiliki fungsi yang baik berkaitan dengan status kesehatannya. Hasil pengamatan terkini menunjukkan bahwa imunosenesensi tidak disertai dengan penurunan fungsi imun yang progresif, tapi lebih merupakan suatu hasil suatu "*remodelling*" di mana beberapa fungsi mengalami penurunan, sementara ada fungsi yang tidak berubah dan bahkan ada yang mengalami peningkatan. Keadaan tersebut menimbulkan pertanyaan, apakah perubahan yang terjadi dan dapat dilihat dengan adanya perubahan beberapa parameter imunitas pada mereka yang berusia lanjut, sebenarnya merupakan sebab atau akibat dari proses penyakit yang mendasarinya. Perubahan-perubahan yang terjadi pada imunosenesensi tidak berhubungan

langsung dengan imunodefisiensi. Bagaimana mekanisme yang mendasari kejadian tersebut masih belum jelas hingga saat ini, akan tetapi hal yang penting adalah bahwa perubahan sistem imun yang berhubungan dengan usia, secara langsung maupun tidak, mempunyai keterlibatan dalam hal kemudahan seseorang yang berusia lanjut terserang penyakit infeksi, autoimun dan kanker, serta penurunan respon terhadap vaksinasi. Hal yang sama juga berlaku untuk patogenesis penyakit-penyakit lain yang juga ada kaitannya dengan masalah umur, seperti penyakit kardiovaskuler, penyakit neurodegeneratif, diabetes dan osteoporosis. Terdapat cukup banyak bukti bahwa penyakit-penyakit tersebut melibatkan komponen imunitas dalam patogenesisnya, sehingga fungsi imun ini berhubungan dengan kemampuan seseorang berumur panjang.

Fakta yang ada juga membuktikan bahwa komponen sistem imun nonspesifik (*innate* atau *natural*) dipertahankan lebih baik selama proses penuaan dibandingkan dengan komponen sistem imun spesifik (*adaptive* atau *acquired*) yang banyak mengalami perubahan (Licastro, 2005). Pada sistem imun non spesifik, proses penuaan mengakibatkan penurunan kapasitas fagositosis netrofil, sementara aktivitas NK cells justru mengalami peningkatan, sehingga dapat dikatakan bahwa sistem imun non spesifik tidak banyak dipengaruhi oleh proses penuaan. Proses penuaan ini lebih banyak berpengaruh terhadap sel-sel limfosit T dibandingkan dengan sel-sel limfosit B, makrofag dan sel-sel dendrit, akan tetapi karena sel-sel T *helper* (Th) juga penting untuk reaksi humoral, maka baik reaksi imun humoral dan seluler keduanya melemah. Perubahan terpenting yang dapat dijumpai adalah pergeseran produksi Th1 ke Th2 dan peningkatan produksi sitokin proinflamasi, yang dapat menerangkan banyak aspek kejadian penyakit-penyakit yang berhubungan dengan usia, seperti atherosklerosis dan osteoporosis (Vasto, 2006). Penurunan efektivitas aktivitas kompartemen sel T yang sebagian terjadi akibat involusi thymus. Selain itu, terdapat bukti bahwa populasi sel T pada seorang lanjut usia menjadi hiporesponif. Perubahan-perubahan fungsional yang dapat terjadi antara lain berupa penurunan respon terhadap rangsangan pada reseptor sel T, hambatan kapasitas proliferasi sel T, penurunan frekuensi CD4⁺ sel T memproduksi sitokin IL-2 dan penurunan ekspresi reseptor IL-2 (Meydani, 2005).

2.4 Timik menopause

Pengecilan kelenjar timus atau involusi timus merupakan gejala umum yang menyertai proses penuaan pada manusia. Beberapa penelitian melaporkan adanya penurunan jumlah keseluruhan limfosit dan limfosit T akibat involusi timus, tetapi ada juga yang melaporkan jumlah limfosit B yang meningkat pada usia lanjut. Kelenjar timus berfungsi sebagai kelenjar hormon sekaligus merupakan tempat diferensiasi sel-sel limfosit T sampai menjadi sel-sel imunokompeten. Hormon yang dihasilkan sebagai polipeptida ditemukan dalam darah, yang diduga penting untuk kelanjutan proses diferensiasi limfosit, baik semasa dalam kelenjar maupun sesudah meninggalkan kelenjar timus. Kadar hormon timus dalam serum akan segera menurun sesudah involusi kelenjarnya. Walaupun kelenjar timus bertanggung jawab atas fungsi imunitas seluler, tetapi respons imun humoral akan terpengaruh pula oleh fungsi kelenjar timus. Hal ini disebabkan karena respons imun humoral sebagian besar membutuhkan limfosit T yang bertindak sebagai regulator (T_H dan T_S). Bahkan pada beberapa penelitian telah dapat dibuktikan bahwa kelenjar timus selain berperan dalam pematangan limfosit T juga penting untuk pematangan limfosit B.

2.5 Pengaruh defisiensi nutrisi terhadap sistem imun dan respons imun

Peningkatan jumlah dan proporsi penduduk yang berusia 50 tahun ke atas secara progresif membuat kita harus memberikan perhatian lebih tinggi terhadap kebutuhan fisiologisnya. Subyek lanjut usia mempunyai kecenderungan mengalami infeksi lebih sering dan setiap episode penyakit berlangsung lebih lama dibandingkan mereka yang masih muda usianya. Saat ini telah diketahui secara luas bahwa nutrisi merupakan satu determinan respon imun yang penting. Data epidemiologik dan klinik mendukung bahwa defisiensi nutrisi akan merubah imunokompetensi dan meningkatkan risiko infeksi. Sanitasi yang buruk, higiene perorangan, lingkungan tempat tinggal yang terlalu padat, makanan dan minuman yang terkontaminasi dan pengetahuan nutrisi yang tidak memadai ikut berperan memudahkan terjadinya infeksi. Cukup banyak bukti bahwa gangguan imunitas merupakan faktor tambahan yang penting dalam hal kejadian infeksi yang berhubungan dengan malnutrisi (Meydani, 2005).

Defisiensi nutrisi dapat dijumpai pada sekitar sepertiga dari kaum lanjut usia di negara-negara industri. Individu lanjut usia yang secara khusus termasuk berisiko tinggi mengalami malnutrisi adalah: mereka yang terisolasi secara fisik, hidup sendirian, khususnya mereka yang sudah kehilangan orang-orang yang dikasihi; atau mereka yang terisolasi secara sosial; menderita gangguan mental, menderita penyakit sistemik kronik; sangat miskin atau sangat tua. Selanjutnya, pengurangan asupan energi total akan berakibat pada konsumsi zat gizi (nutrisi) esensial yang tidak memadai. Keadaan lebih jauh lagi dapat terjadi bila dibarengi dengan kesalahan dalam pemilihan jenis variasi dan karakteristik makanan yang dipilih sendiri, didapatkan adanya malabsorpsi pada beberapa individu lanjut usia, serta interaksi obat dan zat gizi (nutrisi). Penilaian secara simultan terhadap status gizi dan respon imun, serta analisis korelasi yang dilakukan kemudian mendukung bahwa penurunan imunitas pada orang lanjut usia sebagian disebabkan oleh defisiensi nutrisi dan bersifat kumulatif dengan proses penuaan (Lesourd, Mazari, Ferri, 1998).

Berdasarkan survei yang dilakukan di India, Eropa, Amerika Serikat dan Kanada, diperkirakan sebanyak 35% penduduk yang berusia 50 tahun ke atas menderita defisiensi salah satu atau lebih jenis vitamin dan mineral (*trace-elements*). Pada umumnya, tidak mungkin mendiagnosis defisiensi nutrisi hanya atas dasar riwayat (anamnesis) dan pemeriksaan klinik. Akan tetapi, walau defisiensi bersifat subklinik dapat menimbulkan efek fisiologis yang bermakna, misalnya terhadap sistem imun dan fungsi kognitif. Dampak klinis akibat gangguan imunitas adalah peningkatan kejadian infeksi pada saluran pernafasan bagian atas dan bawah, saluran kencing, alat genital.

Defisiensi satu jenis nutrisi juga dapat mengakibatkan perubahan respons imun, dan hal ini juga dapat diobservasi pada keadaan defisiensi yang relatif ringan. Pada orang lanjut usia sehat dapat dijumpai penurunan proliferasi limfosit dan sintesis IL-2. Ditemukan adanya perbedaan, bahwa respons imun pada orang lanjut usia yang tidak menderita kekurangan albumin berhubungan dengan rendahnya kadar CD8⁺ sementara kadar CD4⁺ tidak ada perbedaan berarti dibandingkan dengan kadarnya pada dewasa muda. Sebaliknya pada mereka yang lanjut usia dengan sedikit penurunan kadar albumin mempunyai kadar CD4⁺ yang

rendah. *Protein-energy malnutrition* mempunyai hubungan yang bermakna dengan penurunan imunitas seluler, fungsi fagositosis, sistem komplemen, konsentrasi antibodi imunoglobulin-A, dan produksi sitokin. Pada keadaan defisiensi mikronutrien, seperti: Zinc, Selenium, besi, tembaga, vitamin A, C, E, B-6 dan asam folat, mempunyai pengaruh yang penting terhadap respons imun, khususnya pada mereka yang telah mengalami proses penuaan. Defisiensi Zinc menyebabkan imunodefisiensi seluler dan penurunan aktivitas Thymulin secara bermakna, dan lebih nyata dampaknya pada orang lanjut usia. Defisiensi vitamin B6 juga menyebabkan imunodefisiensi seluler dan penurunan limfositosis, proliferasi limfosit dan sintesis IL-2. Kerja vitamin E terhadap respon imun khususnya pada kaum lanjut usia sudah banyak dipelajari. Vitamin E memberikan perlindungan terhadap kerusakan membran sel oleh aktivitas radikal bebas, karena defisiensi vitamin E dapat meningkatkan produksi radikal bebas. Pada percobaan binatang telah dibuktikan bahwa defisiensi vitamin E menghambat imunitas seluler dan imunitas non spesifik (Chandra, 1997).

2.6 Penanganan holistik perempuan pascamenopause

Menopause merupakan salah satu peristiwa alamiah yang tidak cukup hanya dianggap sebagai peristiwa biomedik, akan tetapi perlu juga diperhatikan dari aspek psikososialnya secara seimbang, sehingga penanganan perempuan pascamenopause perlu dilakukan secara holistik dengan menggunakan pendekatan biopsikososial, yaitu suatu pendekatan dengan menerapkan teori-teori biologi, psikologi dan sosial secara terintegrasi.

2.6.1 Pendekatan psikososial dan perubahan gaya hidup

Salah satu pendekatan psikososial dalam penanganan masalah perempuan pascamenopause adalah dengan berupaya menciptakan persepsi atau sikap positif dari masyarakat dan petugas kesehatan terhadap menopause. Menopause hendaknya diterima sebagai karunia yang patut disyukuri karena dilebihkan dari perempuan lain, dengan umur yang lebih panjang dan dengan segala kesempatannya. Menopause sebaiknya tidak dianggap hanya sebagai proses penuaan fisik saja, tetapi lebih lagi sebagai proses pematangan dalam segi

intelektual, konsep pemikiran, spiritual dan wawasan hidup, sehingga merupakan suatu proses menuju perempuan bijaksana (Deeks, 2003).

Masyarakat, terutama kaum perempuan, perlu mendapat informasi yang lebih baik perihal masalah menopause secara menyeluruh. Para dokter atau petugas kesehatan pada umumnya kiranya dapat memberikan dukungan dan konseling yang baik kepada kaum perempuan perihal menopause, mulai dari keluhan atau gejala-gejala menopause dan dampaknya dalam jangka pendek maupun jangka panjang, upaya-upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi keluhan-keluhan tersebut serta mencegah timbulnya masalah-masalah yang mungkin timbul dalam jangka panjang akibat menopause tersebut. Kebanyakan perempuan menopause membutuhkan pendidikan, informasi tentang menopause serta dukungan seseorang yang mau mendengarkan pengalaman-pengalaman mereka (Armitage, 2007).

Upaya pencegahan untuk mempertahankan kesehatan dan vitalitas secara proaktif yang dapat dilakukan kaum perempuan dalam menghadapi menopause sebagaimana disarankan oleh *International Menopause Society (IMS)* antara lain berkaitan dengan gaya hidup sehat, seperti: olahraga, mengurangi konsumsi kafein, garam, gula, mengurangi atau menghentikan kebiasaan merokok dan minum alkohol, minum vitamin dan/atau mineral tertentu, istirahat dan tidur yang cukup, diet dengan gizi berimbang (rendah lemak), serta pemeriksaan kesehatan berkala secara teratur. Perempuan yang rajin berolahraga dan tidak merokok mempunyai nilai *positive mood* yang lebih baik terhadap perubahan-perubahan yang dialami. Beberapa studi juga mendapatkan bahwa para perempuan yang kurang aktif secara fisik seringkali mengeluhkan gejala-gejala neurovegetatif sesudah menopause dibandingkan dengan mereka yang rajin berolahraga. (Gold, Block, Crawford, 2004). Perempuan yang rajin berolahraga memiliki *mood profile* yang lebih baik, lebih sedikit gejala-gejala somatik dan kesulitan dalam konsentrasi daya ingat dibandingkan dengan perempuan yang kurang aktif bergerak. Latihan fisik diketahui dapat meningkatkan kadar β -endorfin, yaitu suatu neurotransmitter yang dapat mempengaruhi pengaturan suhu tubuh, yang mana β -endorfin ini menurun kadarnya akibat penurunan kadar estrogen pada perempuan menopause (Baziad 2003).

Indeks massa tubuh (IMT) yang lebih tinggi merupakan faktor risiko munculnya gejala-gejala vasomotor yang lebih berat, seperti juga kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol. Hal ini menunjukkan pentingnya faktor gaya hidup dalam mengatasi gejala-gejala klimakterik (Gold, 2004).

2.6.2 Terapi hormon (TH)

Terapi hormon (*hormone therapy*), baik berupa estrogen saja maupun kombinasi antara estrogen dan progesteron, merupakan jenis obat yang paling banyak diresepkan bagi perempuan pascamenopause di negara-negara industri maju. Kebanyakan perempuan menggunakannya untuk mengatasi gejala menopause (sindroma klimakterik), serta mencegah terjadinya penyakit kronik seperti osteoporosis, penyakit jantung koroner (PJK) dan demensia Alzheimer.

Berdasarkan rekomendasi yang dikeluarkan oleh *North American Menopause Society (NAMS)*, indikasi pemberian terapi hormon adalah adanya keluhan menopause seperti gejala vasomotor berupa gejala panas dan gejala urogenital. Di Indonesia, penggunaan terapi hormon ini masih sangat terbatas dan hanya diberikan kepada pasien menopause dengan keluhan terkait defisiensi estrogen yang mengganggu atau adanya ancaman osteoporosis dengan lama pemberian 2 - 5 tahun. Sebelum dilakukan pemberian terapi sulih hormon, perlu dilakukan beberapa pemeriksaan berikut: diagnosis pasti menopause, penilaian kontra-indikasi mutlak dan relatif, *informed consent* mengenai untung-rugi penggunaan terapi sulih hormon, pemeriksaan fisik (meliputi tekanan darah, pemeriksaan payudara dan pelvik), serta pemeriksaan sitologi serviks dan mamografi harus memberikan hasil negatif. *The American College of Obstetrics and Gynaecologists (ACOG)* menetapkan beberapa keadaan sebagai kontra-indikasi penggunaan terapi sulih hormon, antara lain: kehamilan, perdarahan genital yang belum diketahui penyebabnya, penyakit hepar akut maupun kronik, penyakit thrombosis vaskular, atau pasien menolak terapi. Beberapa keadaan lain juga ditetapkan sebagai kontra-indikasi yang relatif, yaitu: hipertrigliseridemia, riwayat tromboemboli, riwayat keganasan payudara dalam keluarga, gangguan kandung empedu, migraine, mioma uteri dan penyakit kejang (Ditjen Yanmedik Depkes RI, 2004).

Rejimen terapi hormon dapat berisi estrogen saja atau kombinasi dengan progesteron. Pilihan sediaan yang diberikan bergantung pada riwayat histerektomi (operasi pengangkatan uterus). Untuk perempuan yang tidak atau belum menjalani histerektomi umumnya diberikan kombinasi dengan progesteron untuk mengurangi risiko terjadinya keganasan pada uterus. Sediaan terapi hormon ini paling banyak diberikan secara oral, namun terdapat juga dalam bentuk krim dan plester.

Penelitian mengenai penggunaan terapi hormon selama ini umumnya dilakukan pada perempuan ras kaukasia. Dulu dosis yang diberikan untuk perempuan Asia yang rata-rata mempunyai tubuh lebih kecil daripada perempuan Barat tetap berpedoman pada hasil penelitian yang dilakukan pada perempuan ras Kaukasia, tapi kini sudah disusun suatu pedoman terapi sulih hormon untuk perempuan Asia selama perimenopause dan sesudah itu (Tan, Darmasetiawan, Haines, et al., 2006).

Seperti semua obat lainnya, terapi hormon dapat menimbulkan efek samping. Efek samping terkait estrogen berupa mastalgia (nyeri pada payudara), retensi cairan, mual, kram pada tungkai dan sakit kepala. Kenaikan tekanan darah dapat terjadi, walau sangat jarang. Sedangkan efek samping terkait progestin adalah retensi cairan, kembung, sakit kepala dan mastalgia, kulit berminyak dan jerawat, gangguan *mood* dan gejala seperti premenstrual. Perdarahan vagina merupakan keluhan yang sering ditemukan dan meresahkan perempuan yang menggunakannya. Penggunaan progestin secara terus-menerus dapat menyebabkan perdarahan vagina yang tidak dapat diprediksi polanya, dengan atau tanpa *spotting* selama beberapa bulan. Banyak orang berpendapat bahwa pemakaian terapi hormon dapat menyebabkan penambahan berat badan, namun berbagai penelitian tidak membuktikan adanya hubungan antara terapi hormon dengan kenaikan berat badan permanen, walaupun dijumpai adanya nafsu makan yang meningkat pada beberapa perempuan. Pemberian terapi hormon mempengaruhi distribusi lemak, terutama pada panggul dan paha, namun tidak pada perut (Baziad, 2003).

Survei terbaru mengenai pemakaian terapi hormon di Amerika Serikat dan Inggris menunjukkan 45-55% dan 60% perempuan pascamenopause

menggunakannya, dengan tingkat pemakaian yang lebih tinggi pada perempuan yang telah menjalani histerektomi. Penggunaan terapi hormon di negara-negara Asia, khususnya Indonesia masih terbatas. Didapatkan estimasi sebanyak 1,2% perempuan pascamenopause mendapatkan terapi hormon pada suatu studi pemakaian terapi hormon di Jepang (Honjo, Urabe, Okubo, 1997). Di Indonesia sendiri sampai saat ini belum ada data mengenai jumlah penggunaan terapi hormon pada perempuan peri- dan pascamenopause. Berbeda dengan negara Barat, keluhan yang lebih sedikit dan penerimaan masyarakat terhadap menopause, perbedaan demografik, ras, gaya hidup, faktor pendidikan dan pengetahuan, sosial budaya dan ekonomi mungkin mempunyai pengaruh besar terhadap jumlah pemakaian terapi hormon di wilayah ini.

Pada tahun 1997, WHO mengadakan *First Concensus Meeting on Menopause in the East Asia Region* yang membahas tentang pemakaian terapi hormon pada perempuan pascamenopause di tingkat regional Asia Tenggara, yang mana salah satu rekomendasinya adalah perlunya penelitian biososiokultural dan untuk masing-masing negara.

2.6.3 Terapi non hormonal

Pertama kalinya estrogen sebagai Terapi Hormon (TH) disetujui oleh *Food and Drug Administration (FDA)* di Amerika Serikat pada tahun 1941 sebagai terapi untuk gejala klimakterik berupa gejala panas dan keringat malam. Limapuluh tahun berikutnya popularitas meningkat, bahkan di tahun 1990an terapi hormon itu juga digunakan sebagai antidot untuk beberapa penyakit terkait proses penuaan. Kaum perempuan menggunakan estrogen tidak saja untuk mengatasi gejala panas, kekeringan vagina dan perlindungan terhadap osteoporosis, tapi juga untuk dapat meningkatkan libido, perasaan, daya ingat, gangguan tidur, nyeri sendi, dan keriput pada kulit.

Dalam perkembangannya, antara lain dari laporan hasil penelitian *Women's Health Initiative* (2002) ternyata diketahui bahwa pemakaian TH (terutama estrogen) jangka panjang mempunyai risiko timbulnya kanker payudara, penyakit jantung dan demensia pada penggunaannya. Sejak itu, karena kekhawatiran terhadap efek samping jangka panjang berupa kanker payudara,

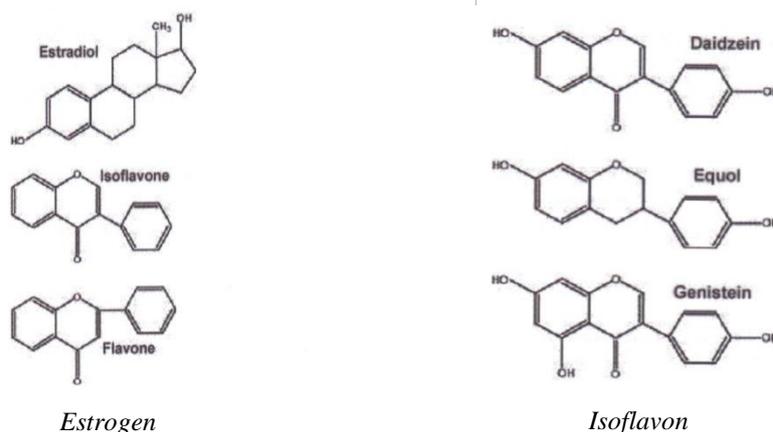
banyak perempuan kemudian menolak menggunakan TH, sehingga terjadi penurunan penggunaan TH di seluruh dunia secara dramatis.

Meski berbagai meta-analisis dan *systematic review* terhadap berbagai penelitian TH masih bersifat inkonklusif, termasuk efek samping yang ditimbulkan, saat ini telah terjadi peningkatan minat terhadap terapi non hormonal untuk penanganan gejala-gejala menopause, seperti penggunaan: *gabapentin*, *paroxetine* (SSRI = *selective serotonin reuptake inhibitor*), *venlafaxine* (SNRI = *serotonin norepinephrine reuptake inhibitor*) dan *clonidine* (antihipertensi). Beberapa hasil penelitian terhadap terapi non hormonal untuk penanganan menopause tersebut menunjukkan manfaatnya terhadap penurunan frekuensi dan beratnya sindroma klimakterik, walau terdapat juga beberapa penelitian yang tidak mendukung, namun hingga saat ini belum mendapat persetujuan dari Badan Pengawasan Obat terkait dengan kemungkinan timbulnya efek samping penggunaan obat-obat tersebut.

2.7 Suplementasi fitoestrogen

2.7.1 Gambaran umum

Paradigma *back to nature* membawa beberapa ilmuwan mencoba mencari terapi alternatif hormon estrogen dengan menggunakan bahan alamiah dari tumbuh-tumbuhan, antara lain adalah fitoestrogen yang merupakan suatu *estrogen like substance* dan disebut juga herbal estrogen. Golongan fitoestrogen ini memiliki rumus bangun kimiawi yang sangat berbeda dengan estrogen, namun khasiat maupun “perilaku”nya sangat mirip estrogen. Fitoestrogen adalah suatu bahan senyawa yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen dan dianggap sebagai suplemen makanan yang mempunyai aktivitas estrogenik dan non-estrogenik lemah. Khasiat estrogenik timbul karena fitoestrogen juga memiliki 2 gugus –OH/hidroksi yang berjarak 11.0 – 11.5 Å pada intinya, sama persis dengan inti estrogen sendiri (Gambar 2.4). Para peneliti sepakat bahwa jarak 11.0 Å dan gugus OH inilah yang menjadi struktur pokok suatu estrogen (Andra, 2007).



Gambar 2.4 Struktur kimiawi estrogen (estradiol) dibandingkan dengan isoflavon

Pada tanaman dikenal ada beberapa kelompok fitoestrogen, yakni: *isoflavon*, *lignan*, *kumestan*, *triterpen glikosida*, dan senyawa lain yang berefek estrogenik, seperti *flavones*, *chalconcs*, *diterpenoids*, *triterpenoids*, *coumaris*, dan *acyclics*. *Isoflavon* banyak dijumpai pada buah-buahan, teh hijau, kacang kedelai, dan produk kedelai lainnya seperti tempe, tahu, dan tauco (*soy products*). *Lignan* lebih banyak dijumpai pada biji-bijian gandum maupun wijen. Sementara *kumestan* banyak terdapat pada kacang-kacangan, biji bunga matahari. Sedangkan triterpen glikosida banyak terkandung pada tanaman *Cimifuga racemosa* (sering disebut sebagai tanaman *black cohosh*). Tanaman ini tumbuh di hutan-hutan Amerika Selatan dan sekarang telah diekstraksi serta dikemas menjadi produk obat untuk menopause (Andra, 2007).

Di antara kelompok fitoestrogen tersebut, penelitian menunjukkan bahwa isoflavon merupakan jenis fitoestrogen yang terbaik, dan pada manusia mempunyai dua efek yang penting, yaitu estrogenik dan antiestrogenik, bergantung pada kadar estrogen endogen dalam sirkulasi dan reseptor estrogen. Fitoestrogen dikatakan berperan sebagai suatu *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERM), yang mempunyai efek agonis maupun antagonis (Rosett, 2005). Pertama, pada saat kadar estrogen tinggi, fitoestrogen bisa menghentikan bentuk estrogen yang lebih poten diproduksi oleh tubuh dan bisa membantu mencegah penyakit yang dikendarai oleh hormon, seperti kanker payudara. Kedua, pada saat kadar estrogen rendah, seperti pada keadaan setelah menopause, fitoestrogen bisa menggantikan estrogen tubuh itu sendiri, sehingga bisa mengurangi gejala panas (*hot flashes*) dan “melindungi” tulang.

Daidzein merupakan salah satu dari beberapa *isoflavon* yang dikenal cukup potensial. Pada prinsipnya, *daidzein* adalah aglikon (aglucon) dari *daidzin*. Umumnya, *isoflavon* ditemukan secara alamiah sebagai *glikosida daidzin* dan *glikosida 6''-O-malonylgenistin* serta *6''-O-acetyldaidzin*. Glikosida *daidzein* merupakan *isoflavon* kedua terbanyak yang ditemukan pada kacang kedelai dan produk kedelai, setelah *genistein*. Makanan olahan kedelai yang tidak difermentasi seperti tofu, mengandung *daidzein* dalam bentuk glikosidanya, sedangkan yang telah difermentasi seperti tempe, mengandung kadar aglikon dalam jumlah yang signifikan. Pengujian secara *in vivo* maupun *in vitro* memperlihatkan bahwa *daidzein* memiliki efek estrogenik meski lemah. Selain itu senyawa ini juga tampak memiliki aktivitas sebagai anti-oksidan, anti-karsinogenik, anti-aterogenik dan anti-osteoporotik. Dalam penggunaannya, *daidzein* tersedia dalam beberapa formula *isoflavon* berbeda. Namun formula standar *isoflavon* kedelai biasanya terdiri dari *daidzein* yang pada prinsipnya dalam bentuk *daidzin*, *genistin* dan *glycitin*. Persentase *isoflavon* kedelai yang ada dalam suplemen merefleksikan persentase senyawa tersebut dalam kedelai: *daidzin* 38%, *genistin* 50% dan *glycitin* 12% (Andra, 2007).

Suplemen makanan berisi *isoflavon* yang berasal dari kedelai (*soy*) dan *red clover* (*Trifolium pretense*) sudah banyak dipasarkan untuk mengatasi gejala-gejala menopause dan meningkat penggunaannya oleh para perempuan di Amerika Serikat sebagai alternatif terhadap estrogen. Kebanyakan publikasi studi tentang *isoflavon* untuk mengatasi gejala menopause meneliti tentang efektivitas dari produk-produk kedelai. Suplemen makanan yang berasal dari *red clover* mengandung *isoflavon* tambahan (biochanin A, formononetin) yang tidak dijumpai dalam kedelai, yang mungkin juga memiliki aktivitas biologis tambahan. Sebaliknya *red clover* tidak mengandung beberapa komponen kedelai yang ikut berperan dalam menimbulkan efek biologik kedelai.

Beberapa penelitian terkini melaporkan bahwa fitoestrogen, terutama *isoflavon* dapat mengurangi gejala gejolak panas (*hot flushes*) secara bermakna, memperbaiki profil lipid plasma, serta menghambat perkembangan aterosklerosis sehingga mengurangi risiko penyakit kardiovaskular). Selain itu fitoestrogen juga menghambat pertumbuhan sel-sel tumor/kanker payudara dan kanker

endometrium (selaput lender rahim), suatu efek yang sangat menguntungkan bagi pengobatan menopause yang dapat dipastikan akan berjangka waktu lama. Akhir-akhir ini juga dilaporkan bahwa pemberian fitoestrogen dapat memulihkan ingatan atau memori, sekaligus mengurangi perasaan tertekan (depresi). Kelemahan fitoestrogen yang dianggap cukup berarti adalah bahwa fitoestrogen sedikit atau tidak berkhasiat dalam pencegahan osteoporosis dan tidak pula menunjukkan manfaat untuk mengatasi kekeringan atau atrofi vagina (*vaginal dryness*) (Nikander, 2003; Krebs, 2004).

Belum cukup banyak data yang dipublikasikan dan belum ada juga penelitian klinik dengan jumlah sampel yang besar mengenai efek fitoestrogen ini terhadap gejala-gejala menopause dan kualitas hidup perempuan. Dari hasil *systematic review* dalam *Cochrane Collaboration* (Lethaby, 2008), sampai saat ini tidak terdapat fakta atau bukti yang konklusif perihal manfaat fitoestrogen terhadap gejala vasomotor maupun kualitas hidup perempuan menopause. Data yang ada mengenai efek estrogenik fitoestrogen terhadap endometrium dan vagina pada perempuan dengan gejala vasomotor juga masih inkonklusif.

Efek samping, terutama untuk pemakaian jangka panjang, tidak diketahui sebaik obat-obatan yang diresepkan. Karena berasal dari tumbuhan, sebagian masyarakat meyakini tidak ada efek samping berarti bila dibandingkan dengan estrogen biasa. Sampai saat ini tidak terdapat bukti adanya peningkatan kejadian yang merugikan dan data yang terbatas mendukung bahwa suplemen fitoestrogen dapat ditoleransi dengan baik oleh perempuan menopause.

2.7.2 Efektivitas Fitoestrogen

2.7.2.1 Efek fitoestrogen terhadap simtom menopause

Ekstrak *soy isoflavan* yang terutama terdiri dari *daidzein*, *genistein* dan glukokonjugasi-nya menunjukkan efek campuran terhadap *hot flashes* pada uji yang menggunakan placebo sebagai kontrol. Dari sembilan studi yang mempelajari tentang efektivitas ekstrak *soy isoflavan*, lima studi (yang membandingkan dengan plasebo) menunjukkan perbedaan yang bermakna. Tiga studi (Bicca, 2004; Faure, 2002; Khaodiar, 2007) menunjukkan adanya penurunan dalam hal frekuensi gejala panas dan keringat malam dan dua studi

menunjukkan adanya penurunan dalam hal beratnya gejala panas yang dirasakan. Beberapa penelitian terhadap pemberian *soy isoflavan* dalam diet yang berbentuk minuman, bubuk, tepung, protein, sereal atau muffin melaporkan adanya perbaikan dalam hal frekuensi *hot flashes*.

Beberapa penelitian yang menilai efektivitas *Red clover isoflavan* -yang mengandung *genistein*, *daidzein*, *formonotein* dan *biochanin*- menunjukkan adanya perbaikan dalam hal frekuensi dan beratnya *hot flashes* dibandingkan dengan pemakaian plasebo, akan tetapi beberapa penelitian lainnya tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna tersebut. Satu studi melaporkan keuntungan pemberian *red clover isoflavan* ini dalam hal penurunan beratnya gejala panas dan keringat malam yang dirasakan, yaitu hanya 15% di antara perempuan yang mengkonsumsi *red clover isoflavan* merasakan gejala panas dibandingkan dengan 98,1% perempuan yang mendapatkan plasebo. Di antara mereka yang mendapat *red clover isoflavan*, terdapat 30,2% perempuan yang masih mengalami keringat malam dibandingkan dengan 92,5% perempuan di antara mereka yang mendapat plasebo (Tice, 2003).

Black cohosh (Cimifuga racemosa) diyakini mempunyai daya seperti estrogen. *Black cohosh* tidak menurunkan frekuensi *hot flashes*, dan meskipun terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan adanya perbaikan dalam hal *hot-flash*, tetapi beberapa penelitian yang lain memberikan hasil yang bertentangan, yaitu bahwa pemberian *black cohosh* tidak mengatasi gejala vasomotor yang terkait dengan menopause. Hasil penelitian lain juga masih meragukan ketika pemberian *black cohosh* disatukan dengan pemberian *soy isoflavone*. *Black cohosh* ini ternyata kemudian diketahui berhubungan dengan meningkatnya kejadian gangguan hati (Carroll, 2006).

2.7.2.2 Efek fitoestrogen terhadap profil lipid dan sistem kardiovaskular

Konsumsi protein yang terdapat dalam kedelai telah diketahui mempunyai efek yang menguntungkan terhadap kadar lipid serum. Berdasarkan studi meta-analisis terhadap 38 percobaan (Anderson, 1995) disimpulkan bahwa pada manusia, asupan protein kedelai secara efektif dapat menurunkan kadar kolesterol total sebesar 9,3%, kolesterol LDL sebesar 12,9%, triacylglycerol sebesar 10,5%

dan meningkatkan kadar kolesterol HDL sebesar 2,4%. Temuan yang menguntungkan ini telah digunakan sebagai salah satu langkah perkembangan dalam strategi pencegahan penyakit kardiovaskular. Studi meta-analisis terhadap 23 penelitian yang mengkaji efek protein kedelai yang mengandung isoflavon terhadap profil lipid (Zhan, 2005) menyimpulkan bahwa isoflavon secara bermakna dapat menurunkan kadar kolesterol total (3,77%), kolesterol LDL (5,25%) dan triacylglycerol (7,27%) serum dan secara bermakna pula dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL, tetapi perubahan-perubahan ini berhubungan dengan tingkat dan lamanya mengkonsumsi protein kedelai yang mengandung isoflavon, serta jenis kelamin dan kadar lipid serum awal (sebelum mengkonsumsi protein dalam kedelai yang mengandung isoflavon).

2.7.2.3 Efek fitoestrogen terhadap osteoporosis

Terapi hormon telah terbukti memberikan efek positif terhadap osteoporosis, dan kini isoflavon mulai digunakan sebagai alternatif terapi yang alamiah. Angka kejadian fraktur tulang panggul pada populasi orang Asia yang konsumsi sehari-harinya banyak mengandung kedelai secara substansial lebih rendah dibandingkan orang kulit putih yang tinggal di Amerika Serikat (Ling, 1996). Studi potong-silang (*cross-sectional*) pada penduduk Asia menunjukkan adanya hubungan positif yang bermakna antara asupan protein kedelai atau isoflavon dengan BMD (*Bone Mass Density*). Lebih jauh lagi, studi intervensi yang menggunakan protein kedelai atau ekstrak isoflavon umumnya melaporkan efek protektif terhadap tulang, meskipun jumlah sampelnya dalam penelitian sangat terbatas dan lamanya penelitian relatif singkat.

Atkinson (2004) melakukan penelitian mengenai efek isoflavon (*red clover*) terhadap densitas tulang perempuan. Penurunan *bone mineral content* ($p=0,04$) dan *bone mineral density* ($p=0,03$) pada tulang belakang lebih rendah secara bermakna pada perempuan yang mengkonsumsi suplemen isoflavon dibandingkan dengan plasebo.

2.7.2.4 Efek fitoestrogen terhadap kanker payudara

Estrogen telah diketahui sebagai faktor yang berperan pada kejadian kanker payudara. Peningkatan konsentrasi estrogen endogen dan terapi hormonal yang menggunakan estrogen pada perempuan menopause berhubungan dengan peningkatan risiko kanker payudara. Meskipun demikian, peran fitoestrogen pada kejadian kanker payudara masih inkonklusif. Angka kejadian kanker payudara di Amerika Serikat 4-7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan di Asia, di mana konsumsi asupan isoflavon penduduk Amerika Serikat <1% dibandingkan dengan penduduk Asia yang dilaporkan berkisar antara 20-80mg per hari (Ziegler, 2004). Meski demikian, pola konsumsi kedelai yang tinggi hanya merupakan salah satu pola hidup yang protektif yang membedakan perempuan Asia dengan perempuan Barat. Beberapa penelitian yang relevan masih inkonsisten dan bersifat inkonklusif. Sampai saat ini, penelitian-penelitian ilmiah tidak mendukung peningkatan asupan fitoestrogen di antara perempuan Amerika Serikat untuk mencapai tingkat konsumsi perempuan Asia, dan tidak juga mendukung pernyataan bahwa asupan fitoestrogen perempuan Amerika Serikat merupakan masalah bagi kesehatan perempuan.

2.7.3 Keamanan dan efek samping fitoestrogen

Dari hasil studi metaanalisis (Lethaby, 2007), di antara 8 studi yang mempelajari keamanan atau efek samping ekstrak *soy* isoflavon, 1 penelitian melaporkan efek stimulasi endometrial, 3 penelitian melaporkan perubahan pH vagina, 4 penelitian melaporkan perubahan ketebalan endometrium dan 4 penelitian melaporkan perihal perubahan indeks maturasi vagina. Pada studi yang membandingkan ekstrak *soy* isoflavon dengan terapi *unopposed estrogen* melaporkan peningkatan yang bermakna dalam pH vagina dan indeks maturasi pada kelompok *unopposed estrogen* (Kaari, 2006). Pada kelompok ekstrak *soy isoflavon* menunjukkan secara bermakna endometrium yang lebih tipis, stimulasi endometrium yang lebih rendah dan efek samping (perdarahan genital) yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang mendapat *unopposed estrogen*. Pada penelitian yang membandingkan antara ekstrak *soy* dengan plasebo, satu di antara

2 penelitian mendapatkan perbaikan dalam hal pH vagina secara bermakna (Bica, 2004).

2.7.4 Fitoestrogen isoflavon sebagai imunomodulator

Kacang kedelai yang banyak dikonsumsi bangsa Asia, termasuk Indonesia, merupakan sumber makanan yang kaya isoflavon, genistein dan daidzein sebagai fitoestrogen karena aktivitasnya yang bersifat estrogenik lemah. Karena hormon steroid juga berperan pada sistem imun manusia, fitoestrogen mungkin juga akan menyebabkan perubahan fungsi imun dengan peran sebagai agonis maupun antagonis terhadap estrogen. Hasil-hasil percobaan mutakhir secara *in vitro* dan pada hewan percobaan menunjukkan bahwa *genistein* dosis tinggi dapat menekan imunokompetensi, seperti ditunjukkan dengan penurunan aktivitas sel NK pada manusia, atrofi thymus dan perubahan distribusi limfosit pada mencit, dan perlambatan rejeksi alograf jantung pada tikus. Selain itu, baik *genistein* maupun *daidzein* bekerja secara *dose-dependent*, terutama dalam mekanisme inhibisi proliferasi sel. Sebaliknya, sistem imun mendapat keuntungan dari potensi yang dimiliki oleh isoflavon. Pada manusia, konsumsi makanan kedelai yang mengandung isoflavon dapat menyebabkan modulasi produksi sitokin (Jenkins et al., 2002), dan daidzein serta *genistein* memperkuat aktivitas *natural killer* (NK) cells secara *in vitro* (Zhang et al., 1999). Selain itu juga, *soy* isoflavon dapat menyebabkan perubahan pada fungsi imun melalui mekanisme *ER-independent*, seperti sifat antioksidan, anti-inflamasi, antiproliferatif, dan kemampuan menginduksi diferensiasi sel. Dengan demikian, dampak fisiologis fitoestrogen dapat bervariasi tidak saja antara laki-laki dan perempuan, tapi juga antara perempuan pra- dan pascamenopause. Hal tersebut menegaskan pula bahwa isoflavon dapat mempengaruhi imunitas pada orang dewasa yang mengalami penurunan fungsi imunitas berkaitan dengan proses penuaan (*aging process*).

2.7.4.1 Isoflavon sebagai agonis dan antagonis lemah terhadap estrogen

Isoflavon merupakan salah satu jenis fitoestrogen, yaitu substansi yang mempunyai khasiat estrogenik. Keberadaan cincin fenol pada struktur kimianya memungkinkan isoflavon untuk berikatan dengan kedua tipe reseptor estrogen,

yaitu ER- α dan ER- β (Munro, Harwood dan Hlywka et al., 2003). Berbeda dengan estrogen endogen, isoflavon berikatan dengan afinitas yang lebih kuat dengan ER- β , sehingga isoflavon ini lebih tepat disebut sebagai *selective estrogen receptor modulator* (SERM), baik terhadap efek proestrogenik maupun antiestrogenik (Setchell, 2001). Struktur kimia *soy* isoflavon sangat mirip dengan hormon steroid seks dan *soy* isoflavon telah dibuktikan dapat menyebabkan perubahan pada respons sel imun, maka dipostulasikan bahwa komponen-komponen isoflavon dapat juga memberikan pengaruh terhadap sistem imunitas manusia. Genistein dapat menekan sekresi estrogen normal dan/atau aktivitas estrogen pada jaringan yang *estrogen-sensitive* dengan berkompetisi pada *estrogen receptor (ER) binding*. Penelitian yang dilakukan oleh Nagata et al (1997), konsumsi *soy* isoflavon berhubungan terbalik dengan konsentrasi estradiol serum pada 50 perempuan menopause Jepang dengan memperhitungkan usia, indeks massa tubuh, lama siklus haid, asupan energi, diet lemak dan serat. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa kadar estradiol perempuan Amerika Kaukasia pra dan pascamenopause 30-70% dan 200% lebih tinggi dibandingkan dengan kadar estradiol perempuan Asia untuk kelompok usia yang setara (Goldin 1986).

2.7.4.2 Potensi isoflavon sebagai immunosupresif

Bukti mutakhir menunjukkan bahwa, pada mencit, selain efek inhibisi terhadap aktivitas sel NK, konsentrasi genistein yang tinggi dapat pula menekan fungsi imun melalui atrofi timus dan perubahan pada subpopulasi limfosit. Pada tikus perempuan yang sudah dilakukan ovariectomi, injeksi genistein 5 mg/hari selama 21 hari menyebabkan penurunan berat timus sampai 80%, sementara suntikan isoflavon dengan dosis yang lebih rendah 2 mg/hari selama 7 hari menyebabkan penurunan berat timus sampai 70%. Selain itu, jumlah CD4⁺ dan CD8⁺ juga menurun pada mencit yang diberikan genistein dibandingkan dengan hewan kontrol (Yellayi, 2001). Hasil dari percobaan lain pada hewan menunjukkan bahwa genistein juga dapat berperan sebagai immunosupresan pada resipien saat dilakukan transplantasi organ. Ketika tikus Lewis diberi makanan protein yang diperkaya dengan *soy* isoflavon (berisi 5 mg/g isoflavon) mulai 2

minggu sebelum transplantasi jantung, secara bermakna terjadi perlambatan reaksi penolakan allograf dibandingkan dengan hewan kontrol yang mendapat casein sebagai sumber protein (O'Connor, 2001). Dua penelitian tersebut di atas menunjukkan bahwa pada tikus dan mencit percobaan, konsentrasi genistein yang tinggi dapat menekan respons imun. Meskipun demikian, karena isoflavon dapat memberikan efek bifasik pada sel imun bergantung pada konsentrasinya, bagaimana pemberian suplemen *soy* isoflavon pada dosis yang fisiologis dapat mempengaruhi parameter-parameter imunitas masih belum jelas. Selain itu pula, sifat dasar dan dampak lebih jauh perubahan fungsi imun akibat pengaruh isoflavon pada manusia mungkin sangat berbeda dibandingkan dengan hewan percobaan.

2.7.4.3 Isoflavon sebagai antioksidan dan antiproliferatif

Bukti-bukti yang ada menunjukkan bahwa gizi, fungsi imun dan karsinogenesis mempunyai hubungan yang sangat erat. Sistem imun kini diketahui pula dapat memberikan perlindungan terhadap perkembangan penyakit-penyakit yang berhubungan dengan usia (proses *ageing*). Seperti juga sistem tubuh lainnya, fungsi sistem imun dapat diganggu oleh kerusakan oksidatif dan perubahan-perubahan hormonal. Efek antioksidan dan antiproliferatif isoflavon memberikan keuntungan tambahan, suatu mekanisme penting yang memberikan perlindungan terhadap banyak penyakit-penyakit kronis (Messina et al., 2004; Zeng et al., 2004). Mekanisme hormonal ini dapat menerangkan, walau hanya sebagian, mengapa isoflavon dapat melindungi terhadap penyakit-penyakit yang berkaitan dengan proses penuaan (*ageing*), termasuk penyakit kardiovaskuler (Puter et al., 1998; Steinberg et al., 2003), osteoporosis (Alekel, et al., 2003), kanker payudara (Zheng W, Dai, Custer et al., 1999) dan kanker prostat (Jacobsen et al., 1998; Kumar et al., 2004). Kerusakan seluler akibat stres oksidatif diketahui merupakan kontributor penting dalam etiologi penyakit kardiovaskuler melalui oksidasi LDL dan pada kanker melalui pemecahan rantai DNA yang memungkinkan terjadinya mutasi (Patel et al., 2001; Wiseman et al., 2000; Giles, Wei, 1997). Pada manusia, isoflavon telah dibuktikan berperan sebagai antioksidan yang mampu mencegah oksidasi LDL secara *in vivo* (Wiseman et al.,

2000) dan menghambat kerusakan DNA (*DNA damage*) secara *in vitro* (Giles, Wei, 1997). Zava dan Duwe (1997) meneliti efek genistein terhadap pertumbuhan sel dan induksi pS2 yang bersifat estrogen-regulated pada berbagai sel kanker payudara manusia. Meskipun genistein efektif menghambat pertumbuhan ER+ dan ER- sel kanker payudara pada konsentrasi $\geq 10 \mu\text{M}$, pada konsentrasi yang lebih rendah, konsentrasi fisiologis genistein 1nM - 10 μM justru menunjukkan efek yang berlawanan. Proliferasi sel yang diinduksi genistein terjadi antara kadar 0.1-1.0 μM , setara dengan efek stimulasi estradiol pada 1 nM. Meski demikian, sangat logis untuk mengeksplorasi hubungan ini, karena *soy* isoflavon jelas mempengaruhi metabolisme estrogen, dan sebagaimana sudah pernah dikemukakan sebelumnya, bahwa estradiol dapat mempengaruhi beberapa parameter fungsi imunitas.

2.7.4.4 Potensi isolavon untuk mengaktivasi limfosit

Wang dan kawan-kawan (1997) meneliti efek genistein dan daidzein terhadap aktivasi limfosit yang diinduksi oleh mitogen. Dengan menggunakan daidzein pada rentang kadar 0.01-10.0 μM , respons dari Concanavalin A (Con A)-induced dan *Eschericia colli lipopolysaccharide (LPS)-induced splenosit* meningkat bermakna 122-149% dan 111-127%. Pemberian genistein, sebaliknya, tidak menyebabkan perubahan proliferasi splenosit yang bermakna terhadap stimulasi mitogen. Sebagai tambahan, hanya daidzein yang secara bermakna menginduksi interleukin-2 (IL-2) dan IL-3 dari splenosit ConA-stimulated. Para peneliti menyimpulkan bahwa potensiasi aktivasi limfosit kemungkinan tidak melibatkan mekanisme *Estrogen Receptor (ER)-dependent* karena daidzein dapat menyebabkan potensiasi sedangkan genistein tidak, sementara kedua metabolit isoflavon mempunyai afinitas yang sama terhadap reseptor estrogen pada jaringan yang ER-sensitive. Bukti sementara ini menunjukkan bahwa mekanisme seluler dan potensi *soy*-isoflavon bersifat peka terhadap kadar estrogen dalam sirkulasi, jumlah isoflavon yang dikonsumsi, dan mungkin yang terpenting adalah jaringan target (sasaran) serta saat yang tepat untuk pemaparan terhadap isoflavon. Saat ini masih dibutuhkan penelitian lanjutan untuk memverifikasi kemampuan isoflavon untuk potensiasi aktivasi limfosit dan mekanisme-mekanisme yang terlibat.

Girmes-Grieco (2001) berdasarkan hasil penelitiannya di Amerika Serikat mengemukakan bahwa pemberian suplementasi soy-isoflavon sebesar 100mg per hari dalam jangka waktu 4 minggu tidak mengakibatkan perubahan parameter imunologis ($CD4^+$, $CD8^+$, limfosit B total dan sel *Natural Killer*) pada perempuan pascamenopause sehat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ryan-Borchers (2006) juga di Amerika Serikat, mendapatkan bahwa pemberian suplementasi 70mg isoflavon selama 16 minggu dapat meningkatkan populasi limfosit B dan dapat memberikan efek perlindungan terhadap *DNA damage* pada perempuan pascamenopause, tapi tidak memberikan pengaruh secara bermakna terhadap *interferon γ* , *interleukin 2*, *tumor necrosing factor α* , atau *C reactive protein* dalam plasma.

2.8 Penilaian simtom menopause

Symptoms atau gejala-gejala (sindroma) adalah indikasi suatu penyakit atau kelainan yang dikemukakan sendiri oleh pasien dan merupakan salah satu alasan yang membawa pasien berkonsultasi ke dokter, dan juga merupakan suatu ekspresi atau manifestasi subyektif dari adanya disfungsi fisik, psikologik atau sosial. Terdapat sedikit keraguan bahwa selain karena gejala-gejala vasomotor yang berkaitan dengan hormon estrogen, banyak perempuan selama masa transisi (perimenopause) dan datang ke klinik menopause mengalami berbagai disfungsi tersebut dengan manifestasi gejala fisik, psikosomatik dan psikologik secara berlebihan, yang dikenal juga sebagai simtom menopause (*menopausal symptoms*) atau sindroma klimakterik. Baik studi psikososial potong silang (*cross-sectional*) maupun longitudinal yang dilakukan pada populasi umum perempuan dengan simtom menopause menunjukkan bahwa gejala-gejala tersebut berhubungan dengan beberapa masalah psikososial dalam situasi kehidupan perempuan.

Kontak antara dokter dengan pasien dimulai pada saat pasien mengemukakan gejala yang dialaminya kepada dokter. Pada umumnya seseorang tidak datang ke klinik atau rumah sakit dengan suatu keluhan atau gejala berupa disfungsi fisik, psikologik atau sosial yang melatarbelakanginya, akan tetapi lebih merupakan pengalaman subyektifnya terhadap disfungsi yang terjadi, dan ini yang menjadi suatu yang disebut “gejala” dan dikeluhkan oleh mereka. Dengan

demikian, gejala merupakan ukuran hasil pengobatan yang penting, karena berkurang atau hilangnya gejala merupakan bukti bahwa pengobatan telah berhasil mengatasi disfungsi yang terjadi. Hal tersebut yang menjadi alasan bahwa gejala merupakan hal yang penting dan pengukuran gejala secara “reliable” dan bermakna merupakan hal yang mendasar dan perlu (Greene, 2002).

Banyak metode yang telah dikembangkan untuk menilai atau mengukur berat-ringannya gejala-gejala menopause pada seorang perempuan menopause atau perimenopause, tapi hanya sedikit yang mempunyai standar, validitas dan reliabilitas yang baik. Beberapa metode didasarkan pada pelaporan sendiri (*self-reports*) atas ada-tidaknya, berat-ringannya dan kekerapan (frekuensi) gejala-gejala individual tersebut, seperti *hot flashes*. Beberapa yang lain menggunakan skor kumulatif, berdasarkan daftar atau skala gejala yang diperkirakan mempunyai hubungan dengan menopause, seperti perubahan emosi (*mood*), kognisi, kualitas hidup, fungsi seksual dan gejala-gejala somatik. Gejala-gejala berupa hambatan daya ingat, gangguan konsentrasi, kecemasan, depresi, sulit tidur, keringat malam, gejalak panas, keluhan tulang dan persendian, dan pengurangan massa otot seringkali muncul dalam masa transisi.

Banyaknya gejala yang dipelajari dan metode yang digunakan, serta populasi masing-masing studi yang berbeda, menimbulkan kesulitan untuk membandingkan penelitian-penelitian yang menggunakan metode tersebut. Sebagian besar penelitian gagal untuk menyesuaikan atau mengelompokkan variabel yang penting dan potensial seperti umur, kelainan-kelainan yang sudah ada sebelumnya dan penggunaan terapi sulih hormon. Kebanyakan studi, termasuk yang bersifat *prospective cohorts*, melaporkan data potong silang (*cross sectional*) dan membandingkan hasil-hasil untuk kelompok premenopause, perimenopause dan pascamenopause, sementara penelitian lain membandingkan hasil pengukuran secara serial terhadap individu yang melalui tahapan-tahapan tersebut.

Skala pengukuran yang pertama kali diterima secara luas untuk mengukur beratnya keluhan-keluhan menopause adalah ***Kupperman Index***. Instrumen ini difokuskan terutama untuk mendapatkan gambaran gejala klimakterik yang dinilai atas dasar kesimpulan dokter terhadap keluhan-keluhan klimakterik yang

dikemukakan pasien, dan tidak memberi kesempatan kepada perempuan untuk menilai sendiri gejala-gejala yang dirasakannya.

Beberapa skala yang secara khusus digunakan untuk mengukur gejala klimakterik dengan cara yang standar sudah dikembangkan dan diterima secara luas, serta memenuhi beberapa kriteria berikut, yaitu bahwa skala pengukuran tersebut dirancang dengan basis analisis faktor; 2) terdiri dari beberapa sub-skala yang masing-masing mengukur aspek gejala menopause yang berbeda; 3) memiliki *sound psychometric properties*, yaitu mempunyai reliabilitas dan validitas yang baik dan 4) telah distandarisasi menggunakan populasi perempuan menopause.

Tabel 2.2. Struktur subskala dari masing-masing *menopause specific scale* (Greene, 2002)

Greene Climacteric Scale	Women Health Questionnaire	Menopause Symptom List	Menopause Rating Scale	Utian QoL Score
Vasomotor	Vasomotor	Vasosomatic	Somatovegetatif	Emosional
Somatic	Somatic	General Somatic	Urogenital	Occupational
Anxiety	Anxiety	Psychological	Psychological	Health
Depression	Depression			Sexual
	Cognitive			
	Sleep			
	Sex			
	Menstrual			

Saat ini terdapat lima skala pengukuran yang spesifik untuk menopause (*menopause specific scale*) yang sesuai dengan kriteria tersebut di atas dan sudah distandarisasi, yaitu : *The Greene Climacteric Scale*, *The Women's Health Questionnaire*, *The Menopausal Symptom List*, *The Menopause Rating Scale*, dan *The Utian Quality of Life Score*. (Greene, 2002).

Berikut adalah karakteristik dari masing-masing *menopause-specific-scale* :

Tabel 2.3. Characteristics of each standardized menopause-specific-scale (Greene, 2002)

<i>Name of scale</i>	<i>Number of items</i>	<i>Rating points</i>	<i>Rating measure</i>	<i>Number of subscales</i>	<i>Reliability of subscales</i>
Greene Climacteric Scale	21	4	Severity	4	0,83-0,87
Women's Health Questionnaire	32	2	Present or absent	8	0,78-0,96
Menopausal Symptom List	25	6	Frequency & severity	3	0,73-0,83
Menopause Rating Scale	11	5	Severity	3	0,74-0,82
Utian QoL Score	23	5	Severity	4	<i>Not available</i>

Menopause Rating Scale (MRS) disusun pertama kali di Jerman, telah dikembangkan dan divalidasi beberapa tahun yang lalu (1996) untuk mendapatkan suatu instrumen yang mapan yang dapat diisi dan dilengkapi oleh perempuan sendiri (Greene, 2002). Tujuan dari MRS ini adalah : (1) mendapatkan perbandingan gejala-gejala penuaan di antara kelompok-kelompok perempuan pada kondisi yang berbeda; (2) membandingkan beratnya gejala dari waktu ke waktu; dan (3) untuk mengukur perubahan yang terjadi antara sebelum dan sesudah pengobatan (*pre- and post-treatment*) (Heinemann, 2004). Instrumen ini dapat mengidentifikasi gejala atau keluhan menopause yang mencakup tiga dimensi, yaitu: psikologik, somato-vegetatif (vasomotor) dan faktor urogenital, terdiri dari 11 pertanyaan dengan rentang nilai 0 (tidak ada keluhan) sampai nilai 4 (keluhan berat sekali).

Menopause Rating Scale (MRS) merupakan salah satu instrumen atau alat ukur untuk mengukur kualitas hidup yang berhubungan dengan kesehatan (*health-related quality of Life = HRQoL*), karena profil keluhan-keluhan pada skala menopause ini penting sekali dan mampu menilai HRQoL pada perempuan dalam rentang usia tersebut (Greene, 2002; Schneider, 2002). Lagipula terdapat korelasi yang baik antara hasil yang didapat dengan skala MRS dan *generic QoL*. Instrumen ini telah diterjemahkan ke dalam beberapa bahasa dengan mengikuti kaidah-kaidah dari *International Methodological Recommendations for the*

Linguistic & Cultural Adaptation of HRQOL measures, termasuk di antaranya sudah diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia (Heinemann, 2003).

Menopause Rating Scale (MRS) ini juga mempunyai karakteristik psikometrik yang baik. Penggunaannya di banyak negara menawarkan kesempatan untuk membandingkan karakteristik psikometrik di antara beberapa negara. Penilaian reliabilitas (konsistensi dan stabilitas tes-retes) MRS memberikan hasil baik di semua negara di mana data-data tersebut dikumpulkan, meskipun hanya dapat digunakan sebagai informasi awal karena jumlah sampel sangat sedikit. Khusus di Indonesia, hasil uji reliabilitas terhadap MRS dengan melibatkan 1000 responden memberikan skor total $\alpha = 0,84$ (*internal consistency coefficients*) dan *test-retest correlation coefficient* sebesar 0,8. Hasil uji validitas MRS juga menunjukkan bahwa struktur internal MRS di beberapa negara mempunyai kesamaan dalam menyimpulkan bahwa skala MRS dapat mengukur fenomena yang ada dalam diri perempuan dengan keluhan-keluhan menopause. Korelasi antara skor total dan subtotal menunjukkan koefisien korelasi yang tinggi, dan hal ini menunjukkan bahwa penilaian subskala dalam pelaksanaannya tidak dapat sepenuhnya berdiri sendiri. Perbandingan antara nilai-nilai rujukan dari populasi yang berbeda menunjukkan bahwa skor MRS mudah dibandingkan antara Eropa dengan Amerika Utara. Perbandingan langsung antara Eropa dan Amerika dengan negara-negara Amerika Latin dan Asia (Indonesia) harus dilakukan dengan hati-hati karena beratnya gejala yang dilaporkan tidak sama. Perbandingan MRS dengan skala untuk gejala menopause lainnya (*Kupperman Index*) menunjukkan hubungan dan koefisien korelasi yang baik, menunjukkan *criterion-oriented validity* yang baik. Hal yang sama juga dapat diamati pada perbandingan MRS dengan *generic QoL SF-36* yang juga memberikan koefisien korelasi yang tinggi. Bukti-bukti metodologik yang ada saat ini menunjukkan bahwa MRS merupakan instrumen yang mempunyai reliabilitas dan validitas yang tinggi untuk mengukur dan membandingkan HRQoL (Greene, 2002).

2.9 Beberapa studi terdahulu tentang suplementasi *soy* isoflavon terhadap respons imun spesifik dan simtom menopause

Studi mengenai kualitas hidup (*quality of life*) selama menopause menunjukkan hasil yang saling bertentangan, beberapa menunjukkan adanya penurunan, yang lain bahkan menunjukkan adanya peningkatan, dan beberapa penelitian lain tidak menunjukkan adanya hubungan antara menopause dengan kualitas hidup perempuan. Penelitian kohort yang luas dapat memberikan informasi yang sangat bermanfaat mengenai transisi menopause (perimenopause) ini. Meskipun demikian, pengalaman individual dapat dipengaruhi oleh banyak faktor tambahan; di mana asal suku bangsa (etnik) dan budaya merupakan hal yang penting, akan tetapi masih belum jelas apakah faktor biologik atau sosiokultural-kah yang merupakan faktor terpenting. Genetik, diet harian, paritas, *body-mass index*, aktivitas fisik, dan paparan lingkungan yang berbeda pada kelompok etnik dan budaya, akan mempengaruhi transisi menopause (perimenopause) sebagaimana mereka melalui tahapan kehidupan reproduktif dan masalah kesehatan pada umumnya. Persepsi dan deskripsi gejala-gejala juga bervariasi dengan konteks budaya dan perbedaan bahasa.

Beberapa studi terdahulu di luar negeri pernah dilakukan untuk menilai pengaruh suplementasi *soy* isoflavon terhadap gejala-gejala menopause dan respons imun spesifik, dengan karakteristik subyek, dosis *soy* isoflavon dan jangka waktu pemberian yang berbeda-beda (Lethaby, 2007). Keluaran (*outcome*) yang dinilai pada umumnya adalah gangguan vasomotor (gejolak panas dan keringat malam). Ekstrak *soy* isoflavon yang terutama terdiri dari *daidzein*, *genistein* dan glukokonjugasi-nya menunjukkan efek campuran terhadap *hot flashes* pada uji yang menggunakan plasebo sebagai kontrol. Dari sembilan studi yang mempelajari tentang efektivitas ekstrak *soy* isoflavon, lima studi (yang membandingkan dengan plasebo) menunjukkan perbedaan yang bermakna. Tiga studi menunjukkan adanya penurunan dalam hal frekuensi gejolak panas dan keringat malam dan dua studi menunjukkan adanya penurunan dalam hal beratnya gejolak panas yang dirasakan (Nelson, 2006). Beberapa penelitian terhadap pemberian *soy* isoflavon dalam diet yang berbentuk minuman, bubuk, tepung,

protein, sereal atau muffin melaporkan adanya perbaikan dalam hal frekuensi *hot flashes*.

Beberapa penelitian yang menilai efektivitas *Red clover isoflavone* -yang mengandung *genistein*, *daidzein*, *formonotein* dan *biochanin*- menunjukkan adanya perbaikan dalam hal frekuensi dan beratnya *hot flashes* dibandingkan dengan pemakaian plasebo, akan tetapi beberapa penelitian lainnya tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna tersebut. Satu studi melaporkan keuntungan pemberian *red clover isoflavone* ini dalam hal penurunan beratnya gejala panas dan keringat malam yang dirasakan, yaitu hanya 15% di antara perempuan yang mengkonsumsi *red clover isoflavone* merasakan gejala panas dibandingkan dengan 98,1% perempuan yang mendapatkan plasebo. Di antara mereka yang mendapat *red clover isoflavone*, terdapat 30,2% perempuan yang masih mengalami keringat malam dibandingkan dengan 92,5% perempuan di antara mereka yang mendapat plasebo (Tice, 2003).

Perbedaan-perbedaan antar studi mungkin juga disebabkan karena inkonsistensi metode yang digunakan, atau karena perbedaan yang sesungguhnya di antara populasi. Beberapa penelitian terhadap faktor-faktor yang dapat mempengaruhi disfungsi vasomotor bersifat inkonklusif, tapi menyatakan bahwa beberapa hal seperti: *body-mass index*, *exercise*, usia dimulainya transisi menopause (perimenopause), kebiasaan merokok, depresi serta jumlah asupan isoflavon dalam makanan harian mungkin juga mempunyai implikasi.

Tabel 2.4 Beberapa penelitian pengaruh pemberian ekstrak soy-isoflavone (dengan kontrol plasebo) terhadap simtom menopause

Sumber	Jumlah Sampel	Kriteria Sampel	Terapi	Lama Percobaan	Hasil Penelitian	Efek merugikan	Kualitas Percobaan
Crisafulli et al, 2004	90	Menopause alamiah dengan gejala; usia rerata 51-52 th (range 47-57 th); subyek dgn riwayat osteoporosis di Italia	Genistein, 54 mg/hari Estradiol, 1mg/hari kombinasi dengan norethisterone	1 tahun	Penurunan frekuensi untuk genistein vs placebo (24% <i>mean difference</i> , $p<0,01$); penurunan dgn estrogen lebih drpd Genistein (30% <i>mean difference</i> , $p<0,05$)	7 org berhenti dari kelompok genistein, tidak ada perbedaan antar kelompok dalam hal ketebalan endometrium	Baik +
Duffy et al, 2003	36	Menopause, tidak ada kriteria gejala spesifik, umur rerata 57-59 tahun (rentang 50-65 th; Inggris)	Kapsul soy, 60 mg/hari isoflavon	12 minggu	Tidak ada perbedaan dalam komponen vasomotor dari <i>Greene Climacteric Score</i>	3 org berhenti karena penggunaan obat lain secara bersamaan	Buruk ++§
Faure Et al, 2002	75	≥ 7 gejala panas per hari, usia rerata 53-54 th, klinik di Perancis	Kapsul soy, 70mg/hari berisi genistein dan daidzein	16 minggu	Penurunan frekuensi dgn soy vs placebo (61% vs 21%, $p=0,01$)	6 org kel soy, 14 org dr kel placebo	Baik +
Han et al, 2002	82	Menopause alamiah dgn gejala panas; umur rerata 48-49 th (range 45-55 th); klinik ginekologi di Brazil	Kapsul soy, 3 kali sehari (masing-masing berisi 50mg protein kedelai, 23 mg genistein, 6 mg daidzein, dan 4 mg glycitein	5 bulan	Peningkatan skor Kupperman Index untuk gejala vasomotor antara soy dibanding placebo ($p<0,01$)	2 org berhenti, 1 org krn mual, dan 1 krn tdk ada respons; tidak ada perbedaan antar kelompok dalam ketebalan endometrium	Baik ++
MacGregor Et al, 2005	72	Menopause dgn gejala panas, semua penderita kanker payudara, 5% pengguna tamoxifen >5 bulan sebelumnya; usia rerata 33-70 th, Skotlandia	Kapsul soy 2 kali sehari (tiap kapsul berisi 17,5mg isoflavon)	12 minggu	Tidak ada perbedaan antar kelompok dalam hal beratnya gejala panas	22 org berhenti kebanyakan krn tdk ada respons, efek merugikan tidak berbeda antar kelompok	Baik ++

Sumber	Jumlah Sampel	Kriteria Sampel	Terapi	Lama Percobaan	Hasil Penelitian	Efek merugikan	Kualitas Percobaan
Nikander et al, 2003	62	Menopause dgn gejala panas; semua penderita kanker payudara dengan tamoxifen > 5 bulan, umur rerata 54 th (range 35-69 th); Finlandia	Tablet soy. 114 mg 3 kali sehari (36% daidzein, 6% genistein, 58% glycitein)	3 bulan, setiap fase tukar silang	Peningkatan seluruh Kupperman Index pada kedua kelompok dan perbaikan dalam intensitas gejala panas dibanding dgn placebo; tdk ada perbedaan antar kelompok Ψ	6 org berhenti, 2 krn nyeri perut dan 1 karena Ca Mammae pada kel Soy, 1 dgn perdarahan pervaginam pada kelompok plasebo	Baik $\dagger\ddagger\text{\$}$
Penotti et al, 2003	62	≥ 7 gejala panas per hari, usia rerata 53 th (range 45-60 th); klinik menopause di Italia	Tablet soy, 72 mg/hari (36 mg/hari isoflavone dan 48 mg /hari soy saponine	6 bulan	40% penurunan frekuensi pada kedua kelompok, tidak ada perbedaan antara kedua kelompok.	13 org berhenti : 1 org kel. Soy diare, yg lain mundur krn tdk ada respons, tdk ada perbedaan antar kel dalam hal ketebalan endometrium	Baik $\dagger\text{\$}$
Quella et al, 2000	177	≥ 14 gejala panas per minggu, semua dengan kanker payudara. 78% memakai tamoxifen ; usia mgunakan usia > 18 tahun, Amerika Serikat	Tablet soy, 600mg 3 kali sehari (masing2 dengan 4-45 % genistein, 40-45% daidzein, dan 10-20% glycitein	4 minggu, setiap fase tukar silang	Tidak ada perbedaan dlm frekuensi atau beratnya gejala di antara kedua kelompok; Ψ 36% placebo vs 24% tablet soy melaporkan penurunan frekuensi sampai setengahnya ($p=0,01$).	33 org berhenti , tdk ada perbedaan antara kedua kelompok	Baik $\text{\$}$
Scambia et al, 2000	39	Menopause, tdk ada kriteria menopause spesifik, usia rerata 54-55 th (range 49-63 th), Italia	Tablet soy, 400mg/hari (50mg/hari genistein & daidzein)	6 minggu	Penurunan frekuensi (40% vs 25%, $p<0,05$) dan komponen vasomotor dari Skala Climacteric Green dengan tablet soy vs plasebo	Tdk ada yg berhenti; tdk ada efek yg merugikan; tdk ada perbedaan dalam ketebalan endometrium	Buruk $\dagger\text{\$}$

Sumber	Jumlah Sampel	Kriteria Sampel	Terapi	Lama Percobaan	Hasil Penelitian	Efek merugikan	Kualitas Percobaan
Upmalis et al, 2000	177	≥5 gejala panas per hari, usia rerata 54-55 th, 15 negara bag. Amerika Serikat	Tablet soy, 50mg/hari genistein dan daidzein	12 minggu	Penurunan frekuensi gejala panas dan keringat malam pada kedua kelompok, tdk ada perbedaan antar kelompok, penurunan beratnya gejala panas dengan soy vs placebo (p=0,01)	55 org berhenti : 30 org kel soy dan 39 org kel placebo melaporkan efek merugikan ; pernafasan, pencernaan dan genital gejala seperti umumnya, tdk ada perbedaan antar kel dlm hal ketebalan endometrium,	Baik
Secreto et al, 2004	262	Menopause, tdk ada kriteria gejala yg spesifik; perempuan dgn kanker payudara termasuk (<25%), tdk ada pengguna tamoksifen, umur >35 tahun, 3 pusat penelitian di Italia	Soy isoflavone, 80mg/hari (50% daidzein, 35% glycitein, 15% genistein) dgn, 3 mg/hari melatonin soy isoflavon	3 bulan	Perbaikan komp vasomotor dr Greene Climacteric Scale pada semua kel: 69% placebo; 61% melatonin saja, 75% isoflavon saha, 62% isoflavon dan melatonin; tdk ada perbedaan antar kelompok,	20 org berhenti krn kejadian yg merugikan, lbh banyak drop out pada kel melatonin & placebo vs kel soy. Keluhan gasrointestinal paling banyak dilaporkan	Buruk †

Keterangan :

† : Jumlah dalam kelompok percobaan kurang dari 50 orang

‡ : Tidak ada data frekuensi

§ : Analisis inadekuat atau tidak dapat ditentukan

|| : Kurang dari 80% *follow up* atau tidak dilaporkan

Ψ : Data sebelum tukar silang tidak dilaporkan

2.10 Kerangka Teoritis

Menopause merupakan suatu peristiwa alamiah yang akan dialami oleh setiap perempuan dan terjadi karena penurunan kadar estrogen di dalam darah. Selain menyebabkan berhentinya haid, penurunan kadar estrogen tersebut juga dapat menimbulkan beberapa gangguan pada perempuan pre- dan pasca-menopause, berupa gejala-gejala menopause (*menopausal symptoms*) yang meliputi gangguan psikologik, vasomotor dan urogenital, serta penurunan imunitas tubuh yang terkait dengan meningkatnya kejadian penyakit infeksi dan juga terkait dengan kejadian beberapa penyakit degeneratif, seperti: penyakit jantung koroner, osteoporosis, demensia Alzheimer, serta penyakit keganasan. Selain karena penurunan kadar estrogen (yang juga bersifat sebagai imunomodulator), simtom menopause dan penurunan imunitas pada perempuan menopause dipengaruhi juga oleh faktor gizi kurang, proses penuaan (*ageing process*) dan apoptosis. Penurunan imunitas yang terjadi terutama berupa penurunan respons imun spesifik, baik pada komponen seluler maupun humoral.

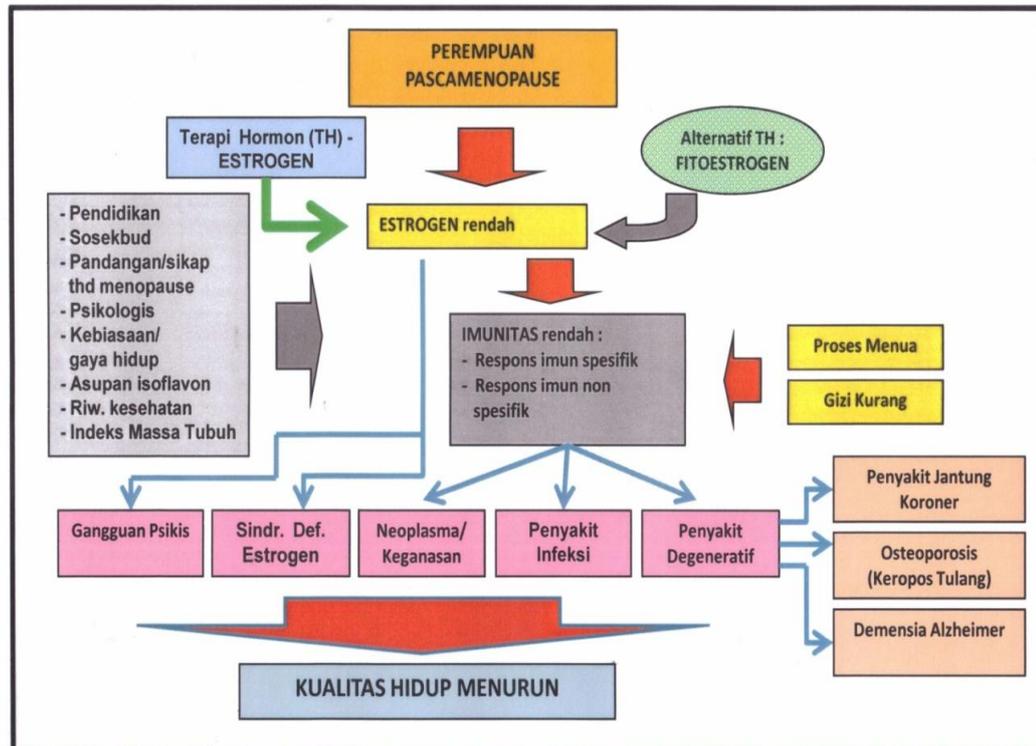
Berbagai gangguan tersebut dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup perempuan menopause yang secara demografis jumlahnya makin bertambah banyak di antara populasi penduduk di seluruh dunia termasuk Indonesia. Gangguan akibat atau terkait menopause ini merupakan masalah biopsikososial, karena tidak saja terkait masalah biomedik, tapi juga dipengaruhi atau mempunyai kaitan dengan faktor psikis, pendidikan dan pengetahuan, sosial-ekonomi, budaya dan kebiasaan atau gaya hidup yang melatar-belakangi perempuan yang mengalami menopause.

Sampai saat ini terapi hormon (TH), baik yang mengandung estrogen saja maupun kombinasi estrogen-progesteron, masih merupakan jenis terapi yang paling banyak digunakan untuk mengatasi berbagai gangguan menopause dengan tujuan meningkatkan kualitas hidup perempuan menopause. Akan tetapi akhir-akhir ini, karena munculnya beberapa temuan mutakhir yang mendapatkan adanya efek samping yang merugikan terutama berkaitan dengan risiko timbulnya keganasan pada penggunaan TH, maka dengan dukungan beberapa hasil penelitian, *isoflavon* -yang merupakan suatu *estrogen like substance* dan bersifat sebagai *selective estrogen receptor modulator (SERM)* dan dapat bekerja sebagai

pro- maupun *anti-estrogenik* serta antioksidan, mulai banyak dikonsumsi sebagai alternatif TH untuk mengatasi berbagai gangguan menopause, seperti: sindroma klimakterik, gangguan profil lipid dan osteoporosis. Selain karena kekhawatiran terhadap efek samping atau keamanan terapi hormonal, persyaratan dan persiapan yang rumit sebelum pemakaian, adanya beberapa kontraindikasi yang absolut maupun relatif, serta harga sediaan terapi hormon yang relatif mahal juga menjadi alasan mengapa terjadi peningkatan upaya-upaya untuk meneliti dan mengembangkan terapi alternatif terhadap terapi hormon (termasuk penggunaan fitoestrogen) sebagai upaya peningkatan kualitas hidup perempuan pascamenopause yang makin meningkat populasinya.

Mengingat harga fitoestrogen yang relatif murah dan bahkan mudah didapatkan dalam makanan harian, serta tidak dilaporkan adanya efek samping yang berarti dibandingkan dengan preparat estrogen yang digunakan dalam TH, timbul pemikiran untuk menggalakkan konsumsi fitoestrogen (*soy isoflavon*) pada perempuan peri- dan pascamenopause sebagai “terapi alternatif” untuk mengatasi gejala-gejala menopause (dampak jangka pendek), mencegah timbulnya gangguan yang terjadi pada masa pascamenopause akibatnya hilangnya estrogen di dalam darah (dampak jangka panjang), seperti penyakit kardiovaskular dan osteoporosis, serta berupaya meningkatkan respons imun yang menurun pada perempuan menopause sebagai akibat berkurangnya kadar estrogen di dalam tubuhnya. Dengan demikian diharapkan bahwa perempuan pascamenopause yang tidak mau, tidak boleh atau tidak mampu menggunakan TH, dapat menggunakan fitoestrogen sebagai alternatif.

KERANGKA TEORITIK



Gambar 2.5. Kerangka teoritik hubungan antara menopause dengan penurunan respons imun spesifik dan kejadian gejala-gejala menopause, serta kualitas hidup yang menurun

BAB 3

KERANGKA KONSEP, VARIABEL DAN BATASAN OPERASIONAL

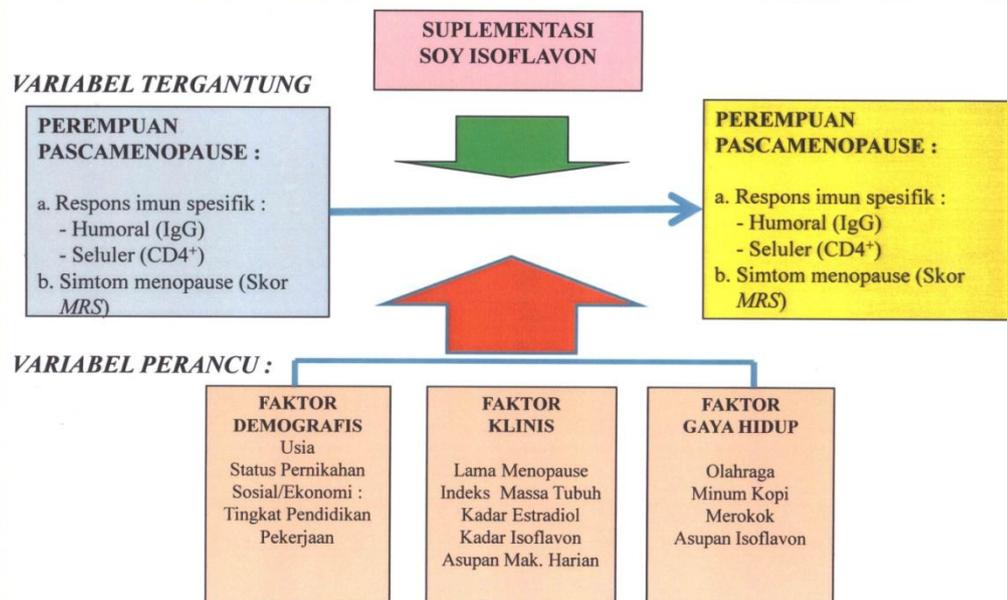
3.1. Kerangka Konsep

Berdasarkan kerangka teori sebagaimana yang telah disampaikan sebelumnya, disusun kerangka konsep penelitian yaitu soy-isoflavon yang merupakan suatu *estrogen like substance* diharapkan dapat menggantikan peran estrogen yang sudah rendah kadarnya pada perempuan pascamenopause. Soy-isoflavon diharapkan dapat meningkatkan respons imun spesifik (humoral dan seluler) serta menurunkan angka kejadian simptom menopause pada perempuan pascamenopause yang terjadi akibat multifaktor, yaitu antara lain: penurunan fungsi ovarium dan kelenjar thymus, serta organ-organ non hormonal lain yang terjadi terkait dengan proses penuaan dan apoptosis. Kerangka konsep penelitian ini adalah untuk menilai pengaruh suplementasi soy-isoflavon terhadap respons imun spesifik dan simptom menopause pada perempuan pascamenopause dan dapat dilihat pada gambar 3.1 di bawah ini.

Untuk menilai respons imun spesifik digunakan variabel kadar IgG (humoral) dan kadar $CD4^+$ (seluler), serta digunakan skor *Menopause Rating Scale* (MRS) untuk menilai simptom menopause, kesemuanya sebagai variabel tergantung yang dinilai sebelum dan sesudah suplementasi. Faktor-faktor demografis (usia, status pernikahan, sosial-ekonomi, tingkat pendidikan dan pekerjaan, faktor klinis (lama menopause, indeks massa tubuh, kadar estradiol, kadar isoflavon dan asupan makanan harian), dan faktor gaya hidup (olahraga, kebiasaan minum kopi, alkohol dan jumlah isoflavon dalam makanan harian) dianggap sebagai variabel perancu yang akan dikendalikan dengan randomisasi. Sebagai variabel bebas adalah suplementasi tablet soy-isoflavon 100 mg selama 12 minggu berturut-turut dengan dosis 1 tablet per hari.

KERANGKA KONSEP PENELITIAN :

VARIABEL BEBAS :



Gambar 3.1. Kerangka konsep pengaruh suplementasi soy isoflavon terhadap respons imun spesifik dan simtom menopause pada perempuan pascamenopause

3.2 Hipotesis

- 1) Suplementasi *soy isoflavon* 100 mg selama 12 minggu dapat meningkatkan respons imun spesifik humoral pada perempuan pascamenopause di Indonesia.
- 2) Suplementasi *soy isoflavon* 100 mg selama 12 minggu dapat meningkatkan respons imun spesifik seluler pada perempuan pascamenopause di Indonesia.
- 3) Suplementasi *soy isoflavon* 100 mg selama 12 minggu dapat menurunkan angka kejadian simtom menopause pada perempuan pascamenopause di Indonesia.

3.3 Deskripsi variabel dan definisi operasional

Variabel	Definisi operasional	Indikator/ Satuan	Skala	Metode	Keterangan/ Referensi
Respons imun spesifik humoral	Kadar IgG dalam serum	mg/dL	Rasio	Metode turbidimetri (dengan reagen Advia 1800 buatan ADVIA <i>Chemistry Systems – Bayer Health Care</i>), dan <i>Coefficient of Variation (CV)</i> 2,7%.	Laboratorium Klinik PRODIA
Respons imun spesifik seluler	Kadar CD4+ dalam serum	sel/ μ L	Rasio	Metode Flowcytometri (dengan reagen BD TriTest™ buatan Becton Dickinson – USA) dengan <i>Coefficient of Variation (CV)</i> 2,58%.	Laboratorium Klinik PRODIA
Simtom menopause	Sekumpulan gejala pada perempuan pra- dan pascamenopause terkait dengan penurunan kadar estrogen dalam tubuh, yang mencakup gejala: psikologik, vasomotor dan urogenital/seksual		Nominal	Wawancara dengan menggunakan kuesioner <i>Menopause Rating Scale (MRS)</i> , terdiri dari 11 butir pertanyaan (gejala) : - Gangguan psikologik : butir 4, 5, 6 dan 7 - Gangguan vasomotor : butir 1, 2, 3 dan 11 - Gangguan urogenital : butir 8, 9 dan 10 • Skor total MRS , bila jumlah skor 0 – 4 dianggap tidak ada simtom menopause, dan bila jumlah skor ≥ 5 dianggap ada simtom menopause • Kriteria (+) untuk masing-masing gangguan: a) gangguan psikologik : jumlah skor ≥ 2 b) gangguan vasomotor : jumlah skor ≥ 3 c) gangguan urogenital : jumlah skor ≥ 1	(Heinemann, 2004)

Variabel	Definisi operasional	Indikator/ Satuan	Skala	Metode	Keterangan/ Referensi
Usia	(jelas)	Tahun	Rasio	Umur subyek berdasarkan tanggal kelahiran yang tercantum dalam Kartu Tanda Penduduk (KTP)	
Status Pernikahan	(jelas)		Nominal	Berdasarkan data pada KTP dan konfirmasi dari subyek : 1) Nikah 2) Tidak nikah 3) Janda	
Sosial-ekonomi	Kondisi subyek dilihat dari: - Tingkat pendidikan		Ordinal	Wawancara/informasi dari subyek: 1) Rendah (\leq SD), 2) Sedang (SMP/SMA) dan 3) Tinggi (\geq D1)	
	- Pekerjaan		Nominal	Wawancara/informasi dari subyek : 1) Bekerja mencari nafkah 2) Tidak bekerja	
Olahraga	Gerak badan untuk menguatkan dan menyehatkan tubuh		Nominal	Wawancara/informasi dari subyek : 1) Ya, teratur (setiap hari) 2) Ya, tidak teratur (kadang-kadang) 3) Tidak pernah	
Merokok	Mengisap rokok tembakau jenis apapun		Nominal	Wawancara/informasi dari subyek : 1) Ya, berapa pun jumlah/frekuensi 2) Tidak sama sekali	
Minum kopi	Mengonsumsi minuman kopi jenis apapun		Nominal	Wawancara/informasi dari subyek : 1) Ya, berapa pun jumlah/frekuensi 2) Tidak sama sekali	

Variabel	Definisi operasional	Indikator/ Satuan	Skala	Metode	Keterangan/ Referensi
Indeks Massa Tubuh	Pengukuran antropometrik untuk penilaian status nutrisi dengan menggunakan formula atau kriteria yang ditentukan oleh Kementerian Kesehatan (dulu Departemen Kesehatan) RI		Rasio	<p>Indeks Massa Tubuh (IMT) = Berat badan (dalam kilogram) dibagi dengan tinggi badan (dalam meter persegi) → (kg/m²)</p> <p>Pengukuran berat badan dan tinggi badan dilakukan sesuai dengan cara yang sesuai Pedoman Pengukuran dan Pemeriksaan Riset Kesehatan Dasar 2007</p>	Balitbang Depkes, 2007
			Nominal	<p>Kriteria IMT Depkes RI :</p> <p>Kurus :</p> <ul style="list-style-type: none"> - kekurangan berat badan tingkat berat (IMT < 17,0 kg/m²) - kekurangan berat badan tingkat ringan (IMT 17,0 – 18,4 kg/m²) <p>Normal :</p> <ul style="list-style-type: none"> - IMT 18,5 – 25,0 kg/m² <p>Gemuk :</p> <ul style="list-style-type: none"> - kelebihan berat badan tingkat ringan (IMT 25,1 – 27,0 kg/m²) - kelebihan berat badan tingkat berat (IMT > 27,0 kg/m²) 	
Lama pascamenopause	Lama waktu sejak subyek mulai mengalami menopause (12 bulan tidak haid) sampai saat ini.	Tahun	Nominal	<p>Wawancara/konfirmasi dengan subyek :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Pascamenopause dini : menopause 1- 4 tahun 2) Pascamenopause lanjut : menopause ≥ 5 tahun 	STRAWS (Soules & colleagues, 2001)

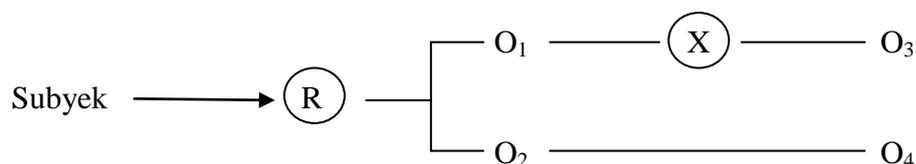
Variabel	Definisi operasional	Indikator/ Satuan	Skala	Metode	Keterangan/ Referensi
Kadar estradiol	Kadar estradiol dalam serum	pg/mL	Rasio	Penentuan kadar estradiol serum secara kuantitatif menggunakan metode <i>Electrochemiluminescence Immunoassay</i> "ECLIA" dari Cobas® dengan <i>Coefficient of Variation (CV)</i> 2,8%	Laboratorium Klinik PRODIA - Jakarta
Kadar isoflavon	Kadar isoflavon dalam serum	ng/mL	Rasio	Prosedur analisis untuk mengukur kadar isoflavon dalam plasma dilakukan dengan menggunakan alat instrumen <i>high performance liquid chromatography (HPLC)</i> atau kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)	Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Provinsi DKI Jakarta
Asupan Makanan Harian	Penilaian asupan makanan harian berdasarkan kualitas dan kuantitas bahan makanan yang dikonsumsi: - karbohidrat - lemak - protein - isoflavon	Gram	Rasio	Penilaian asupan makronutrien menggunakan : - <i>24 hour food recall method</i> - <i>Food record</i>	Dilakukan oleh petugas enumerator gizi terlatih dari SEAMEO – Departemen Gizi FKUI
		Quintile (Q ₁ – Q ₅)	Ordinal	Penilaian kualitas dan kuantitas asupan isoflavon dalam makanan menggunakan <i>Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire (SQ-FFQ)</i>	

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang dilakukan dengan desain *community-based double blind randomized controlled trial* untuk menilai ada atau tidaknya pengaruh suplementasi *soy-isoflavin* 100mg selama 12 minggu terhadap respons imun spesifik humoral dan seluler, serta pengaruhnya terhadap simptom menopause pada perempuan pascamenopause.



Keterangan :

R = randomisasi; O = observasi; X = intervensi;

O1 dan O2 = pra-suplementasi; O3 dan O4 = pasca-suplementasi

Sumber : *Campbell dan Stanley*, 1996.

Gambar 4.1 Diagram desain penelitian

4.2 Populasi dan subyek penelitian

Populasi target penelitian ini adalah perempuan yang sudah mengalami menopause (minimal satu tahun tidak pernah mengalami haid). Berdasarkan data dari Biro Pusat Statistik (2005) proporsi jumlah perempuan menopause di 5 (lima) wilayah DKI Jakarta hampir sama, berkisar antara 10-15% dari total jumlah perempuan di masing-masing wilayah. Penelitian ini dilakukan di wilayah Jakarta Selatan, yang pemilihannya sebagai tempat penelitian dilakukan secara *purposive sampling*. Para calon subyek penelitian direkrut melalui suatu pemberitahuan di Pusat Kesehatan Masyarakat tingkat Kecamatan dan Kelurahan dengan bantuan para kader yang berasal dari wilayah di mana penelitian ini dilakukan.

Kriteria subyek yang dilibatkan dalam penelitian ini (kriteria inklusi) adalah: perempuan pascamenopause dengan usia antara 48 - 60 tahun; sehat (dapat menjalankan aktivitas sehari-hari secara mandiri dan berkomunikasi dengan baik, tidak menderita atau sedang dalam pengobatan penyakit hati, jantung, tekanan darah tinggi dan kencing manis); tidak mengkonsumsi obat-obatan hormonal yang berkaitan dengan masalah menopause dalam 3 (tiga) bulan terakhir dan bersedia untuk tidak mengkonsumsi vitamin/mineral lain selama 12 minggu masa konsumsi suplemen, tidak pernah menjalani operasi histerektomi dan/atau ooforektomi, serta bersedia mengikuti penelitian ini setelah mendapat penjelasan seperlunya dan menandatangani lembar *informed consent*. Subyek sewaktu-waktu dapat menyatakan berhenti atau mengundurkan diri dari kegiatan penelitian ini dengan alasan apapun. Sedangkan kriteria eksklusi subyek penelitian ini adalah mempunyai riwayat penyakit kencing manis (diabetes mellitus), ginjal, hati, penyakit jantung dan tekanan darah tinggi.

4.3 Besar sampel dan cara pengambilan sampel

4.3.1 Besar sampel

Sampel dalam penelitian ini dibagi dalam 2 kelompok besar yang independen, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Besar sampel tiap kelompok dari dua kelompok independen tersebut di atas dihitung dengan menggunakan rumus untuk pengujian hipotesis perbedaan rerata dua kelompok independen (Lemeshow et al., 1997) :

$$n = 2 \left[\frac{(z_{\alpha} + z_{\beta}) s}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)} \right]^2 * \text{efek desain}$$

S	= simpang baku kedua kelompok
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	= perbedaan klinis yang diinginkan (δ)
$\alpha = 0,05$	$\rightarrow z_{\alpha} = 1,96$
$\beta = 20\%$	$\rightarrow z_{\beta} = 0.84$

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu tentang pengaruh pemberian *soy* isoflavone terhadap fungsi imun pada perempuan pascamenopause sehat

(Ryan-Borchers et al., 2006) dengan melakukan penilaian terhadap kadar $CD4^+$ dalam plasma darah, dengan simpang baku (S) = 6,9 dan *effect size* (δ) yang diharapkan sesudah intervensi selama 3 bulan pemberian soy isoflavon adalah sebesar 15%, maka didapatkan besar sampel untuk tiap kelompok sebesar $n = 12$ subyek.

Dengan asumsi bahwa akan terjadi *drop-outs* pada sekitar 20% subyek selama penelitian, maka besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok adalah sebesar :

$$n = \frac{1}{1 - 0,2} \times 12 = 15 \text{ subyek}$$

Berdasarkan perhitungan di atas dan efek desain (*design effect*) = 2, dibutuhkan sebanyak 30 subyek untuk tiap kelompok perlakuan dan kontrol, maka besar sampel yang dibutuhkan secara keseluruhan (total) adalah sebesar 60 (enampuluh) perempuan pascamenopause.

4.3.2 Cara pengambilan sampel

Penelitian eksperimental ini dilakukan terhadap populasi di tingkat masyarakat di wilayah kerja Pusat Kesehatan Masyarakat Kecamatan Mampang Prapatan Jakarta Selatan yang sudah mapan dalam sistem kerja dan dukungan logistiknya. Penetapan Kecamatan Mampang Prapatan sebagai area penelitian dilakukan menggunakan teknik *purposive sampling*. Sebagaimana umumnya data kependudukan yang ada di Indonesia, maupun data dari instansi kesehatan pemerintah, data dari Suku Dinas Kesehatan Jakarta Selatan tidak dapat memberikan gambaran secara spesifik jumlah perempuan pascamenopause di wilayahnya, sehingga data perempuan pascamenopause harus dilihat dari jumlah perempuan dari data kependudukan yang berusia antara 45-59 tahun, yaitu pada usia berapa umumnya perempuan Indonesia mengalami menopause, kemudian dilakukan pendataan secara langsung oleh para kader kesehatan yang berperan sebagai petugas lapangan dalam penelitian ini untuk

mendapatkan informasi tentang pengalaman menopause dari para perempuan tersebut di atas.



Gambar 4.2 Diagram prosedur pengambilan sampel

Kecamatan Mampang Prapatan terdiri dari 6 (enam) Kelurahan, dan sebanyak 4 (empat) Kelurahan dilibatkan dalam kegiatan penelitian ini, yaitu: Kel. Kuningan Barat, Kel. Mampang Prapatan, Kel. Tegal Parang dan Kel. Pela Mampang. Satu kelurahan tidak dilibatkan karena sebagian besar wilayahnya bukan merupakan tempat tinggal dan mempunyai latar belakang sosial ekonomi menengah sampai tinggi, dan satu kelurahan lainnya tidak dilibatkan karena kesulitan teknis, yaitu tidak adanya kader kesehatan yang dapat membantu pelaksanaan penelitian di lapangan. Kelurahan terdiri dari beberapa Rukun Warga (RW), dan setiap RW terdiri dari beberapa Rukun Tetangga (RT). Dari data yang ada, dalam setiap RT rata-rata terdapat sekitar 6 – 8 perempuan pascamenopause, sehingga dengan besar sampel yang dibutuhkan sebanyak 60 orang maka dibutuhkan 16 wilayah RT. Di setiap kelurahan pemilihan RW dilakukan secara *cluster random sampling* untuk mendapatkan jumlah RW yang dibutuhkan. Dari empat kelurahan yang dipilih secara cluster random sampling 2 (dua) wilayah Rukun Warga (RW) dan dari setiap RW yang terpilih masing-masing dipilih 2 wilayah Rukun Tetangga (RT). Dari pendataan awal yang dilakukan di 16 wilayah RT terpilih didapatkan

sebanyak 109 perempuan pascamenopause yang berusia 48 – 60 tahun. Selanjutnya sejumlah perempuan pascamenopause yang dilibatkan dalam penelitian ini dipilih secara *simple random sampling* di tingkat RT sampai didapat 60 subyek, yang jumlahnya di tiap RT ditentukan secara proporsional.

Tabel 4.1 Jumlah dan alokasi subyek penelitian

Kelurahan	Rukun Warga	Rukun Tetangga	Jumlah perempuan pascamenopause	
			A	B
Kel. Kuningan Barat	RW 03	RT 01	7	$7/109 \times 60 = 4$
		RT 05	6	$6/109 \times 60 = 3$
	RW 05	RT 07	6	$6/109 \times 60 = 3$
		RT 09	8	$8/109 \times 60 = 5$
Kel. Mampang Prapatan	RW 01	RT 04	7	$7/109 \times 60 = 4$
		RT 06	7	$7/109 \times 60 = 4$
	RW 05	RT 09	6	$6/109 \times 60 = 3$
		RT 12	7	$7/109 \times 60 = 4$
Kel. Tegal Parang	RW 05	RT 02	7	$7/109 \times 60 = 4$
		RT 05	6	$6/109 \times 60 = 3$
	RW 07	RT 04	7	$7/109 \times 60 = 4$
		RT 08	8	$8/109 \times 60 = 5$
Kel. Pela Mampang	RW 01	RT 06	6	$6/109 \times 60 = 3$
		RT 07	6	$6/109 \times 60 = 3$
	RW 12	RT 03	7	$7/109 \times 60 = 4$
		RT 04	8	$8/109 \times 60 = 4$
Jumlah			109	60

Keterangan :

A : Jumlah perempuan pascamenopause usia 48 – 60 tahun di tingkat RT

B : Jumlah perempuan pascamenopause usia 48 – 60 tahun yang dibutuhkan

Calon subyek penelitian, yaitu perempuan pascamenopause yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi, dipilih secara acak (random) dari daftar yang ada di tiap RT. Subyek yang potensial selanjutnya didatangi oleh kader dan penyelia (*supervisor*) dan diberikan penjelasan mengenai kegiatan penelitian ini. Kalau mereka (subyek potensial) berminat, mereka ditanya apakah mereka bersedia atau tidak untuk menjalani pemeriksaan, terutama 2 (dua) kali pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan laboratorium imunologik dan mengkonsumsi suplemen yang diberikan selama 12 minggu berturut-turut. Mereka yang bersedia selanjutnya diminta untuk memberikan pernyataan kesediaannya dengan membubuhkan tanda tangan atau cap jempol pada lembaran *informed consent*.

4.5 Pemberian suplementasi

4.5.1 Randomisasi

Penelitian eksperimental dengan desain *randomized controlled trial* (RCT) ini dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan pertengahan April 2010, dan menggunakan Pusat Kesehatan Masyarakat sebagai basis studi. Proses pendataan dan rekrutmen subyek dilakukan sejak bulan November 2009. Untuk meminimalkan efek bias pada hasil penelitian, pemberian perlakuan dilakukan secara *double-blind* (tersamar ganda), sehingga subyek yang terbagi dalam 2 (dua) kelompok A dan B, peneliti dan semua petugas di lapangan yang terlibat dalam penelitian ini sama-sama tidak mengetahui mana subyek yang mendapat fitoestrogen *soy* isoflavon (kelompok perlakuan) dan mana subyek yang mendapat “plasebo” (kelompok kontrol). Untuk menentukan subyek penelitian mana yang mendapat perlakuan dan subyek mana yang merupakan kontrol berdasarkan peluang dilakukan proses randomisasi atau alokasi acak dengan bantuan program komputer *random number generator* (*Microsoft Excel*). Pada penelitian ini, peneliti memilih untuk melakukan randomisasi blok (*block randomization*) dengan *block size* sebesar 4 terhadap 60 subyek. Hal ini berarti pada setiap blok terdapat 2 subyek dengan perlakuan isoflavon dan 2 subyek dengan perlakuan sebagai kontrol.

4.5.2 Intervensi

Intervensi dilakukan dengan memberikan 2 (dua) macam tablet suplemen, yaitu tablet dengan label A untuk subyek kelompok A dan tablet dengan label B untuk subyek kelompok B, selama 12 (duabelas) minggu berturut-turut dengan dosis 1 x 1 tablet sehari.

Pembuatan tablet suplemen dilakukan oleh perusahaan industri farmasi PT Ikapharmindo Putramas dengan izin khusus dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM-RI). Masing-masing jenis tablet suplemen diberi label A dan B oleh PT Ikapharmindo Putramas, yaitu salah satu jenis tablet mengandung 250 mg *soybean* isoflavon 40% (setara dengan 100 mg *soy* isoflavon) + 500 mg kalsium

dan jenis tablet lainnya hanya mengandung 500 mg kalsium saja (Sertifikat Analisis terlampir). Bahan baku *soybean* isoflavon yang digunakan untuk pembuatan tablet suplemen diimpor oleh PT Ikapharmindo Putramas dari Hangzhou - Republik Rakyat China (Sertifikat Analisis terlampir). Informasi tentang kandungan tablet label A dan B disampaikan oleh PT Ikapharmindo Putramas secara tertutup kepada promotor/kopromotor dan tidak diketahui oleh peneliti selama penelitian berlangsung. Informasi baru diberitahukan oleh promotor kepada peneliti sesudah penelitian lapangan dan *data entry* selesai, yaitu pada tanggal 22 Oktober 2010.

Kedua jenis tablet suplementasi tidak dapat dibedakan dalam hal bentuk, warna, bau dan rasa, serta dikemas dalam botol dari bahan gelas berwarna coklat, yang mana tiap botol berisi 28 tablet dan diberi label A atau B serta mencantumkan informasi mengenai dosis. Setiap tablet diberikan oleh kader kepada semua subyek setiap hari melalui kunjungan rumah, kecuali suplementasi untuk hari Minggu (libur) diberikan sekaligus pada hari Sabtu. Penentuan subyek diberikan suplemen A atau B dilakukan oleh peneliti sesuai dengan tabel random yang telah disusun (lihat lampiran).

4.5.3 Kepatuhan (*compliance*) terhadap prosedur kegiatan penelitian

Setiap hari kader memberikan suplementasi kepada setiap subyek dan menunggu sampai subyek mengkonsumsi suplemen tersebut. Setiap 4 (empat) minggu, kepatuhan akan dinilai oleh peneliti dan penyelia lapangan (*field supervisor*). Jumlah kaplet yang tersisa dalam botol akan dihitung untuk mengetahui berapa hari dalam sebulan subyek mengkonsumsi suplemen tersebut. Kepatuhan yang dibutuhkan dalam penelitian ini minimal 90% (sembilan puluh persen) dari total suplemen dikonsumsi oleh subyek dalam jangka waktu yang sudah ditentukan, yaitu sebanyak 75 kapsul dari total 84 kapsul yang seharusnya dikonsumsi. Kalau jumlah kapsul yang dikonsumsi kurang dari 90% atau subyek tidak mengkonsumsi suplemen lebih dari 2 (dua) minggu berturut-turut dalam

12 (duabelas) minggu masa pemberian suplemen, maka subyek harus dikeluarkan dari daftar subyek penelitian (*drop out/putus-serta*).

Pemantauan kepatuhan subyek untuk mengkonsumsi tablet suplementasi dilakukan oleh kader setiap hari pada saat kunjungan rumah, untuk menjamin bahwa subyek mengkonsumsi tablet suplemen setiap hari secara konsisten.

Di bawah pengawasan penyelia lapangan, kader memantau dan mencatat setiap subyek penelitian, menggunakan formulir *checklist*, baik dalam hal kepatuhan dalam hal konsumsi suplemen, morbiditas, atau kemungkinan adanya efek samping yang dialami subyek, yang diobservasi dan dicatat oleh kader pada saat kunjungan rumah setiap hari. Pada setiap kunjungan harian, kader harus mengisi formulir dengan menggunakan tanda silang (X) pada tiap kolom untuk setiap hari dan tanggal saat subyek mengkonsumsi suplemen. Pengecekan silang secara acak terhadap kepatuhan subyek mengkonsumsi suplemen pada kedua kelompok dilakukan oleh peneliti dan penyelia lapangan setiap bulan, sehingga kurang lebih sebanyak 10% dari seluruh subyek dikunjungi ke rumah oleh peneliti dan penyelia lapangan.

4.5.4 Pemantauan distribusi dan administrasi suplemen

Botol-botol berisi suplemen untuk jatah 4 (empat) mingguan diletakkan dalam sebuah kotak penyimpanan tersebut dari plastik, diserahkan kepada kader dan menjadi tanggung jawab masing-masing kader. Penyelia lapangan akan membagikan kotak penyimpanan baru berisi suplemen setiap bulan bersama dengan formulir *checklist* kepada tiap kader, sekaligus mengumpulkan kotak penyimpanan yang sudah kosong dan mengisi *checklist* setiap bulan. Subyek yang secara kebetulan pergi ke tempat lain karena alasan apapun, misalnya kunjungan keluarga, sehingga tidak dapat mengkonsumsi suplemen, dikunjungi oleh kader pada hari berikutnya sesudah subyek kembali ke rumahnya.

Setiap kejadian yang berkaitan dengan kesehatan subyek, baik yang berhubungan dengan pemberian suplemen atau tidak (*adverse event*)

yang terjadi dilaporkan dan dicatat oleh kader pada saat kunjungan rumah. Kalau sekiranya subyek membutuhkan pengobatan akibat *adverse event*, maka subyek segera dirujuk ke Puskesmas Kecamatan Mampang Prapatan.

4.6. Prosedur pengumpulan data

Kader yang sudah terlatih mengumpulkan data dasar, berupa: identitas, karakteristik demografik dan status sosial ekonomi menggunakan teknik wawancara dengan kuesioner *pre-coded*: nama, umur saat ini dan umur saat menopause, lama menopause, status pernikahan, tingkat pendidikan, riwayat kesehatan, aktivitas fisik, merokok dan kebiasaan minum kopi.

Subyek diminta mengisi sendiri kuesioner *Menopause Rating Scale (MRS)* untuk menilai simtom menopause perempuan pascamenopause. MRS yang digunakan dalam penelitian ini sudah resmi diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia dengan mengikuti kaidah-kaidah dari *International Methodological Recommendations for the Linguistic & Cultural Adaptation of HRQOL measures*, dan sudah diujicobakan di Indonesia dengan melibatkan 1000 responden. Hasil uji reliabilitas terhadap MRS memberikan skor total $\alpha = 0,84$ (*internal consistency coefficients*) dan *test-retest correlation coefficient* sebesar 0,8 (Heinemann, 2003).

Dilakukan pencatatan dan perhitungan asupan makanan (karbohidrat, lemak, protein dan isoflavon) oleh petugas enumerator gizi terlatih, yang dinilai berdasarkan kualitas dan kuantitas bahan makanan yang dikonsumsi. Penilaian asupan makanan makronutrien (karbohidrat, lemak dan protein) menggunakan *24-hour food recall method*, yaitu dengan melakukan wawancara tentang jenis makanan dan jumlahnya dalam ukuran rumah tangga dan model makanan yang dikonsumsi dalam 24 jam terakhir, dilakukan 2 kali dengan jarak sekitar 1 minggu dan dihitung nilai reratanya. Selain itu juga dilakukan penilaian dengan menggunakan metode *Food Record*, yaitu subyek atau responden

menuliskan atau mencatat sendiri makanan apa yang dimakan dalam satu hari, dilakukan untuk 3 hari dalam seminggu, yaitu 2 hari kerja dan 1 hari libur (Sabtu atau Minggu). Penilaian kualitas dan kuantitas asupan isoflavon dalam makanan didasarkan atas kelengkapan makanan yang mengandung *soy isoflavon* dan frekuensi konsumsinya dalam satu minggu menggunakan *Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire (SQ-FFQ)*, yang berisi daftar makanan yang mengandung isoflavon. Ukuran porsi makanan dicatat dengan menggunakan istilah rumah-tangga yang kemudian dikonversikan ke dalam ukuran berat dalam gram. Subyek dikelompokkan berdasarkan asupan isoflavon dalam makanan menjadi kelompok quintile, yaitu : Q₁ sampai Q₅, Q₁ dianggap sebagai subyek dengan asupan isoflavon dalam makanan yang kurang, sedangkan Q₂ – Q₅ dianggap sebagai subyek dengan asupan isoflavon makanan yang cukup.

Pemeriksaan tekanan darah sistolik dan diastolik dilakukan pada subyek setelah diistirahatkan dahulu selama ± 5 menit, dan pastikan responden tidak menahan berkemih. Pengukuran pada responden dalam posisi duduk dengan lengan atas diletakan diatas meja. Pengukuran tekanan darah dilakukan oleh tenaga perawat kesehatan terlatih dengan menggunakan sfigmomanometer air raksa dan stetoskop merek Riester. Bunyi Korotkoff 1 dinilai sebagai tekanan darah sistolik (TDS) dan Korotkoff 5 sebagai tekanan darah diastolik (TDD). Tekanan darah diukur sebanyak 3 kali dimana rata-rata dari 2 kali pengukuran terakhir diambil sebagai nilai tekanan darah subyek penelitian. Frekuensi denyut nadi dihitung dengan meraba denyut nadi di lengan bawah dekat pergelangan tangan selama 60 detik.

Pengukuran antropometri: dilakukan perhitungan **Indeks Massa Tubuh (IMT)** untuk menilai status nutrisi dengan menggunakan formula *IMT = berat badan dalam satuan kilogram dibagi dengan tinggi badan dalam satuan meter persegi*. Berat badan ditimbang dengan menggunakan timbangan berat badan digital merek AND dengan kapasitas 150 kg dan ketelitian 50 gram, menggunakan baterai alkaline AAA sebanyak 2 buah. Subyek menggunakan pakaian minimal dan berdiri tegak di atas alas

timbangan. Tinggi badan diukur dengan pengukur tinggi badan Microtoise dengan kapasitas ukur 2 meter dan ketelitian 0,1cm. Subyek diminta melepaskan alas kaki dan topi/penutup kepala, posisi berdiri tegak dan pandangan lurus ke depan. Pengukuran berat badan dan tinggi badan dilakukan sesuai dengan Pedoman Pengukuran dan Pemeriksaan Riset Kesehatan Dasar 2007 (Balitbang Depkes, 2007).

Indeks Massa Tubuh (IMT) : Berat badan (dalam kilogram) dibagi dengan tinggi badan (dalam meter persegi) \rightarrow (kg/m²)

Kriteria IMT untuk Indonesia (Depkes RI)

Kurus :

- kekurangan berat badan tingkat berat (IMT < 17,0 kg/m²)
- kekurangan berat badan tingkat ringan (IMT 17,0 – 18,4 kg/m²)

Normal : IMT 18,5 – 25,0 kg/m²

Gemuk :

- kelebihan berat badan tingkat ringan (IMT 25,1 – 27,0 kg/m²)
- kelebihan berat badan tingkat berat (IMT > 27,0 kg/m²)

Pemeriksaan laboratorium: sebelum dilakukan intervensi, semua subyek penelitian pada kedua kelompok (kontrol dan perlakuan) akan diambil sampel darahnya (dari pembuluh darah vena) masing-masing sebanyak 10 cc oleh petugas laboratorium terlatih dari Laboratorium Klinik PRODIA, dan dilakukan pengukuran terhadap isoflavon dalam plasma kadar CD4⁺ dan Imunoglobulin G (IgG) dalam plasma darah sebagai data dasar. Prosedur analisis untuk mengukur kadar isoflavon dalam plasma dilakukan dengan menggunakan alat instrumen *high performance liquid chromatography* (HPLC) atau kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dilakukan oleh petugas analis kimia di Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Provinsi DKI Jakarta.

Pemeriksaan laboratorium untuk mengukur kadar Imunoglobulin G (IgG) dilakukan oleh Laboratorium Klinik PRODIA dengan menggunakan metode turbidimetri (dengan reagen Advia 1800 buatan ADVIA *Chemistry Systems – Bayer Health Care*), dan *Coefficient of Variation (CV)* 2,7%.

Sedangkan pemeriksaan kadar CD4⁺ dilakukan oleh Laboratorium RS Kanker Dharmais dengan menggunakan metode Flowcytometri (dengan reagen BD TriTestTM buatan Becton Dickinson – USA) dengan *Coefficient of Variation (CV)* 2,58%. Pemeriksaan laboratorium tersebut di atas dilakukan oleh laboratorium yang telah lulus sertifikasi ISO 9001:2000 dan ISO 9001:2008.

Sesudah dilakukan intervensi selama 12 (duabelas) minggu berturut-turut, dilakukan pemeriksaan kembali kadar CD4⁺ dan IgG dalam plasma terhadap setiap subyek dalam kelompok perlakuan dan kontrol.

4.7 Etika penelitian dan persetujuan setelah penjelasan (*informed consent*)

Penelitian ini telah mendapat persetujuan (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia sebelum mulai dilaksanakan. Pelaksanaan penelitian ini di wilayah Kecamatan Mampang Prapatan telah mendapat persetujuan dari Pimpinan Dinas Kesehatan DKI Jakarta, Suku Dinas Kesehatan Jakarta Selatan dan Puskesmas Kecamatan Mampang Prapatan.

Semua subyek yang memenuhi persyaratan untuk diikutsertakan dalam penelitian ini telah mendapat penjelasan terlebih dahulu mengenai: tujuan kegiatan penelitian ini, hal-hal yang dilakukan terhadap dan oleh subyek, serta hal yang dapat dialami subyek selama penelitian ini, keuntungan dan kerugian mengikuti kegiatan penelitian, serta kemungkinan efek samping yang mungkin timbul akibat intervensi dan apa yang dapat serta akan dilakukan untuk mengatasi efek samping tersebut.

Sesudah mendapat penjelasan mengenai hal-hal tersebut di atas, mereka yang bersedia mengikuti kegiatan penelitian ini menyatakan kesediaannya dan menandatangani lembar *informed consent*. Setiap saat subyek dapat berhenti mengikuti penelitian tanpa dikenakan sanksi apapun.

4.8 Manajemen, pengolahan dan analisis data

Semua subyek penelitian diidentifikasi dengan kode angka yang spesifik. Penomoran dengan kode ini dibutuhkan oleh kader dan penyelia lapangan untuk memastikan pemantauan yang adekuat selama kegiatan penelitian dan menjamin kerahasiaan.

Pada saat memindahkan data dari penyelia lapangan kepada penanggungjawab data, hanya orang tertentu saja yang memiliki akses untuk mengetahui data personal subyek. Nomor kode yang diberikan kepada setiap subyek digunakan juga pada setiap dokumentasi penelitian. Data yang dikumpulkan oleh kader secara aman disimpan dalam sebuah map khusus untuk tiap subyek dan diletakkan dalam lemari terkunci oleh peneliti. Semua data diserahkan secara mingguan oleh penyelia lapangan kepada penanggung jawab data. Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini disimpan dan diolah dengan program komputer. Peneliti melakukan validasi data dan memberikan masukan umpan balik kepada penyelia lapangan bila didapatkan adanya inkonsistensi data untuk dapat dikoreksi. Koordinator atau penanggungjawab data memasukkan data (*data entry*) segera setelah data diterima dari lapangan dan memberitahukan kepada penyelia lapangan bila ada data-data yang *missing*, dan juga berkewajiban untuk menyimpan semua data yang ada sampai seluruh kegiatan penelitian ini selesai dilaksanakan. Semua subyek yang telah menyelesaikan penelitian ini akan diikutkan dalam analisis data (deskriptif dan analitik).

Variabel yang dilibatkan dalam uji analitik, yaitu : pemberian suplemen (+/-) sebagai variabel independen, sedangkan variabel **dependennya** adalah : kadar Imunoglobulin G (IgG), CD4⁺ dan simtom menopause (skor MRS). Variabel lain **perancu** : faktor demografik (usia, status pernikahan, status sosial/ekonomi), faktor kebiasaan/gaya hidup (kebiasaan olahraga, minum kopi, minum alkohol), faktor klinik (lama menopause, indeks massa tubuh, kadar estradiol dan kadar isoflavon serum, asupan isoflavon dalam makanan).

Semua data karakteristik dianalisis secara kuantitatif menggunakan statistik deskriptif. Pengolahan dan analisis data penelitian ini

menggunakan piranti lunak komputer *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versi 17. Data diuji untuk distribusi normalnya menggunakan **uji normalitas Kolmogorov-Smirnov**. Dilakukan uji komparabilitas data-data karakteristik antar subyek kelompok isoflavon dan kontrol. Untuk mengetahui adanya perbedaan efek pada kelompok isoflavon dan kontrol digunakan teknik analisis **uji-t untuk 2 kelompok independen**. Dilakukan juga **analisis multivariat regresi linier** dan **logistik** untuk mengetahui peran karakteristik klinik subyek terhadap kadar IgG, CD4⁺ dan simtom menopause.

Uji **chi square** atau uji **eksak Fisher** dilakukan untuk menilai ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna secara statistik jumlah subyek yang mengalami gangguan menopause sebelum dan sesudah suplementasi antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol.

BAB 5

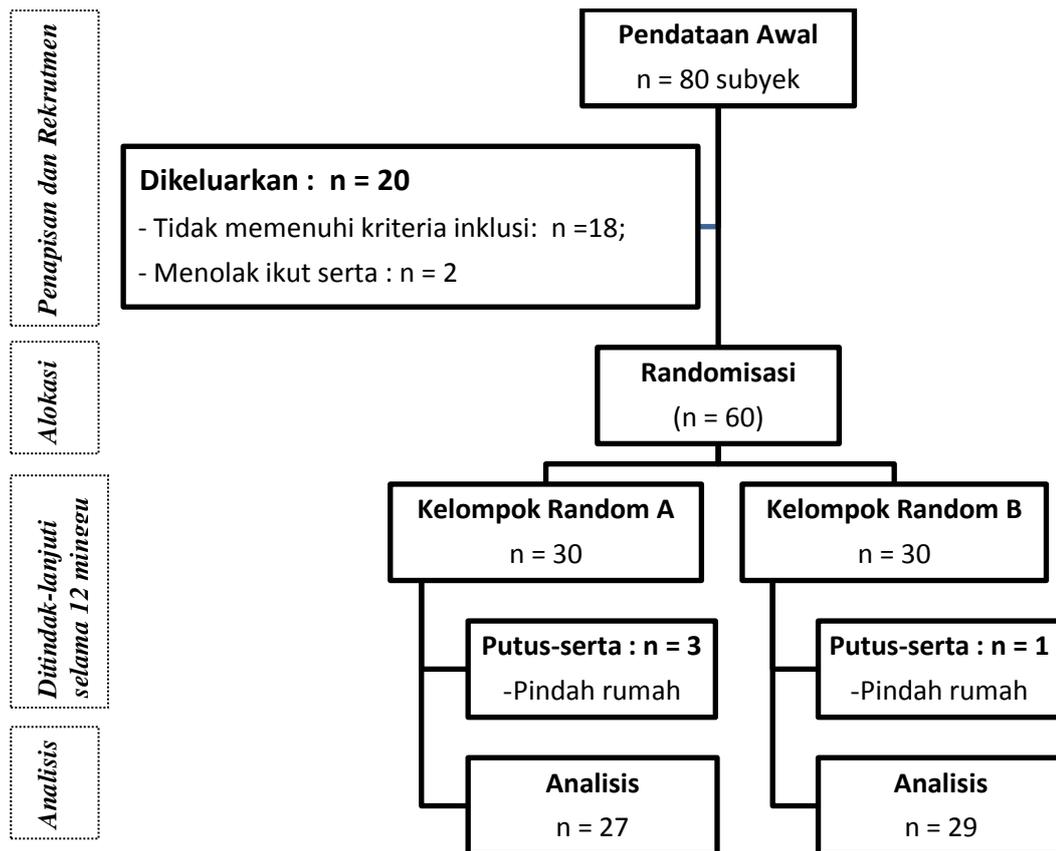
HASIL PENELITIAN

5.1 Jumlah dan Karakteristik Subyek

Pada penapisan perempuan pascamenopause yang dilibatkan sebagai subyek penelitian didapatkan sebanyak 80 perempuan pascamenopause, dan ternyata 18 perempuan tidak memenuhi kriteria inklusi (6 perempuan menderita diabetes melitus, 7 perempuan menderita hipertensi, 3 perempuan menderita penyakit rematik, 2 perempuan pernah menjalani operasi pengangkatan rahim/indung telur) dan 2 perempuan menolak diikutsertakan sebagai subyek penelitian. Sejumlah 60 subyek dibagi menjadi 2 kelompok A dan B dengan cara melakukan random alokasi dengan blok sebesar 4, berarti pada setiap blok terdapat 2 subyek kelompok A dan 2 subyek kelompok B. Pada saat diberikan suplemen dan diikuti selama 3 bulan (12 minggu) ternyata sebanyak 3 subyek dari kelompok A dan 1 subyek dari kelompok B mengundurkan diri (putus-serta) karena alasan pindah rumah (sesudah suami pensiun kerja atau meninggal dunia), sehingga yang dapat diikutsertakan dalam analisis data pada akhir penelitian terdapat 56 subyek, yaitu 27 subyek dari kelompok A dan 29 subyek dari kelompok B (**analisis per-protokol**). (Gambar 5.1)

Di antara sebanyak 56 subyek yang terlibat sejak awal sampai penelitian selesai, subyek yang termuda berusia 48 tahun dan tertua berusia 60 tahun, dengan rerata usia subyek $53 \pm 3,2$ tahun (kelompok A) dan $54 \pm 3,4$ tahun (kelompok B). Sebagaimana dapat dilihat pada **tabel 5.1.1, 5.1.2 dan 5.1.3** di bawah ini, hasil **uji komparabilitas** antara kelompok A (isoflavon) dan B (kontrol) dalam hal beberapa karakteristik penting (seperti: umur, status pernikahan, tingkat pendidikan, pekerjaan, olahraga, kebiasaan merokok dan minum kopi), maupun beberapa karakteristik klinik (seperti: indeks massa tubuh, lama pascamenopause, kadar estradiol, asupan makanan) pada awal penelitian (*baseline data*) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna di antara berbagai variabel kedua kelompok tersebut. Rerata kadar IgG dan $CD4^+$, skor total MRS, jumlah subyek dengan simptom menopause maupun ketiga domain gangguan (psikologik,

somatik/vasomotor dan seksual/urogenital) pada awal penelitian juga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik di antara kedua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa random alokasi dengan blok sebesar 4 berhasil menyebar semua variabel selain variabel perlakuan secara merata antara kedua kelompok perlakuan.



Gambar 5.1 Alur penapisan & rekrutmen subyek penelitian, alokasi intervensi, tindak-lanjut dan analisis data

Tabel 5.1.1 Distribusi beberapa karakteristik demografik dan kebiasaan subyek pada awal penelitian berdasarkan kelompok perlakuan

Variabel	Kelompok Perlakuan		p
	Isoflavon (n=27)	Kontrol (n=29)	
Umur (tahun) *	53,0 (3,2)	54,0 (3,4)	0,261 ^{a)}
Status pernikahan **			
- Menikah (Suami hidup)	59,2	75,9	0,254 ^{b)}
- Tidak menikah/Janda	40,8	24,1	
Tingkat Pendidikan **			
- Rendah (\leq SD)	62,9	68,9	0,635 ^{b)}
- Sedang(SMP/SMA)	33,3	31,1	
- Tinggi (\geq D1)	3,8	0	
Pekerjaan **			
- Bekerja (mencari nafkah)	37,0	37,9	0,945 ^{b)}
- Tidak bekerja	63,0	62,1	
Olahraga **			
- Ya, teratur	29,6	20,7	0,151 ^{b)}
- Ya, tidak teratur	40,8	24,1	
- Tidak pernah	29,6	55,2	
Merokok **			
- Tidak	92,6	93,1	1,000 ^{c)}
- Ya	7,4	6,9	
Minum kopi **			
- Tidak	85,2	79,3	0,731 ^{c)}
- Ya	14,2	20,7	

* Rerata (simpang baku) ; ** Jumlah (%)

^{a)} *Independent t-test*; ^{b)} Uji chi-square; ^{c)} Uji eksak Fisher

Catatan:

Tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol dalam hal karakteristik demografik dan kebiasaan pada awal penelitian

Tabel 5.1.2 Distribusi faktor/karakteristik klinik subyek pada awal penelitian berdasarkan kelompok perlakuan

Variabel	Kelompok Perlakuan		p
	Isoflavon (n=27)	Kontrol (n=29)	
Indeks Massa Tubuh (kg/m²) * (Klasifikasi IMT - Depkes RI)	27,4 (4,8)	26,5 (3,7)	0,438
Normal **	40,7	31,0	0,143 ^{a)}
Kelebihan berat badan ** (tingkat ringan dan berat)	59,3	69,0	
Lama pascamenopause (tahun) *	4,3 (2,5)	5,0 (2,4)	0,238
- PM Dini (1-4 tahun) **	59,2	44,8	0,280 ^{a)}
- PM Lanjut (≥ 5 tahun)**	40,8	55,2	
Hormon/"hormone like substance"			
Kadar estradiol (pg/mL) *	7,7 (4,1)	7,0 (3,6)	0,519
Kadar isoflavon/genistein (ng/mL) *	4880 (3743,8)	4080 (2743,3)	0,363
Asupan Makanan Harian :			
- Protein (gr) *	41,9 (13,7)	49,5 (18,7)	0,093
- Lemak (gr) *	47,4 (15,2)	52,1 (16,3)	0,269
- Karbohidrat (gr) *	156,0 (39,7)	173,5 (45,9)	0,135
- Energi (kkal) *	1205,3 (277,3)	1349,4 (355,7)	0,098
Asupan Isoflavon Makanan :			
- Isoflavon total (gr) *	0,29 (0,20)	0,36 (0,40)	0,379
• Asupan Kurang (Q_1) **	18,5	24,1	0,609 ^{a)}
• Asupan Cukup ($Q_{2.5}$) **	81,5	75,9	
Jumlah konsumsi suplemen (hari)*	84	84	1,000

*) Rerata (simpang baku); independent t-test; **) Besar subyek (n) dalam %

a) Uji chi-square

***) Asupan isoflavon dalam makanan harian : $Q_1 \leq 0,13$ g/hari;
 $Q_{2.5} = 0,13 - 0,44$ g/hari

Catatan:

Tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol dalam hal faktor/karakteristik klinik pada awal penelitian

Tabel 5.1.3 Rerata kadar IgG, CD4⁺ dan distribusi simtom menopause pada awal penelitian berdasarkan kelompok perlakuan

	Kelompok Perlakuan		p
	Isoflavon (n=27)	Kontrol (n=29)	
Respons imun spesifik : *			
Kadar IgG (mg/dL)	1.620,0 (227,3)	1.500,0 (269,7)	0,100
Kadar CD4 ⁺ (sel/ μ L)	742,1 (266,9)	758,9 (362,8)	0,844
Skor Total MRS *	7,4 (6,6)	7,4 (6,3)	0,996
Simtom menopause : **			
- Ada (skor \geq 5)	59,3	51,7	0,602 ^{a)}
- Tidak ada (skor 0-4)	40,7	48,3	
Gangguan psikologik **			
- Ada gangguan	55,6	51,7	0,774 ^{a)}
- Tidak ada gangguan	44,4	48,3	
Gangguan somatik/vasomotor **			
- Ada gangguan	59,3	51,7	0,571 ^{a)}
- Tidak ada gangguan	40,7	48,3	
Gangguan seksual/urogenital **			
- Ada gangguan	48,1	51,7	0,789 ^{a)}
- Tidak ada gangguan	51,9	48,3	

* Rerata (simpang baku), *independent t-test*; ** Jumlah subyek dalam persen (%)

^{a)} Uji chi-square

Catatan:

Pada awal penelitian ini tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna dalam hal kadar IgG, CD4⁺ dan simtom menopause antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol

5.2 Pengaruh isoflavon terhadap respons imun spesifik perempuan pascamenopause

Pada penelitian ini respons imun spesifik yang dievaluasi adalah respons imun humoral dengan **kadar IgG** sebagai parameter dan respons imun seluler dengan **kadar CD4⁺** sebagai parameter.

Tabel 5.2.1 Rerata kadar IgG dan CD4⁺ pasca suplementasi soy isoflavon selama 12 minggu berdasarkan kelompok perlakuan

Respons Imun Spesifik	Kelompok Perlakuan		p ^{b)}
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Kadar IgG (mg/dL) ^{a)}	1516,1 (228,0)	1441,5 (242,6)	0,242
Kadar CD4 ⁺ (sel/ μ L) ^{a)}	773,5 (264,3)	759,3 (292,4)	0,850

Keterangan :

^{a)} Rerata (simpang baku)

^{b)} Nilai p diperoleh dari *independent t-test*

Catatan:

Pada akhir penelitian ini (sesudah suplementasi 100mg soy-isoflavon selama 12 minggu) tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna dalam hal kadar IgG dan CD4⁺ antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol.

Pada tabel 4.2.1 di atas dapat dilihat bahwa pasca suplementasi, kelompok isoflavon mempunyai rerata kadar IgG dan CD4⁺ yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, walaupun perbedaan tersebut secara statistik tidak bermakna.

Jika kadar IgG dan CD4⁺ pascasuplementasi (tabel 5.2.1) dibandingkan dengan kadar sebelum suplementasi (tabel 5.1.3), terjadi penurunan rerata kadar IgG pasca-suplementasi (Δ kadar IgG negatif) dan peningkatan rerata kadar CD4⁺ (Δ kadar CD4⁺ positif), tetapi juga tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik dalam hal rerata selisih kadar IgG dan CD4⁺ sesudah dan sebelum suplementasi, baik pada kelompok isoflavon maupun kelompok kontrol. Baik pada kelompok yang diberikan isoflavon maupun tidak, ternyata terjadi penurunan rerata kadar IgG pasca suplementasi, maka tidak dapat dibuktikan bahwa pemberian suplemen 100 mg soy-isoflavon selama 12 minggu memberikan efek yang positif atau dapat meningkatkan respons imun spesifik humoral pada perempuan pascamenopause. Walaupun efek suplementasi isoflavon terhadap kadar CD4⁺ tidak bermakna secara statistik, namun

kadar CD4⁺ pasca suplementasi selama 12 minggu menunjukkan kenaikan sebesar 4,2% dibandingkan dengan kelompok kontrol yang naik hanya sebesar 0,05%. Kenaikan kadar CD4⁺ pasca suplementasi isoflavon yang jauh lebih besar (± 84 kali) dibandingkan kelompok kontrol menunjukkan adanya efek yang positif dari suplementasi isoflavon terhadap kadar CD4⁺, yang berarti terjadi peningkatan respons imun seluler perempuan pasca-menopause.

Pada tabel 5.2.2 di bawah ini dapat dilihat bahwa rerata kadar IgG pasca suplementasi menurun pada kelompok isoflavon maupun kelompok kontrol, baik ditinjau pada seluruh subyek maupun pada subkelompok berdasarkan lama pascamenopause dan kadar estradiol awal, bahkan penurunan lebih besar dijumpai pada kelompok isoflavon. Pada analisis subkelompok subyek berdasarkan indeks massa tubuh, rerata kadar IgG kelompok isoflavon dengan IMT normal sedikit meningkat pascasuplementasi (1%), sedangkan rerata kadar IgG pada kelompok kontrol mengalami penurunan sebesar 3,6%. Pada analisis subkelompok subyek berdasarkan asupan isoflavon dalam makanan, rerata kadar IgG pasca suplementasi kelompok isoflavon dengan asupan isoflavon kurang mengalami peningkatan sebesar 4,6% dibandingkan sebelum suplementasi, sedangkan pada kelompok kontrol mengalami penurunan sebesar 4,4%. Pada subkelompok subyek dengan “IMT > normal” dan “asupan isoflavon cukup”, rerata kadar IgG pasca suplementasi 100 mg soy-isoflavon selama 12 minggu mengalami penurunan masing-masing sebesar sebesar 10,7% dan 8,3%, bahkan penurunan rerata kadar IgG pada kelompok isoflavon lebih banyak/besar dibandingkan dengan penurunan rerata kadar IgG pada kelompok kontrol. Hasil analisis pada beberapa subkelompok subyek tersebut umumnya juga menunjukkan bahwa pemberian suplementasi soy-isoflavon selama 12 minggu tidak memberikan efek positif atau dapat meningkatkan respons imun humoral, kecuali pada subkelompok subyek dengan indeks massa tubuh yang normal dan asupan isoflavon dalam makanannya kurang.

Tabel 5.2.2 Persentase perbedaan relatif (δ) rerata kadar IgG antara sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause

	Kelompok Perlakuan		p ^{*)}
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Seluruh subyek	- 6,4	- 3,9	0,242
<i>Sub-kelompok berdasarkan</i>			
- Lama pascamenopause			
Pascamenopause Dini	- 6,9	- 2,8	0,319
Pascamenopause Lanjut	- 5,1	- 2,9	0,381
- Indeks massa tubuh awal			
IMT = Normal	1,0	- 3,6	0,073
IMT > Normal	- 10,7	- 4,4	0,925
- Asupan isoflavon makanan			
Kurang ^{a)}	4,6	- 4,4	0,951
Cukup ^{b)}	- 8,3	- 4,0	0,158

*) Hasil uji kemaknaan rerata kadar IgG sesudah suplementasi antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol yang diperoleh dari *independent t-test*.

δ : Persentase perbedaan relatif rerata kadar IgG sebelum dan sesudah suplementasi yang dihitung berdasarkan :

$$\frac{\text{Kadar IgG sesudah suplementasi} - \text{Kadar IgG sebelum suplementasi}}{\text{Kadar IgG sebelum suplementasi}} \times 100\%$$

Tabel 5.2.3 Persentase perbedaan relatif (δ) rerata kadar CD4⁺ sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause

	Kelompok Perlakuan		p ^{*)}
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Seluruh subyek	4,2	0,1	0,850
<i>Sub-kelompok berdasarkan</i>			
- Lama pascamenopause			
Pascamenopause Dini	2,8	- 1,5	0,886
Pascamenopause Lanjut	6,0	1,3	0,626
- Indeks massa tubuh awal			
IMT = Normal	14,2	- 1,2	0,559
IMT > Normal	- 1,4	0,5	0,945
- Asupan Isoflavon makanan			
Kurang	- 0,1	- 5,7	0,938
Cukup	5,1	1,6	0,955

*) Hasil uji kemaknaan rerata kadar CD4⁺ sesudah suplementasi antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol yang diperoleh dari *independent t-test*.

δ : Persentase perbedaan relatif rerata kadar CD4⁺ sebelum dan sesudah suplementasi yang dihitung berdasarkan :

$$\frac{\text{Kadar CD4}^+ \text{ sesudah suplementasi} - \text{Kadar CD4}^+ \text{ sebelum suplementasi}}{\text{Kadar CD4}^+ \text{ sebelum suplementasi}} \times 100\%$$

Pada **Tabel 5.2.3** di atas dapat dilihat bahwa analisis subkelompok umumnya juga menunjukkan adanya peningkatan kadar $CD4^+$ pasca suplementasi isoflavon. Peningkatan rerata kadar $CD4^+$ sesudah suplementasi terjadi pada kelompok isoflavon, baik pada subkelompok pascamenopause dini maupun lanjut. Walaupun kenaikan kadar $CD4^+$ pasca suplementasi isoflavon selama 12 minggu tidak bermakna secara statistik, namun kenaikan kadar $CD4^+$ pada subkelompok pascamenopause lanjut 4 kali lebih besar dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar $CD4^+$ pada kelompok pascamenopause lanjut sesudah suplementasi isoflavon.

Pada subkelompok subyek dengan IMT normal, rerata kadar $CD4^+$ kelompok isoflavon meningkat 14,2% sedangkan pada kelompok kontrol justru menurun sebesar 1,2%, dan kadar $CD4^+$ menurun 1,4% pada subkelompok subyek dengan $IMT > normal$. Demikian juga pada subkelompok subyek dengan asupan isoflavon makanan yang cukup, kadar $CD4^+$ kelompok isoflavon meningkat 5,1% lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol (1,6%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian suplementasi soy isoflavon 100mg selama 12 minggu cenderung meningkatkan kadar $CD4^+$ pada perempuan pasca-menopause, terutama pada subkelompok subyek dengan IMT normal dan subkelompok subyek dengan asupan isoflavon makanan yang cukup.

Untuk menyusun sebuah model mengenai pengaruh perlakuan suplementasi isoflavon dan beberapa karakteristik klinik subyek pada awal penelitian terhadap respons imun spesifik (kadar IgG dan $CD4^+$) perempuan pascamenopause dilakukan analisis multivariat regresi linier, yaitu :

- a) Indeks massa tubuh
- b) Lama menopause
- c) Kadar estradiol serum
- d) Kadar isoflavon (genistein)
- e) Jumlah asupan isoflavon dalam makanan

Sebelum dilakukan analisis regresi linier multivariat, terlebih dulu dilakukan analisis regresi linier sederhana (bivariat) antara masing-masing karakteristik klinik subyek pada awal penelitian sebagai variabel independen dan

kadar IgG dan CD4⁺ sebagai variabel dependen untuk menentukan karakteristik klinik yang memenuhi syarat untuk dilibatkan (seleksi) dalam analisis multivariat, yaitu karakteristik klinik dengan nilai $p < 0,25$ dan memenuhi asumsi-asumsi yang dipersyaratkan : asumsi eksistensi, asumsi independensi, asumsi linearitas, asumsi homoscedascity dan asumsi normalitas (Tabel 5.2.2).

Tabel 5.2.4 Analisis regresi linier sederhana beberapa variabel klinik penting terhadap kadar IgG dan kadar CD4⁺ pada awal penelitian

Variabel independen	Kadar IgG		Kadar CD4 ⁺	
	Koefisien Regresi (B)	p	Koefisien Regresi (B)	p
Perlakuan suplementasi	74,63	0,242*	14,17	0,850
Indeks massa tubuh awal	3,58	0,636	17,99	0,038*
Lama pascamenopause	6,78	0,614	22,07	0,157*
Kadar estradiol (awal)	24,92	0,002*	0,02	0,999
Kadar isoflavon awal	-0,01	0,832	0,01	0,590
Asupan isoflavon makanan	-0,09	0,410	0,01	0,945

Pada Tabel 5.2.4 yang merupakan hasil seleksi bivariat dapat dilihat bahwa karakteristik klinik yang dapat dilibatkan dalam analisis multivariat ($p < 0,25$) terhadap kadar IgG adalah perlakuan suplementasi ($p = 0,242$) dan kadar estradiol ($p = 0,002$). Pada tabel 5.2.4 tersebut di atas juga dapat dilihat bahwa variabel independen yang dapat dilibatkan dalam analisis multivariat untuk mengetahui variabel mana yang paling berpengaruh terhadap kadar CD4⁺ adalah perlakuan suplementasi, indeks massa tubuh (IMT) dan lama menopause.

Selanjutnya hasil analisis multivariat regresi linier (tabel 5.2.5) menunjukkan nilai koefisien Beta (*standardized coefficients*) perlakuan suplementasi sebesar 0,125 ($p = 0,323$) dan kadar estradiol (awal) sebesar 0,399 ($p = 0,002$), sehingga kadar estradiol merupakan variabel yang paling besar pengaruhnya terhadap kadar IgG.

Tabel 5.2.5 Analisis regresi linier multivariat beberapa variabel klinik penting terhadap kadar IgG dan CD4⁺ pada awal penelitian

Model	IgG			CD4 ⁺		
	B	Beta	p	B	Beta	p
(Constant)	1294.24		0,000	133,10		0,587
Kadar estradiol awal	24.91	0,40	0,002			
IMT awal				19,18	0,30	0,026
Lama menopause				24,95	0,22	0,099

Hasil analisis regresi linier multivariat (tabel 5.2.5) menunjukkan bahwa ternyata indeks massa tubuh yang mempunyai koefisien Beta 0,296 ($p = 0,026$) merupakan variabel yang paling berpengaruh terhadap kadar CD4⁺.

5.3 Pengaruh isoflavon terhadap simtom menopause pada perempuan pascamenopause

Evaluasi terhadap simtom menopause pada perempuan pascamenopause dinilai dengan menggunakan instrumen *Menopause Rating Scale (MRS)* yang diisi sendiri oleh responden setelah mendapatkan penjelasan dari petugas pengumpul data yang telah diberi pelatihan, kemudian dilakukan evaluasi terhadap setiap kuesioner MRS yang telah diisi oleh para responden dengan menghitung jumlah skornya. Dengan menggunakan kriteria yang ada, subyek dikelompokkan ke dalam kelompok : tidak ada atau sedikit gangguan (skor 0–4) dan ada gangguan (skor ≥ 5). Simtom menopause yang dievaluasi dengan instrumen MRS terdiri dari 3 (tiga) domain gangguan, yaitu : gangguan psikologik (skor ≥ 2), gangguan somatovegetatif / vasomotor (skor ≥ 3) dan gangguan seksual/urogenital (skor ≥ 1).

Tabel 5.3.1 Simtom menopause dan ketiga domain gangguan menopause pasca suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada perempuan pascamenopause

Variabel Dependen	Kelompok Perlakuan		p ^{**)}
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Simtom Menopause (+) ^{*)}	40,7	20,7	0,103
Gangguan Psikologik (+) ^{*)}	48,1	37,9	0,440
Gangguan Vasomotor (+) ^{*)}	22,2	13,8	0,411
Gangguan Urogenital (+) ^{*)}	40,7	34,5	0,629

*) Jumlah subyek (%) **) Uji *chi square*

Sesudah suplementasi soy-isoflavon 100 mg selama 12 minggu, walaupun lebih banyak subyek dengan gangguan menopause pada kelompok isoflavon, tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol. Demikian juga tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik dalam jumlah subyek yang mengalami gangguan psikologik, gangguan vasomotor dan urogenital antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol, meski lebih banyak subyek pada kelompok isoflavon yang mengalami gangguan pada ketiga domain. Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi 100 mg soy-isoflavon selama 12 minggu tidak mampu memperbaiki gangguan/simtom menopause yang dialami perempuan pasca-menopause.

Tabel 5.3.2 Persentase perbedaan relatif (δ) simtom menopause sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause

	Kelompok Perlakuan		p ^{*)}
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Seluruh subyek	- 18,6	- 31,0	0,103
Sub Kelompok berdasarkan			
- Lama pascamenopause			
Pascamenopause Dini	- 18,8	- 46,1	0,051
Pascamenopause Lanjut	- 18,2	- 18,8	0,895
- Indeks massa tubuh awal			
IMT = Normal	- 27,2	- 33,3	0,591
IMT > Normal	- 12,5	- 30,0	0,121
- Asupan Isoflavon makanan			
Kurang	40,0	- 42,7	0,222
Cukup	- 31,8	- 27,3	0,322

*) Hasil uji kemaknaan jumlah subyek dengan simtom menopause (+) sesudah suplementasi antara kelompok isoflavon dengan kelompok kontrol dilakukan dengan uji chi square atau uji eksak Fisher

δ : Persentase perbedaan jumlah subyek dengan simtom menopause (+) sebelum dan sesudah suplementasi yang dihitung berdasarkan :
[Persentase jumlah subyek dengan simtom menopause (+) sesudah suplementasi] dikurangi dengan [persentase jumlah subyek dengan simtom menopause (+) sebelum suplementasi]

Pada Tabel 5.3.2 di atas dapat dilihat bahwa pada analisis keseluruhan subyek, jumlah subyek yang mengalami simtom menopause pasca suplementasi menurun pada kelompok isoflavon maupun kelompok kontrol, akan tetapi

penurunannya pada kelompok isoflavon lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada analisis subkelompok subyek, pada umumnya jumlah subyek dengan simtom menopause pasca suplementasi juga menurun, baik pada kelompok isoflavon maupun kelompok kontrol. Pada subkelompok subyek dengan asupan isoflavon makanan yang cukup yang mendapat suplementasi isoflavon terjadi penurunan jumlah subyek dengan simtom menopause (31,8%) sedikit lebih besar dibandingkan dengan penurunan pada kelompok kontrol (27,3%).

Tabel 5.3.3 Persentase perbedaan relatif (δ) gangguan psikologik sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause

	Kelompok Perlakuan		p ^{*)}
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Seluruh subyek	- 7,5	- 13,8	0,440
Sub Kelompok berdasarkan			
- Lama pascamenopause			
Pascamenopause Dini	- 12,5	- 23,0	0,534
Pascamenopause Lanjut	- 9,0	- 18,7	0,679
- Indeks massa tubuh awal			
IMT = Normal	- 18,1	- 22,2	0,374
IMT > Normal	0	- 10,0	0,765
- Asupan Isoflavon makanan			
Kurang	40,0	- 57,1	0,222
Cukup	- 18,1	0	1,000

*) Hasil uji kemaknaan jumlah subyek dengan gangguan psikologik sesudah suplementasi antara kelompok isoflavon dengan kelompok kontrol yang dilakukan dengan uji chi square atau uji eksak Fisher.

δ : Persentase perbedaan relatif jumlah subyek dengan gangguan psikologik (+) sebelum dan sesudah suplementasi yang dihitung berdasarkan :
[Persentase jumlah subyek dengan gangguan psikologi (+) sesudah suplementasi] dikurangi dengan [persentase jumlah subyek dengan gangguan psikologik (+) sebelum suplementasi]

Pada Tabel 5.3.3 di atas dapat dilihat bahwa pada analisis keseluruhan subyek, jumlah subyek dengan gangguan psikologik pasca-suplementasi mengalami penurunan, baik pada kelompok isoflavon maupun kelompok kontrol, dan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik di antara kedua kelompok tersebut. Pada analisis sub-kelompok subyek, gangguan psikologis umumnya juga menurun pasca-suplementasi pada kedua kelompok

isoflavin dan kontrol, kecuali meningkat jumlahnya pada subkelompok subyek dengan asupan isoflavin dalam makanan yang kurang (40%).

Tabel 5.3.4 Persentase perbedaan relatif (δ) gangguan vasomotor sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause

	Kelompok Perlakuan		p ^{*)}
	Isoflavin (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Seluruh subyek	- 37,1	- 37,9	0,411
<i>Sub Kelompok berdasarkan</i>			
- Lama pascamenopause			
Pascamenopause Dini	- 50,0	- 53,8	0,343
Pascamenopause Lanjut	- 18,2	- 25,0	1,000
- Indeks massa tubuh awal			
IMT = Normal	- 45,4	- 33,3	1,000
IMT > Normal	- 31,3	- 40,0	0,422
- Asupan Isoflavin makanan			
Kurang	0	- 57,1	0,045
Cukup	- 45,5	- 31,8	1,000

*) Hasil uji kemaknaan jumlah subyek dengan gangguan vasomotor sesudah suplementasi antara kelompok isoflavin dengan kelompok kontrol yang dilakukan dengan uji chi square atau uji eksak Fisher.

δ : Persentase perbedaan relatif jumlah subyek dengan simtom menopause (+) sebelum dan sesudah suplementasi yang dihitung berdasarkan :
[Persentase jumlah subyek dengan gangguan vasomotor (+) sesudah suplementasi] dikurangi dengan [persentase jumlah subyek dengan gangguan vasomotor (+) sebelum suplementasi]

Pada Tabel 5.3.4 di atas dapat dilihat bahwa pada analisis keseluruhan subyek, jumlah subyek yang mengalami gangguan somatik atau vasomotor sesudah suplementasi mengalami penurunan, baik pada kelompok isoflavin maupun kelompok kontrol, dan tidak ada perbedaan bermakna secara statistik di antara kedua kelompok tersebut. Pada analisis subkelompok, tidak ada perbedaan bermakna secara statistik dalam hal gangguan vasomotor antara kelompok isoflavin dan kelompok kontrol. Penurunan jumlah subyek dengan gangguan vasomotor paling banyak dijumpai pada subkelompok pascamenopause dini (sekitar 50%), tetapi tidak berbeda bermakna secara statistik dengan kelompok kontrol. Jumlah subyek dengan gangguan vasomotor pasca suplementasi pada kelompok isoflavin mengalami penurunan lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol, yaitu pada subkelompok subyek dengan IMT awal normal

(45,4%) dan mereka yang asupan isoflavon makanannya cukup (45,5%), walaupun tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara kedua kelompok. Hal ini menunjukkan kecenderungan bahwa pemberian suplementasi isoflavon 100mg selama 12 minggu pada subkelompok-subkelompok tersebut mengurangi gangguan vasomotor pada perempuan pascamenopause. Belum dapat dijelaskan mengapa pada subkelompok subyek dengan asupan isoflavon yang kurang, penurunan jumlah subyek yang mengalami gangguan justru lebih baik pada kelompok kontrol (57,1%) dibandingkan dengan kelompok isoflavon ($p < 0,05$).

Pada **Tabel 5.3.5** di bawah ini dapat dilihat bahwa pada analisis keseluruhan subyek, jumlah subyek yang mengalami gangguan urogenital menurun pada kelompok isoflavon dan kelompok kontrol, dan tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik antara kedua kelompok tersebut. Pada subkelompok pascamenopause dini yang mendapat suplemen isoflavon, jumlah subyek dengan gangguan urogenital pasca-suplementasi menurun lebih banyak (37,5%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (30,7%), sedangkan pada subkelompok pascamenopause lanjut, mereka yang mengalami gangguan urogenital bahkan meningkat jumlahnya (36,4%) sesudah mendapat suplemen isoflavon selama 12 minggu. Pada analisis subkelompok berdasarkan kecukupan asupan isoflavon makanan, jumlah subyek yang mengalami gangguan urogenital menurun 18,2% sesudah mendapat suplemen isoflavon, yaitu dua kali lipat dibandingkan dengan penurunannya pada kelompok kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa suplementasi 100mg soy-isoflavon cenderung memberi manfaat menurunkan gangguan urogenital pada perempuan pascamenopause dini dan perempuan pascamenopause dengan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup.

Tabel 5.3.5 Persentase perbedaan relatif (δ) **gangguan urogenital** sebelum dan sesudah suplementasi berdasarkan kelompok perlakuan pada seluruh subyek dan sub-kelompok perempuan pascamenopause

	Kelompok Perlakuan		p
	Isoflavon (n = 27)	Kontrol (n = 29)	
Seluruh subyek	- 7,4	- 17,2	0,629
<i>Sub Kelompok berdasarkan</i>			
- Lama pascamenopause			
Pascamenopause Dini	- 37,5	- 30,7	0,705
Pascamenopause Lanjut	36,4	- 6,3	0,679
- Indeks massa tubuh awal			
IMT = Normal	- 9,1	- 22,2	1,000
IMT > Normal	- 6,2	- 15,0	0,549
- Asupan Isoflavon makanan			
Kurang	40,0	- 42,8	0,072
Cukup	- 18,2	- 9,1	0,531

- *) Hasil uji kemaknaan jumlah subyek dengan gangguan urogenital sesudah suplementasi antara kelompok isoflavon dengan kelompok kontrol dilakukan dengan uji chi square atau uji eksak Fisher.
- δ : Persentase perbedaan relatif jumlah subyek dengan gangguan urogenital (+) sebelum dan sesudah suplementasi yang dihitung berdasarkan :
 [Persentase jumlah subyek dengan gangguan urogenital (+) sesudah suplementasi] dikurangi dengan [persentase jumlah subyek dengan gangguan urogenital (+) sebelum suplementasi]

Untuk menilai pengaruh beberapa karakteristik klinik subyek terhadap simtom menopause dilakukan analisis regresi logistik multivariat dengan melibatkan variabel-variabel: indeks massa tubuh (IMT) awal, lama pascamenopause, kadar estradiol awal dan kadar isoflavon (genistein) serum awal, dan asupan isoflavon dalam makanan pada awal penelitian. Analisis dilakukan dengan metode analisis regresi logistik dengan terlebih dulu melakukan seleksi bivariat terhadap variabel-variabel tersebut di atas dan variabel-variabel dengan nilai $p < 0,25$ selanjutnya dilibatkan dalam analisis multivariat.

Tabel 5.3.6 Analisis bivariat beberapa variabel klinik penting terhadap simtom menopause

Variabel independen		p	Rasio Odds
Perlakuan	Kontrol	0,103	2,635
	Isoflavon		
IMT awal	> Normal	0,432	0,517
	Normal		
Lama Menopause	PM Dini	0,487	1,504
	PM Lanjut		
Estradiol awal	≤ 5 mg/dL	0,219	2,054
	> 5 mg/dL		
Kadar Isoflavon awal	≤ 7740 ng/ml	0,473	0,591
	> 7740 ng/ml		
Asupan Isoflavon awal	Kurang	0,848	0,893
	Cukup		

Pada tabel 5.3.6 dapat dilihat bahwa di antara keenam variabel independen tersebut di atas, terdapat 2 variabel yang mempunyai nilai $p < 0,25$ dan selanjutnya akan dilibatkan dalam analisis multivariat, yaitu :

- Perlakuan
- Kadar estradiol awal

Tabel 5.3.7 Analisis regresi logistik multivariat beberapa variabel klinik penting terhadap simtom menopause

Variabel independen	Koefisien Regresi (B)	Rasio Odds	p	IK 95%
Perlakuan	0,97	2,635	0,108	0,808 – 8,592
Kadar Estradiol	-0,72	0,486	0,233	0,148 – 1,591
<i>Constant</i>	-0,83	0,436	0,004	

Sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 4.3.7 hasil analisis multivariat menunjukkan bahwa tidak ada variabel klinik penting yang mempunyai hubungan yang bermakna secara statistik atau berpengaruh kuat terhadap simtom menopause.

5.4. Efek samping dan *adverse event*

Tidak ada satu subyek pun dari kelompok kontrol yang mengeluh atau mengalami gangguan selama maupun sesudah selesai mengkonsumsi suplemen selama 12 minggu, sedangkan sebanyak 3 (11,1%) subyek dari kelompok isoflavon melaporkan gejala sedikit mual pada minggu pertama sejak mengkonsumsi tablet suplemen, tapi gejala mual mulai berkurang dan menghilang setelah minggu kedua. Walaupun mengalami mual, subyek tetap mengkonsumsi suplemen karena efek mual ini sudah diketahui oleh subyek sesudah mendapat penjelasan dari peneliti sebelum mulai mengkonsumsi suplemen. Tidak ada keluhan lain termasuk keluhan terkait kelainan ginekologik (seperti terjadinya perdarahan per vaginam) yang disampaikan oleh subyek dari kedua kelompok selama mengkonsumsi suplemen sampai 12 minggu.

5.5 Uji Hipotesis

5.5.1 Hipotesis pertama :

Suplementasi soy isoflavon 100 mg selama 12 minggu meningkatkan respons imun spesifik humoral (IgG) pada perempuan pascamenopause.

Berdasarkan hasil analisis rerata kadar IgG antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol sesudah pemberian suplementasi isoflavon didapatkan nilai $p > 0,05$ (Tabel 5.2.1), sehingga hipotesis pertama tersebut di atas tidak dapat diterima.

Hal itu menunjukkan bahwa penelitian ini tidak dapat membuktikan bahwa suplementasi soy-isoflavon 100mg selama 12 minggu dapat meningkatkan respons imun spesifik humoral (IgG) pada perempuan pascamenopause.

5.5.2 Hipotesis kedua :

Suplementasi soy isoflavon 100 mg selama 12 minggu meningkatkan respons imun spesifik seluler ($CD4^+$) pada perempuan pascamenopause.

Berdasarkan hasil analisis rerata kadar $CD4^+$ antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol sesudah pemberian suplementasi isoflavon didapatkan nilai $p > 0,05$ (Tabel 5.2.1), sehingga hipotesis kedua tersebut di atas tidak dapat diterima.

Hal itu menunjukkan bahwa penelitian ini tidak dapat membuktikan bahwa suplementasi soy-isoflavon 100mg selama 12 minggu dapat meningkatkan respons imun spesifik seluler ($CD4^+$) pada perempuan pascamenopause.

5.5.3 Hipotesis ketiga

Suplementasi soy isoflavon 100mg selama 12 minggu dapat menurunkan angka kejadian simtom menopause pada perempuan pascamenopause.

Berdasarkan hasil analisis jumlah subyek yang mengalami simtom menopause antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol sesudah pemberian suplementasi isoflavon didapatkan nilai $p > 0,05$ (Tabel 5.3.1), sehingga hipotesis ketiga tersebut di atas tidak dapat diterima.

Hal itu menunjukkan bahwa pada penelitian ini tidak dapat dibuktikan bahwa suplementasi soy-isoflavon 100 mg selama 12 minggu dapat menurunkan angka kejadian simtom menopause pada perempuan pascamenopause.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Generalisasi hasil penelitian

Generalisasi hasil suatu penelitian tergantung dari besar bias yang mungkin terjadi pada waktu dilakukan pemilihan sampel yang tidak baik, yang dapat berakibat bahwa sampel tersebut tidak mewakili populasi penelitian, sehingga dikatakan penelitian tersebut memiliki validitas penelitian yang tidak baik. Kesahihan (validitas) penelitian terdiri dari kesahihan interna dan kesahihan eksterna. Kesahihan interna suatu penelitian menunjukkan seberapa dekat akurasi hasil penelitian tersebut dapat memberikan gambaran sebenarnya tentang populasi penelitian (Greenberg, 2005), atau kemampuan rancangan penelitian untuk menguji hipotesis secara adekuat (Borden KS, 1991). Sedangkan kesahihan eksterna menunjukkan seberapa jauh hasil penelitian dapat diterapkan pada populasi target atau populasi lainnya yang lebih luas (Elwood, 1998; Greenberg, 2005).

Populasi penelitian ini adalah perempuan pascamenopause di wilayah Jakarta Selatan yang dianggap mempunyai proporsi jumlah perempuan menopause sekitar 10-15% sama dengan keempat wilayah DKI Jakarta lainnya. Penetapan Kecamatan Mampang Prapatan sebagai area penelitian dilakukan secara *purposive sampling* karena dianggap sudah mapan dalam sistem kerja dan dukungan logistiknya. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan secara random, yaitu *cluster random sampling* pada saat pemilihan RW di tingkat Kelurahan dan pemilihan RT di tingkat RW, dan selanjutnya pemilihan subyek di tingkat RT dilakukan secara *simple random sampling*. Banyaknya kriteria inklusi dan kriteria eksklusi yang ditetapkan dalam penelitian ini (seperti: rentang umur tertentu, kondisi subyek yang sehat, kemampuan berkomunikasi yang baik, bebas dari penyakit hati, jantung, kencing manis, tidak mengkonsumsi obat-obatan hormonal lain dalam 3 bulan terakhir) mengakibatkan validitas eksterna penelitian ini agak terbatas, sehingga hasilnya tidak mudah digeneralisasikan terhadap

populasi target. Untuk meminimalkan efek bias pada hasil penelitian, dipilih metode *double-blind* (tersamar ganda), sehingga subyek yang terbagi dalam 2 (dua) kelompok A dan B, peneliti dan semua petugas di lapangan yang terlibat dalam penelitian ini sama-sama tidak mengetahui mana subyek yang mendapat fitoestrogen soy-isoflavon (kelompok perlakuan) dan mana subyek yang mendapat “plasebo” (kelompok kontrol). Agar diperoleh hasil yang sah, maka kelompok yang diperbandingkan (A dan B) harus seimbang. Untuk menentukan subyek penelitian mana yang mendapat perlakuan dan subyek mana yang merupakan kontrol berdasarkan peluang dilakukan proses randomisasi atau alokasi acak dengan bantuan program komputer *random number generator* (*Microsoft Excel*). Pada penelitian ini, peneliti memilih untuk melakukan randomisasi blok (*block randomization*) dengan *block size* sebesar 4 terhadap 60 subyek. Tujuan utama randomisasi (alokasi random) adalah untuk mengurangi bias seleksi dan perancu (*confounding*), dengan terbaginya variabel-variabel yang tidak diteliti secara seimbang, dengan demikian bila pada akhir penelitian ada perbedaan efek di antara kedua kelompok, penyebab perbedaan tersebut merupakan akibat perlakuan yang diberikan.

Selama penelitian berlangsung, di antara 60 subyek yang dilibatkan dalam penelitian ini (*intended sample*), terdapat 4 subyek (6,6%) yang putus-serta (*drop-out*) karena alasan pindah rumah sesudah suami pensiun kerja atau meninggal dunia, yaitu 3 subyek dari kelompok isoflavon dan 1 subyek dari kelompok kontrol.

Tabel 6.1 Uji komparabilitas rerata beberapa karakteristik demografik dan karakteristik klinik antara kelompok subyek putus-serta (*drop out*) dengan kelompok subyek yang mengikuti penelitian sampai selesai (*actual sample*)

Variabel	Kelompok subyek		p
	Putus serta (n = 4)	Lanjut (n = 56)	
Umur subyek (tahun)	53,0	53,5	0,783
Lama menopause (tahun)	3,3	4,6	0,300
Indeks massa tubuh (kg/m ²)	26,1	26,9	0,691
Kadar IgG awal (mg/dL)	1550,0	1558,0	0,953
Kadar CD4 awal (sel/ μ L)	758,3	750,8	0,963
Skor MRS awal	4,5	3,7	0,646

Pada tabel 6.1 di atas dapat dilihat bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$) antara kelompok subyek yang putus-serta dan kelompok subyek yang mengikuti penelitian dari awal sampai selesai (*actual sample*) dalam hal beberapa karakteristik demografik dan karakteristik klinik, sehingga validitas eksterna penelitian dinilai cukup baik dan hasil penelitian ini dapat diterapkan pada sampel terpilih.

Dalam penelitian kedokteran atau kesehatan, kesulitan menginterpretasi hasil pemeriksaan atau pengukuran pada individu pasien menjadi lebih nyata bila yang menjadi subyek penelitiannya adalah sekelompok pasien. Terdapat beberapa sumber variabilitas hasil pemeriksaan, dan variabilitas pengukuran tersebut dapat bersifat random atau sistematis. Akurasi serta presisi setiap pengukuran merupakan masalah yang perlu diperhatikan dalam penelitian kedokteran, dan variabilitas merupakan hal yang penting dalam interpretasi dan penerapan atau aplikasi yang tepat dari hasil penelitian ini. Variabilitas dapat terjadi pada 3 tingkatan, yaitu pada tingkat individual, populasi dan sampel; dan pada masing-masing tingkatan dapat terjadi beberapa variabilitas, yaitu misalnya pada tingkat individu, sumber variabilitas yang potensial adalah karakteristik individual dan karakteristik pengukuran. Ketika terdapat variasi yang besar pada subyek akibat perubahan dan banyaknya proses biologik yang dapat saling berinteraksi pada individu sebagai subyek, pengukuran tunggal dan dengan parameter tunggal memberikan informasi yang kurang tepat tentang kondisi subyek. Pada tingkat populasi dapat terjadi variabilitas genetik antar individu, variabilitas lingkungan dan variabilitas pengukuran, dan banyaknya variabilitas pada tingkat individu akan mempunyai dampak yang lebih besar pada tingkat populasi yang merupakan kumpulan individu (Greenberg, 2005). Variabilitas dalam pengambilan sampel dari suatu populasi (*sampling variability*) juga merupakan hal penting dalam penelitian kedokteran atau kesehatan. Penggunaan sampel tunggal untuk mewakili suatu populasi analog dengan melakukan pengukuran tunggal untuk mendapatkan gambaran karakteristik individu. Fletcher dan Fletcher (1996) membagi sumber variabilitas pengukuran menjadi dua kelompok, yaitu variasi pengukuran dan variasi biologik. Variasi pengukuran mencakup variabilitas pada instrumen yang dipakai untuk melakukan pengukuran maupun pada pemeriksa atau orang yang

melaksanakan pengukuran, yang mana dapat terjadi *inter-observer variation* maupun *intra-observer variation*. Variasi biologik dapat terjadi misalnya karena perubahan karena waktu dan keadaan yang berbeda, serta adanya perbedaan biologik dari satu subyek ke subyek lainnya. Dua karakteristik alat ukur dan pengukuran yang penting adalah keandalan (reliabilitas) dan kesahihan (validitas).

Dalam proses pengukuran terdapat 3 jenis variabilitas yang berperan, yakni variabilitas pengamat, variabilitas subyek dan variabilitas instrumen. Untuk meningkatkan keandalan pengukuran penelitian ini, maka telah dilakukan: 1) Pelatihan petugas yang terlibat dalam kegiatan pengukuran dan pengumpulan data; 2) Standarisasi cara pengukuran dan otomatisasi instrumen, baik yang dilakukan di Labkesda DKI Jakarta, Laboratorium Klinik Prodia maupun Laboratorium Klinik RS Kanker Dharmais.

Karakteristik alat ukur dan pengukuran lainnya dalam penelitian adalah kesahihan atau validitasnya, yaitu seberapa dekat alat ukur menyatakan apa yang seharusnya diukur. Kesalahan hasil pengukuran yang makin besar berakibat pada hasil pengukuran makin kurang sah, dan dipengaruhi oleh bias pengukuran, yaitu : bias pengamat, bias subyek, dan bias instrumen. Bias pengamat adalah distorsi yang konsisten yang dilakukan oleh peneliti dalam menilai maupun melaporkan hasil pengukuran. Bias subyek adalah distorsi konsisten oleh subyek, sedangkan bias instrumen adalah distorsi atau kesalahan sistematis akibat tidak akuratnya alat ukur. Bias instrumen dalam penelitian ini diatasi dengan melakukan kalibrasi alat yang digunakan, yang sudah merupakan prosedur standar pemeriksaan laboratorium oleh ketiga Laboratorium Klinik yang terlibat dalam penelitian ini. Pemeriksaan laboratorium untuk mengukur kadar Imunoglobulin G (IgG) dilakukan oleh Laboratorium Klinik PRODIA dengan menggunakan metode turbidimetri (dengan reagen Advia 1200 buatan ADVIA Chemistry Systems – Bayer Health Care), dan *Coefficient of Variation (CV)* 2,7%. Sedangkan pemeriksaan kadar CD4⁺ dilakukan oleh Laboratorium RS Kanker Dharmais dengan menggunakan metode Flowcytometri (dengan reagen BD TriTest™ buatan Becton Dickinson – USA) dengan *Coefficient of Variation (CV)* 3,38%. Pemeriksaan laboratorium tersebut di atas dilakukan oleh laboratorium yang telah lulus sertifikasi ISO 9001:2000 dan ISO 9001:2008.

Penelitian ini memiliki keterbatasan yang dapat mempengaruhi penilaian dan kesimpulan tentang efek suplementasi soy-isoflavon terhadap respons imun spesifik serta simtom menopause pada perempuan pascamenopause. Salah satu keterbatasan adalah bahwa dalam hal variabel keluaran (*outcome*) penelitian ini hanya menggunakan masing-masing 1 indikator saja, yaitu kadar IgG untuk menilai respons imun spesifik humoral dan kadar CD4⁺ untuk menilai respons imun spesifik seluler, sedangkan diketahui ada beberapa indikator respons imun lain yang tidak diperiksa pada penelitian ini, dikarenakan keterbatasan dana penelitian untuk membiayai pemeriksaan indikator lainnya. Pemeriksaan kadar IgG dan CD4⁺ dipilih sebagai indikator pada penelitian ini karena secara teknis merupakan pemeriksaan imunologik yang umum dan sudah terstandarisasi dilakukan di laboratorium klinik rujukan dengan *coefficient of variation (CV)* yang baik. Keterbatasan lain adalah ketidakmampuan untuk mengendalikan bahwa subyek benar-benar tidak mengkonsumsi suplemen selain suplemen yang diberikan selama kegiatan penelitian ini berlangsung, yang mungkin dapat berinteraksi dengan soy-isoflavon dan mempengaruhi respons imun spesifik.

Keterbatasan lain dalam penelitian ini adalah bahwa pengisian MRS yang digunakan sebagai instrumen diagnostik adanya gangguan menopause pada penelitian ini dilakukan oleh subyek sendiri berdasarkan ada atau tidaknya dan berat-ringannya gejala menopause yang dialami, sehingga cenderung dapat menimbulkan bias. Pemilihan MRS sebagai instrumen diagnostik dilakukan karena kuesioner ini hanya terdiri dari 11 pertanyaan yang harus dijawab oleh subyek (dibandingkan dengan instrumen lain yang terdiri dari jauh lebih banyak pertanyaan), sehingga tidak terlalu menyulitkan atau membosankan bagi subyek yang diminta mengisi. Kuesioner MRS ini sebelumnya sudah diujicobakan di Indonesia dengan melibatkan 1000 responden, dan menghasilkan *total internal consistency coefficients (α)* sebesar 0,84 dan *test-retest correlation coefficient* sebesar 0,8 (Heinemann, 2003).

6.2 Implikasi hasil penelitian terhadap teori

6.2.1 Pengaruh suplementasi soy-isoflavon terhadap respons imun spesifik pada perempuan pascamenopause

Evaluasi terhadap respons imun spesifik pada perempuan pascamenopause dalam penelitian ini menggunakan kadar Immunoglobulin G (IgG) sebagai parameter atau tolok ukur respons imun spesifik humoral dan kadar CD4⁺ sebagai tolok ukur respons imun spesifik seluler. Pada penelitian *randomized double-blind controlled trial* ini, pemberian suplementasi soy-isoflavon 100mg per hari selama 12 minggu kepada perempuan pascamenopause tidak dapat dibuktikan meningkatkan kadar IgG, bahkan cenderung memberikan efek immunosupresif. Sebaliknya, pemberian suplementasi 100mg soy-isoflavon selama 12 minggu cenderung dapat meningkatkan kadar CD4⁺, walaupun tidak ada perbedaan kadar CD4⁺ yang bermakna secara statistik antara kelompok subyek yang mendapat suplementasi soy-isoflavon dan kelompok kontrol. Peningkatan kadar CD4⁺ pasca suplementasi soy-isoflavon ini cenderung lebih nyata pada subkelompok pascamenopause lanjut, IMT normal dan asupan isoflavon makanan yang cukup.

Penelitian-penelitian lain yang menilai pengaruh suplementasi soy-isoflavon terhadap respons imun spesifik pada perempuan pascamenopause masih sangat terbatas jumlahnya. Estradiol (yang juga bersifat imunomodulator) pada perempuan pascamenopause kadarnya sudah sangat rendah (<20 mg/dL), dan soy-isoflavon (genistein, daidzein dan equol) yang memiliki struktur yang sama dengan estrogen (17 β -estradiol) akan menempati reseptor estrogen (ER- α dan ER- β) diberikan sebagai suplementasi serta diharapkan dapat mempengaruhi fungsi imunitas pada manusia karena memiliki sifat agonis dan antagonis lemah terhadap estrogen. Seperti halnya estradiol, isoflavon diharapkan dapat mempengaruhi imunokompetensi melalui *estrogen-receptor mediated mechanisms*. Estradiol berikatan sama kuat dengan kedua jenis reseptor tersebut, sedangkan isoflavon lebih kuat berikatan dengan ER- β . Pada perempuan pascamenopause kedua jenis reseptor estrogen tersebut pun telah mengalami penurunan fungsi dan daya afinitasnya, terlebih lagi terhadap isoflavon yang potensinya jauh lebih rendah dibandingkan dengan estradiol (E2). Pada penelitian

ini, kedua sub-kelompok pascamenopause dini dan lanjut mengalami peningkatan kadar $CD4^+$ (2,8% dan 6%) sesudah diberikan suplementasi 100mg soy-isoflavon selama 12 minggu, bahkan peningkatan kadar $CD4^+$ lebih tinggi pada sub-kelompok pascamenopause lanjut. Bagaimana mekanisme imun bekerja, apakah melalui ikatan estradiol dengan reseptor ER- α atau ER- β belum diketahui secara pasti hingga kini. Beberapa peneliti menyimpulkan bahwa potensiasi limfosit mungkin tidak melibatkan mekanisme *estrogen receptor (ER)-dependent* karena daidzein dapat menyebabkan potensiasi limfosit, sedangkan genistein tidak, padahal kedua jenis isoflavon tersebut mempunyai kemampuan afinitas yang sama terhadap reseptor estrogen pada jaringan yang *ER-sensitive*.

Beberapa bukti kajian sebelumnya juga menunjukkan bahwa mekanisme seluler dan potensi soy-isoflavon sangat peka terhadap kadar estrogen dalam sirkulasi. Selain itu pula pada perempuan pascamenopause peran estradiol lebih banyak digantikan oleh *estrone* dan *estriol* yang berbeda reseptornya dengan estradiol dengan daya afinitas terhadap isoflavon lebih lemah lagi. Pada penelitian ini, kedua subkelompok subyek dengan kadar estradiol awal ≤ 5 mg/dL dan > 5 mg/dL mengalami peningkatan kadar $CD4^+$ yang sama sebesar 4,2% sesudah diberikan suplemen 100 mg soy-isoflavon selama 12 minggu, sedangkan pada kelompok kontrol mengalami penurunan kadar $CD4^+$. Sub-kelompok subyek dengan IMT normal pada penelitian ini memberikan respons yang baik berupa peningkatan kadar $CD4^+$ sebesar 14,2%, sedangkan pada sub-kelompok subyek dengan IMT $>$ normal cenderung mengalami penurunan kadar $CD4^+$ sesudah suplementasi. Data tersebut menunjukkan bahwa kadar estradiol dalam sirkulasi perempuan pascamenopause tidak mempengaruhi efek suplementasi isoflavon. Data dari beberapa penelitian *in vitro* dan percobaan binatang menunjukkan bahwa isoflavon dapat memperkuat atau bahkan menekan imunokompetensi juga bergantung kepada jumlah asupan atau diet isoflavon, konsentrasi isoflavon, dan juga yang terpenting adalah jenis dan kepekaan jaringan target serta saat pemaparan atau pemberian isoflavon. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada subkelompok subyek dengan asupan isoflavon dalam makanan yang cukup memberikan respons yang lebih baik terhadap suplementasi 100 mg soy-isoflavon berupa peningkatan kadar $CD4^+$ pasca suplementasi selama 12 minggu.

Masyarakat atau penduduk Asia –termasuk Indonesia- cenderung mengkonsumsi isoflavon lebih banyak dalam makanan hariannya dibandingkan dengan penduduk Eropa dan Amerika. Diperkirakan pula masih ada sejumlah faktor lainnya yang berperan dan masih perlu diteliti lebih lanjut.

Beberapa hasil penelitian lain yang dilakukan secara *in vitro* atau pada percobaan binatang memang telah berhasil menunjukkan adanya peningkatan respons imun sesudah suplementasi soy-isoflavon, tetapi lain halnya dengan hasil penelitian pada manusia. Soy-isoflavon juga memiliki beberapa karakteristik imun lainnya, yaitu sebagai anti-oksidan, anti-proliferatif, anti-inflamasi dan kemampuan untuk menginduksi diferensiasi sel. Pada studi *in vitro* dengan dosis yang sangat tinggi, *genistein* -sebagai salah satu jenis flavonoid- mempunyai kemampuan menginduksi proses apoptosis dan menghambat angiogenesis yang terlibat dalam proses peningkatan pertumbuhan sel dan selanjutnya juga terkait dengan respons imunitas. Wang dan kawan-kawan (1997) melakukan penelitian dengan memberikan daidzein pada konsentrasi fisiologik ke dalam medium kultur ternyata dapat meningkatkan potensiasi limfosit dan meningkatkan produksi interleukin-2 (IL-2) dan IL-3 pada kultur *mitogen-activated murine lymphocyte*. Penelitian yang dilakukan oleh Paes (2001) dengan memberikan soy-isoflavon 100 mg per hari selama 4 minggu tidak menyebabkan perubahan yang bermakna pada proliferasi limfosit, *cytokine* IL-2 dan IFN, serta tidak berhasil meningkatkan respons imun pada perempuan pascamenopause. Ryan-Borchers dan kawan-kawan (2006) memberikan suplementasi 70 mg soy-isoflavon per hari kepada perempuan pascamenopause sehat selama 16 minggu ternyata dapat meningkatkan populasi limfosit B sampai 12,2% dibandingkan kelompok kontrol, tetapi tidak terjadi perbedaan yang bermakna pada jumlah limfosit T dan *NK cells*.

Pada penelitian ini yang memberikan suplementasi 100 mg soy-isoflavon secara oral (tablet) juga tidak dapat langsung dibandingkan dengan hasil-hasil penelitian lain sebelumnya. Hasil-hasil penelitian yang saling bertentangan tersebut, kemungkinan karena terdapat beberapa perbedaan penting dalam hal: subyek penelitian, jenis isoflavon yang digunakan, cara pemberian dan lama pemberiannya. Yellayi (2001) memberikan injeksi *genistein* secara langsung atau suplementasi daidzein dosis tinggi pada mencit yang sudah dilakukan ovariectomi,

ternyata mengakibatkan penurunan proporsi sel CD4⁺ dan CD8⁺. Penelitian ini menggunakan tablet suplemen yang mengandung 250mg isoflavon dengan kadar 40% atau setara dengan 100 mg soy-isoflavon murni yang menyerupai komposisi alamiah isoflavon dalam kacang kedelai. Komposisi soy-isoflavon yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan suplemen soy-isoflavon pada penelitian ini memiliki kandungan flavonoid terbesar adalah genistein sebesar 55mg (22%) dan daidzein sebesar 40mg (16,5%), dan sesudah suplementasi selama 12 minggu didapatkan kadar IgG yang menurun yang kemungkinan disebabkan karena efek supresi pada limfosit B, sehingga tidak dapat dibuktikan bahwa pemberian suplementasi soy-isoflavon 100 mg per hari tersebut di atas dapat meningkatkan respons imun humoral.

Perbedaan hasil penelitian juga terkait dengan bioavailabilitas individual soy isoflavon yang merupakan hal yang penting dan merupakan salah satu keterbatasan penelitian ini, karena pada studi *in vivo*, beberapa faktor dapat mempengaruhi absorpsi dan metabolisme isoflavon dalam tubuh manusia yang sifatnya individual. Aktivitas soy-isoflavon dapat dipengaruhi oleh keberadaan komponen lainnya di dalam produk kedelai alamiah. Kadar estrogen endogen pasca suplementasi yang tidak diukur pada penelitian ini juga merupakan faktor penting yang mempengaruhi hasil penelitian, terlebih lagi sebagian besar subyek mempunyai indeks massa tubuh yang tinggi dan tergolong kelebihan berat badan sehingga ada kemungkinan produksi estrogen dari jaringan lemak akan cukup tinggi.

6.2.2 Pengaruh suplementasi soy-isoflavon terhadap simtom menopause pada perempuan pascamenopause

Salah satu alasan utama mengapa kebanyakan perempuan perimenopause datang berkonsultasi dan meminta saran dokter tentang terapi hormonal adalah ingin mengatasi simtom menopause berupa gangguan vasomotor, khususnya gejala panas. Prevalensi gejala panas di Jepang sebesar 18% dan Indonesia sebesar 20% (Knight, 1996), sedangkan di beberapa negara di Asia Tenggara lainnya berkisar antara 14-60% (Boulet, 1994) dan Eropa sekitar 73% (Freeman, 2007). Banyak studi telah mengevaluasi hubungan antara suku bangsa dan budaya

dengan simtom menopause dan sikap terhadap simtom menopause tersebut. Beberapa studi *systematic review* juga telah dilakukan untuk menilai prevalensi simtom menopause ini di antara berbagai bangsa di seluruh dunia yang menunjukkan bahwa simtom menopause lebih sedikit dialami oleh penduduk Asia dibandingkan dengan penduduk Amerika dan Eropa, 2 gejala menopause yang paling sering dialami adalah gejalak panas dan keringat malam (Freeman, 2007). Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa prevalensi simtom menopause dipengaruhi oleh beberapa faktor demografik dan psikososial termasuk kebiasaan atau gaya hidup. Penelitian yang dilakukan di populasi juga memberikan hasil yang berbeda dengan penelitian yang dilakukan di klinik dalam hal prevalensi simtom menopause ini. Rendahnya prevalensi simtom menopause di Asia menyebabkan sulitnya mendapatkan hasil studi mengenai manfaat isoflavon terhadap simtom menopause serta membandingkannya dengan hasil penelitian ini dan juga banyak penelitian lainnya yang kebanyakan dilakukan di Eropa dan Amerika.

Beberapa kajian berbasis bukti menunjukkan bahwa terapi estrogen masih merupakan terapi paling efektif untuk mengatasi gejalak panas dan terbukti dapat menurunkan gejalak panas ini sampai 70%, sedangkan plasebo dapat mengurangi gejalak panas ini antara 5 – 50% (Morelli, 2002). Beberapa kajian terdahulu menunjukkan hasil yang mendukung manfaat fitoestrogen untuk mengatasi simtom menopause, terutama gejalak panas (*hot flushes*). Pada penelitian ini, analisis terhadap simtom menopause secara menyeluruh tidak dapat membuktikan bahwa pemberian suplemen *soy*-isoflavon 100 mg per hari selama 12 minggu kepada perempuan pascamenopause dapat menurunkan kejadian simtom menopause lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kajian terhadap gangguan psikologik yang dialami subyek penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian suplemen 100 mg *soy* isoflavon ini cenderung menurunkan gangguan gangguan psikologik lebih baik dibandingkan dengan plasebo hanya pada sub-kelompok tertentu saja, yaitu kelompok subyek dengan kadar estradiol awal >5 mg/dL dan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup. Pada penelitian ini juga tidak dapat dibuktikan bahwa pemberian suplemen *soy*-isoflavon 100 mg per hari selama 12 minggu dapat menurunkan gejala gangguan seksual dan

urogenital lebih baik dibandingkan dengan plasebo (kontrol), kecuali pada subkelompok pascamenopause dini dan subyek dengan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup. Demikian pula pada penelitian ini, kajian terhadap gangguan vasomotor menunjukkan bahwa pemberian suplemen 100 mg *soy* isoflavon selama 12 minggu kepada perempuan pascamenopause menurunkan kejadian gangguan vasomotor tidak pada seluruh subyek, tapi cenderung lebih baik dibandingkan dengan plasebo pada beberapa subkelompok subyek, yaitu subyek dengan indeks massa tubuh (IMT) awal normal, kadar estradiol awal >5 mg/dL dan asupan isoflavon makanannya cukup, walaupun tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik di antara kedua kelompok (isoflavon dan kontrol).

Bagaimana mekanisme kerja isoflavon sehingga dapat menurunkan gejala vasomotor belum diketahui secara pasti hingga saat ini. Salah satu penjelasan yang mungkin mengenai bagaimana isoflavon menimbulkan efek terhadap simptom menopause adalah karena aktivitasnya pada reseptor estrogen, yang mana mampu berikatan dengan senyawa seperti estrogen alamiah dan isoflavon yang struktur kimianya mirip (Glazier, 2001). Penjelasan lainnya mengenai mekanisme kerja isoflavon ini adalah melalui efek antioksidan yang dimilikinya, genistein bekerja menghambat *tyrosine protein kinase* yang berperan pada aktivitas endothelial vaskuler (Crawford, 1996; Wei, 1995). Kemungkinan lain adalah isoflavon memperkuat estrogen endogen, yaitu isoflavon memperkuat kerja 17β -estradiol, yang merupakan efek tidak langsung isoflavon terhadap *sex-hormone binding globuline* (SHBG), di mana isoflavon berkompetisi dengan estrogen. Pada awal penelitian ini walaupun kadar estradiol subyek tidak berbeda bermakna secara statistik antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol, peningkatan estradiol endogen ini mungkin terlalu kecil untuk menurunkan simptom menopause secara signifikan, walaupun pada penelitian lainnya menimbulkan perubahan yang bermakna.

Beberapa Cochrane *systematic review* dan *meta-analysis* yang dilakukan Jacobs (2009) dan Bolanos (2010) terhadap beberapa penelitian yang ditujukan untuk menguji efektivitas isoflavon untuk mengatasi gejala vasomotor dengan metodologi yang berbeda-beda ternyata tidak dapat mencapai suatu hasil atau bukti yang konklusif, walaupun ada beberapa indikasi manfaat *soy* isoflavon

terhadap frekuensi dan beratnya gejala panas. Penelitian-penelitian *soy* isoflavon yang telah banyak dilakukan bersifat heterogen dalam hal intervensi dan pengukuran keluaran (*outcome*). Banyak pertanyaan muncul seputar dosis optimal yang dibutuhkan serta lama pemberian suplemen untuk menghasilkan respons klinik yang diinginkan. Beberapa ahli mempermasalahkan lama pemberian *soy* isoflavon pada beberapa penelitian yang dianggap terlalu singkat untuk dapat memberikan respons klinik.

Besarnya asupan isoflavon dalam makanan harian yang biasa dikonsumsi juga mempengaruhi asupan harian. Beberapa penulis atau peneliti mensitasi perkiraan asupan isoflavon dalam makanan harian penduduk Asia sekitar 50 – 200 mg. Walaupun tidak ada perbedaan yang bermakna di antara kelompok isoflavon dan kelompok kontrol dalam penelitian ini dalam hal asupan isoflavon dan makanan lainnya (karbohidrat, lemak dan protein) dalam makanan harian subyek penelitian ini, metabolisme isoflavon seperti juga metabolisme estrogen, sangat bervariasi di antara individu, sehingga jumlah asupan isoflavon yang sama pada individu yang berbeda dapat menghasilkan respons yang berbeda. Metabolisme isoflavon juga dipengaruhi oleh komponen-komponen lain dalam makanan. Diet tinggi karbohidrat yang meningkatkan fermentasi usus mengakibatkan meningkatnya biotransformasi isoflavon dan kadar equol yang lebih tinggi. Metabolisme ini dapat dihambat oleh keberadaan antibiotik yang mengubah flora usus. Salah satu keterbatasan penelitian ini adalah walaupun subyek mengkonsumsi suplemen penelitian, tapi tidak ada kepastian bahwa subyek tidak mengkonsumsi suplementasi lain selain suplemen yang diberikan dalam penelitian ini, yang mungkin dapat mengganggu keluaran atau hasil penelitian.

Aktivitas isoflavon lainnya pada tingkat jaringan target juga meliputi *nonreceptor-mediated mechanisms* (mekanisme yang tidak diperantarai reseptor), seperti fungsinya sebagai antioksidan, inhibisi enzim yang terlibat dalam biosintesis estrogen (*17 β -hydroxysteroid dehydrogenase*), inhibisi *5 α -reductase* dan *aromatase*, dan inhibisi *protein kinase* yang terlibat dalam proses *intracellular signaling*. Seperti juga estrogen, isoflavon juga menstimulasi sintesis *sex-hormone binding globulin (SHBG)* di hati dan mungkin juga memegang peran

dalam menurunkan tingkat bioavailabilitas estrogen (yang merupakan hormon seks steroids bebas) melalui mekanisme ini.

Sebagaimana estrogen, isoflavon juga mengalami berbagai mekanisme biokimiawi di dalam tubuh. Aktivitas isoflavon di tingkat seluler tergantung pada jaringan target, status reseptor jaringan dan kadar estrogen endogen. Pada perempuan pramenopause di mana kadar estrogen endogen dalam sirkulasi darah tinggi, isoflavon dapat berperan sebagai estrogen antagonis; sedangkan pada perempuan pascamenopause dengan kadar estrogen endogen yang lebih rendah menimbulkan efek yang berlawanan sebagai estrogen agonis. Pada awal penelitian, seluruh subyek pada penelitian ini yang merupakan perempuan pascamenopause mempunyai kadar estradiol yang rendah (≤ 20 mg/dL) sesuai dengan karakteristik perempuan pascamenopause, bahkan beberapa subyek mempunyai kadar estradiol yang sangat rendah (5 mg/dL), sehingga diharapkan bahwa pemberian suplementasi soy-isoflavon dapat bersifat agonis terhadap estrogen. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kadar estrogen endogen dan kadar isoflavon pasca suplementasi, sehingga tidak dapat diketahui hubungan keduanya dengan perubahan simptom menopause yang terjadi.

Pada studi acak lainnya yang melibatkan 58 subyek yang melaporkan 14 kali atau lebih gejala panas per hari, baik tepung kedelai maupun tepung gandum dapat menurunkan frekuensi gejala panas setelah jangka waktu 3 bulan (Murkies, 1995). Pada *placebo-controlled trial* lainnya yang melibatkan 75 perempuan pascamenopause yang mengkonsumsi makanan yang kandungannya diperkaya (*enriched*) dengan isoflavon dan lignan tidak dapat membuktikan adanya perbaikan terhadap simptom menopause dibandingkan dengan kelompok kontrol (Brzezinski, 1997). Studi lainnya berhasil membuktikan adanya penurunan yang lebih banyak dalam hal frekuensi gejala panas setelah 104 perempuan pascamenopause mengkonsumsi makanan dengan kandungan isoflavon tinggi dibandingkan dengan plasebo (Albertazzi, 1998). Meskipun terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik, perbedaan di antara kedua kelompok tidak terlalu besar, yaitu mereka yang mengkonsumsi kedelai mengalami penurunan frekuensi gejala panas sampai 45% dan plasebo

menurunkan sampai 30%, jauh berbeda jika dibandingkan dengan penggunaan terapi estrogen yang berhasil menurunkan frekuensi gejala panas sampai 70%.

Persentase besar kandungan genistein, daidzein dan glycitein dalam suplementasi soy-isoflavon diduga juga mempengaruhi efek yang ditimbulkan. Efek estrogenik relatif isoflavon dibandingkan dengan estradiol telah dibuktikan oleh Markiewicz, et al (1993) pada kultur sel tubuh manusia. Genistein yang dianggap paling poten dibandingkan dengan genistein, daidzein, dan equol, hanya mempunyai potensi 1/1000 dibandingkan dengan estradiol. Meskipun isoflavon kurang poten dibandingkan dengan estrogen endogen, konsumsi makanan yang mengandung banyak isoflavon menghasilkan konsentrasi isoflavon yang jauh lebih tinggi dibandingkan konsentrasi estrogen endogen. Konsentrasi isoflavon yang tinggi ini akan menimbulkan efek estrogenik yang poten. Studi yang dilakukan oleh peneliti menggunakan soy-isoflavon 40% dengan kandungan genistein dan daidzein sekitar 38%, sementara Han et al (2002) melaporkan bahwa suplementasi 100 mg soy-isoflavon dengan kandungan 88mg genistein dan daidzein per hari selama 16 minggu efektif mengatasi gangguan vasomotor (gejala panas). Penelitian tersebut juga melaporkan beberapa keuntungan lain yang tidak dilaporkan oleh studi lainnya yang memberikan 100 mg soy-isoflavon per hari dengan kandungan genistein dan daidzein kurang dari 50 mg. Penelitian yang dilakukan oleh Ferrari (2009) menyimpulkan bahwa dalam kondisi sehari-hari, isoflavon dosis tinggi (60 mg genistein dalam 80 mg isoflavon) yang diberikan selama 12 minggu dapat digunakan untuk mengatasi masalah gejala panas pada perempuan pascamenopause karena memberikan efek yang lebih baik dibandingkan dengan plasebo dengan tingkat keamanan yang tinggi.

Di antara 9 penelitian yang membandingkan antara ekstrak isoflavon dengan plasebo, 5 penelitian di antaranya menunjukkan hasil yang positif dan 4 penelitian menunjukkan hasil negatif. Analisis sensitivitas yang dilakukan untuk mengkaji efek kualitas, kadar isoflavon yang aktif (antara 33 sampai 120 mg per hari) dan frekuensi gejala panas ternyata tidak menjelaskan perbedaan hasil yang didapat. Sebanyak 3 di antara 6 penelitian dengan menggunakan plasebo sebagai kontrol yang menunjukkan adanya perbedaan frekuensi gejala panas (Bicca, 2004; Faure, 2002; Khaodhiar, 2007) dengan penurunan frekuensi sebesar

74%, 61% dan 50% dengan pemberian ekstrak isoflavon dibandingkan dengan penurunan sebesar 43%, 21% dan 38% dengan pemberian plasebo. Penelitian yang membandingkan ekstrak isoflavon dengan terapi estrogen menunjukkan tidak adanya perbedaan dalam persentase jumlah subyek yang melaporkan penurunan frekuensi gejala panas, tetapi merasakan gejala yang lebih ringan (Kaari, 2006). Meskipun tidak menggunakan plasebo sebagai kontrol, peneliti menyimpulkan bahwa ekstrak soy-isoflavon 120 mg per hari efektif untuk menurunkan frekuensi gejala panas. Kesulitan dalam hal membandingkan hasil penelitian ini dengan penelitian lain juga dikarenakan adanya perbedaan dalam penilaian keluaran (*outcome*). Penelitian ini menggunakan *Menopause Rating Scale* (MRS) sebagai alat ukur simtom menopause (dan ketiga domain gangguan: psikologik, vasomotor dan urogenital) yang dialami, dan walaupun menggunakan sistem skoring, kesimpulan akhir penilaian ini hanya menentukan apakah subyek mengalami gangguan atau tidak, tanpa memperhatikan frekuensi dan derajat berat-ringannya gangguan yang dialami subyek. Beberapa penelitian sebagaimana dikemukakan sebelumnya menggunakan instrumen diagnostik dan pengukuran serta kriteria diagnostik yang berbeda dengan penelitian ini dan beberapa di antaranya menentukan frekuensi serta derajat berat-ringannya gangguan yang dialami subyek. Skor yang menunjukkan derajat (berat-ringannya) gangguan menunjukkan perbedaan yang bermakna pada 2 di antara 5 penelitian, akan tetapi masing-masing menggunakan sistem skor yang berbeda, yaitu *Kupperman vasomotor scale* (Han, 2002) dan *simple severity scale* (Upmalis, 2000).

6.3 Implikasi hasil penelitian terhadap program suplementasi perempuan pascamenopause

Mengingat tingginya kejadian gangguan simtom menopause yang dapat berpengaruh terhadap kualitas hidup pada perempuan pascamenopause, pihak pengambil kebijakan perlu mempertimbangkan adanya intervensi untuk menurunkan gangguan menopause.

Meskipun dari hasil *systematic review* dalam *Cochrane Collaboration* (Lethaby, 2007) menunjukkan tidak terdapat fakta atau bukti yang konklusif perihal manfaat soy-isoflavon terhadap gejala vasomotor, beberapa penelitian

terkini melaporkan bahwa *soy* isoflavon dapat mengurangi gejala gejala panas (*hot flushes*) secara bermakna, memperbaiki profil lipid plasma, serta menghambat perkembangan aterosklerosis sehingga mengurangi risiko penyakit kardiovaskular (Nedrow, 2006). Selain itu isoflavon juga menghambat pertumbuhan sel-sel tumor/kanker payudara dan kanker endometrium (selaput lender rahim), suatu efek yang sangat menguntungkan bagi pengobatan menopause yang dapat dipastikan akan berjangka waktu lama, bahkan akhir-akhir ini juga dilaporkan bahwa pemberian fitoestrogen dapat memulihkan ingatan atau memori, sekaligus mengurangi perasaan tertekan (depresi). Beberapa peneliti mengatakan, bahwa kelemahan fitoestrogen yang dianggap cukup berarti adalah bahwa fitoestrogen sedikit atau tidak berkhasiat dalam pencegahan osteoporosis dan tidak pula menunjukkan manfaat untuk mengatasi kekeringan atau atrofi vagina (*vaginal dryness*) (Nikander, 2003; Kreb, 2004). Beberapa hasil penelitian lain yang menilai pengaruh suplementasi *soy* isoflavon terhadap respons imun spesifik perempuan pascamenopause masih bersifat inkonklusif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian suplementasi 100 mg *soy*-isoflavon mampu meningkatkan respons imun seluler dan menurunkan atau mengurangi gangguan vasomotor pada perempuan pascamenopause, akan tetapi hanya pada kelompok dengan karakteristik tertentu saja. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa suplementasi 100 mg *soy*-isoflavon tidak dapat meningkatkan respons imun humoral, bahkan cenderung bersifat immunosupresif pada perempuan pascamenopause dengan karakteristik tertentu. Dengan demikian dapat diartikan bahwa efek pemberian suplementasi *soy*-isoflavon terkait dengan karakteristik perempuan pascamenopause, sehingga tidak dapat digeneralisasikan pada semua perempuan pascamenopause, atau dapat diartikan pula bahwa penanganan perempuan pascamenopause tidak dapat digeneralisasikan dan tetap memerlukan penanganan secara individual.

Biaya produksi untuk pembuatan suplemen isoflavon ini adalah sekitar Rp. 2000,- (dua ribu rupiah) per tablet, sehingga bila perempuan pascamenopause atau perimenopause disarankan untuk mengkonsumsi suplemen isoflavon setiap hari, maka berarti perempuan tersebut harus mengeluarkan dana tambahan sebesar Rp 60.000,- (enam puluh ribu) rupiah per bulan. Biaya tambahan tersebut kiranya

akan cukup membebani yang bersangkutan mengingat bahwa sebagian besar dari mereka sudah tidak bekerja secara aktif dan tidak mempunyai penghasilan yang cukup. Sekiranya Pemerintah bermaksud menjadikan suplementasi isoflavon ini sebagai program yang dibiayai oleh negara untuk meningkatkan kualitas hidup perempuan pascamenopause, maka untuk memberikan suplementasi ini kepada sekitar 11,5% (sekitar 25 juta) penduduk perempuan Indonesia yang berada pada usia menopause akan membutuhkan biaya yang sangat besar dan sangat membebani keuangan negara.

Selain menjaga kesehatan dengan melakukan gaya hidup sehat (tidak merokok dan berolahraga teratur) serta mengkonsumsi diet yang sehat, sesuai dengan Konsensus Penatalaksanaan Menopause (HIFERI – 2010), sebagai alternatif pemberian suplemen isoflavon, penduduk Indonesia, yaitu perempuan perimenopause sebaiknya juga meningkatkan konsumsi makanan hariannya yang banyak mengandung isoflavon, sebagaimana penduduk Jepang dan Cina yang mengkonsumsi isoflavon cukup tinggi dalam makanan hariannya. Diet yang sehat untuk perempuan menopause terdiri dari buah-buahan, sayuran, protein (ikan 2x/minggu), diet < 1 sendok teh garam/hari, kolesterol < 300 mg/hari, kalsium 1 gram/hari dan vitamin D 800 IU/hari (HIFERI, 2010). Tempe dan tahu yang merupakan makanan sebagian masyarakat Indonesia dan dibuat dari kedelai mengandung isoflavon yang terdiri dari genistein dan daidzein. Dalam 100 mg tempe kering memiliki kandungan 73,2 mg isoflavon, sedangkan 100 mg tahu mengandung 22,8 mg isoflavon. Namun karena proses penyerapan di usus terhadap tempe yang tidak begitu baik, maka pada akhirnya diperoleh kadar isoflavon yang tidak berbeda antara keduanya. Untuk memperoleh efek biologik dianjurkan untuk mengkonsumsi bahan makanan dengan kandungan isoflavon 80 mg per hari (Depkes RI, 2002). Kadar tersebut dapat diperoleh dengan asupan 112 gram tahu (satu setengah potong sedang) atau 56 gram tempe (2 potong sedang). Bahan makanan lain yang juga mengandung fitoestrogen yaitu buah pepaya dan beberapa tumbuhan yang dikenal sebagai obat tradisional oleh penduduk asli Amerika yaitu *red clover* atau *black cohosh* (*Cimifuga racemosa*) yang dimanfaatkan untuk menghilangkan nyeri otot dan sendi serta keluhan sukar tidur pada perempuan menopause.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Suplementasi 100 mg *soy* isoflavon selama 12 minggu pada perempuan pascamenopause sehat tidak terbukti meningkatkan respons imun humoral (kadar IgG). Suplementasi 100 mg *soy* isoflavon pada perempuan pascamenopause dengan indeks massa tubuh (IMT) yang normal cenderung dapat meningkatkan kadar IgG.
2. Suplementasi 100 mg *soy* isoflavon selama 12 minggu tidak terbukti dapat meningkatkan respons imun spesifik seluler (CD4⁺) pada perempuan pascamenopause sehat, tetapi cenderung dapat meningkatkan respons imun spesifik seluler (CD4⁺) pada perempuan pascamenopause dengan indeks massa tubuh (IMT) yang normal dan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup.
3. Suplementasi 100 mg *soy*-isoflavon selama 12 minggu pada perempuan pascamenopause tidak terbukti dapat menurunkan angka kejadian simtom menopause. Suplementasi 100 *soy*-isoflavon tersebut dapat menurunkan gejala vasomotor pada perempuan pascamenopause dengan indeks massa tubuh (IMT) yang normal dan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup.

7.2 Saran

7.2.1 Saran akademik

Dalam beberapa tahun terakhir, suplementasi *soy* makin banyak dikonsumsi masyarakat dunia karena potensi efek yang menguntungkan bagi kesehatan. Meskipun demikian, pengaruh konsumsi *soy* terhadap fungsi imunitas dan simtom menopause pada manusia masih belum jelas. Penelitian tentang efek suplementasi *soy*-isoflavon pada manusia khususnya perempuan pascamenopause di Indonesia masih sangat terbatas. Beberapa penelitian *in vitro* dan *in vivo* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa mekanisme seluler efek *soy*-isoflavon sangat

bergantung kepada kadar estrogen dalam sirkulasi, jumlah asupan isoflavon dalam makanan dan konsentrasi isoflavon, serta mungkin yang terpenting adalah jenis jaringan target. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi soy isoflavon memberikan pengaruh yang cenderung baik pada perempuan pascamenopause dengan indeks massa tubuh (IMT) yang normal dan asupan isoflavon dalam makanan harian yang cukup, sehingga sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan yang lebih mendalam pada subyek dengan karakteristik tersebut. Penelitian yang mendatang diharapkan juga meneliti berapa dosis suplementasi yang tepat dengan jangka waktu yang lebih lama sehingga dapat memberikan hasil yang lebih baik dan lebih nyata, mengingat bahwa beberapa parameter respons imun sudah menunjukkan adanya kecenderungan yang meningkat. Jumlah subyek yang dilibatkan dalam penelitian semacam ini sebaiknya ditambah mengingat tingginya variabilitas yang diobservasi pada bioavailabilitas isoflavon yang bersifat individual.

7.2.2 Saran aplikatif

Data epidemiologik menunjukkan bahwa sebagian penduduk Asia yang banyak mengkonsumsi kedelai (soy) dalam makanan hariannya mengalami simtom menopause atau kelainan yang terkait dengan rendahnya kadar estrogen pada perempuan pascamenopause lebih sedikit dibanding penduduk Eropa dan Amerika yang konsumsinya sangat rendah. Mengingat potensi isoflavon yang sangat rendah dibandingkan dengan estrogen, maka perlu dipikirkan dan diteliti jenis makanan apa serta berapa banyak kebutuhan konsumsi makanan mengandung kedelai/isoflavon untuk dapat mencapai efek estrogenik yang diinginkan sehingga perempuan pascamenopause dapat terhindar dari penyakit-penyakit yang ada hubungannya dengan menurun atau rendahnya kadar estrogen dalam tubuh mereka. Pada perempuan pascamenopause, sel target yang dituju juga mengalami penurunan fungsi karena proses penuaan (*ageing*) dan apoptosis, sehingga peningkatan konsumsi kedelai atau makanan yang mengandung soy sebaiknya dimulai sebelum terjadinya menopause, yaitu pada masa pramenopause di mana kadar estrogen sudah mengalami penurunan.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas, AK, Lichtman, AH, Pober, JS. 2000. General properties of the immune response. In: Cellular and molecular immunology, 4th edition, WB Saunders, Philadelphia, pp. 3-16.

Abbas, AK, Lichtman, AH. 2008. Introduction to the immune system, in: Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System, 3rd edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 1-22.

Albertazzi, P., Pansini, F., Bonaccorsi, G., et al. 1998. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. *Obstetrics Gynecology*, vol. 91, pp. 6-11.

Albertazzi, P. 2007. Non-estrogenic approaches for the treatment of climacteric symptoms, *Climacteric*, vol. 10, pp. 115-120.

Allen, J, Teutsch, S. 2002. Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism. Systematic Evidence Review no.11. Oregon Health & Science University Evidence-based Practice Center. Contract no. 290-97-0018. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. Available at: www.ahrq.gov/clinic/serfiles.htm. [November 12, 2010].

Allekel, DL, St. Germain, A, Peterson, CT, et al. 2000. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 72, pp. 844-852.

American Association of Clinical Endocrinologist. 2003. AACE medical guidelines for clinical practice for the prevention and treatment of Postmenopausal osteoporosis. *Endocrinology Practice*, vol. 9, pp. 544-564.

Anderson, GL, Judd, HW, Kaunitz, AM, et al. 2003. Effects of estrogen plus progestin on gynecologic cancers and associated diagnostic procedures, The Women's Health Initiative Randomized Trial, *Journal of American Medical Association*, vol. 290, pp. 1739-1748.

Andra. 2007. Fitoestrogen untuk wanita menopause, *Farmacia*, vol. 6, hal.11

Ansar, AS, Penhale, WJ, Tatal, N, 1985. Sex hormones, immune response and autoimmune diseases, Mechanisms of sex hormone action, *American Journal of Pathology*, col. 121, pp. 531-551.

Armitage, GD, Suter, E, Verhoef, MJ, et al. 2007. Women's needs for CAM information to manage menopausal symptoms, *Climacteric*, vol. 10, pp. 215-224.

Aso, T. 2002. Quality of Life: Asian Women and The Menopause, in: Lobo, RA, Crosignani, PG, Paoletti, R, et al, Women's Health and Menopause – New Strategies Improved Quality of Life, Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 353-360.

Atkinson, C, Compston, JE, Day, NE. 2004. The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: double-blind, randomized, placebo-controlled trial, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, pp. 326-333.

Bachman, GA 1999. Vasomotor flushes in menopausal women, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol 188, pp. 312-316.

Badan Perencanaan Pembangunan Nasional, Biro Pusat Statistik, United Nations Population Fund 2005. Proyeksi penduduk Indonesia 2000 – 2025, Bappenas, BPS, UNFPA, Jakarta.

Baziad, A. 1999. Kesehatan Fisik Wanita Usia Lanjut, Seminar Garis Besar Kebijaksanaan Pengelolaan Lansia, Pertemuan Ilmiah Tahunan XI, Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia, Semarang.

Baziad, A. 2003. Menopause dan Andropause, Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta.

Beato, M, Klug, J. 2000. Steroid hormone receptors: an update. *Human Reproduction Update*, vol. 6, pp. 225-236

Beato, M, Sachez-Pacheco, A. 1996. Interaction of steroid hormone receptors with the transcription initiation complex, *Endocrinology Review*, vol. 17, pp. 587-609.

Benhur, H, Mor, G, Insler, V, et al. 1995. Menopause is associated with a significant increase in blood monocyte number and a relative decrease in the expression of estrogen receptors in human peripheral monocytes. *American Journal of Reproductive Immunology*, vol. 34, pp. 363-369.

Benten, WP, Stephan, C and Wunderlich, F. 2002. B cells express intracellular but not surface receptors for testosterone and estradiol. *Steroids*, vol. 67, pp. 647-654.

Beral, V, Bull, D, Doll, R, et al. 1997. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer and 108.411 women without breast cancer, *Lancet*, vol. 350, pp. 1047-1059.

Biben, A. 2001. HRT Optimalization Since Perimenopause Period. In: Baziad A, Rachman IA, Sungkar A, eds. Congress I Menopause – Andropause Indonesia, PERMI, Jakarta.

Biben, A., 2003, Pemberdayaan perempuan menopause alami menuju menua sehat dengan memanfaatkan panca daya alam, Pidato pengukuhan Guru Besar Tetap dalam ilmu obstetri dan ginekologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung.

Bicca , ML., Horta, BL., Lethaby, AE. 2004. Double-blind randomized clinical trial to assess the effectiveness of soy-isoflavones in the relief of climacteric symptoms. In: The Cochrane Collaboration – 2008. Phytoestrogens for vasomotor menopausal symptoms (Review), Willey Publishers.

Bolanos, R., Des Castillo, A., Francia, J., 2010. Soy-isoflavones versus placebo in the treatment of climacteric vasomotor symptoms: systematic review and meta-analysis. *Menopause*, vol. 17, pp. 660-666.

- Borden KS, Abbott BB. 1996. Research Design and Methods: A Process Approach, 3rd edition, Mayfield Publishing Company, California, pp. 67-70.
- Boulet, MJ., Oddenes, BJ., Lebert, P., et al. 1994. Climacteric and menopause in seven South-east Asian countries. *Maturitas*, vol 19, pp.157-76.
- Bouman, A, Moes, H, Heinemann, MJ, et al. 2001, The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: increasing sensitivity of human monocytes to endotoxin, *Fertility Sterility*, vol 76, pp. 555-559
- Bouman, A., Heineman, MJ., Faas, MM., 2005, Sex hormones and the immune response in humans, *Human Reproduction Update*, vol 11, pp. 411-423.
- Brzezinski., A, Adlercreutz., H, Shaoul, R., et al. 1997. Short-term effects of phytoestrogen-rich diet on postmenopausal women. *Menopause*. vol 4, pp. 89-94.
- Calle, EE, Miracle-McMahill, HL, Thu, MJ, et al. 1995, Estrogen replacement therapy and risk of fatal colon cancer in a prospective cohort of postmenopausal women, *Journal of National Cancer Institute*, vol. 87, pp. 517-23.
- Case, AM, Reid, RL, 1998, Effects of menstrual cycle on medical disorders. *Archives Internal Medicine*, vol. 158, pp. 1405-1412.
- Carroll, DG 2006, Nonhormonal Therapies for Hot Flashes in Menopause, *Journal of American Family Physician*, vol. 73, pp. 457-64.
- Chandra, RK, 1997, Nutrition and the immune system: an introduction, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 66, pp. 460s-463s.
- Chandra, RK, 2002, Nutrition and the immune system from birth to old age, *European Journal of Clinical Nutrition*, vol.56, pp. 573-576
- Chaouat, G, Ledee-Bataille, N, Dubanchet, S, et al., 2004, Th1/Th2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the Th1/Th2 paradigm. *Internal Archive Allergy Immunology*, vol. 134, pp. 93-119.
- Chlebowski, RT, Wactawski-Wende, J, Ritenbaugh, C, Hubbel, A, et al. 2004. Estrogen plus progestin and colorectal cancer in postmenopausal women. *Internal Archive Allergy Immunology* vol. 350, pp. 991-1004.
- Cohen, JH, Danel, L, Cordier G, et al., Sex steroid receptors in peripheral T cells: absence of androgen receptors and restriction of estrogen receptors to OKT8-positive cells, *Journal of Immunology*, vol. 131. pp. 2767-2771.
- Colditz, GA, Hankinson, SE, Hunter DJ, et al.. 1995. The use of estrogen and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women, *New England Journal of Medicine*, vol. 332, pp. 1589-1593.
- Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, et al.. 1993. Genistein, daidzein, and their glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybeans foods from American to Asian diets, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 41, pp. 1961-1967.

- Crawford, LE., Milliken EE, Irani, K., et al. 1996. Superoxide-mediated actin response in post-hypoxic endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 271, pp. 26863-7.
- Curran, EM, Berghaus, IJ, Verneti, NJ, et al., 2001. Natural killer cells express estrogen receptors-alpha and estrogen receptor-beta and can respond to estrogen via non-estrogen receptor-alpha-mediated pathway, *Cellular Immunology*, vol. 214, pp. 12-20.
- Deeks, AA. 2003. Psychological aspects of menopause management, *Best Practice & Research Endocrinology & Metabolism*, vol. 17, pp. 17-31.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002. Survei Kesehatan Nasional 2001, Laporan SKRT 2001: studi morbiditas dan disabilitas, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002. Pedoman Penatalaksanaan Masalah Menopause dan Andropause. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Direktorat Jendral Pelayanan Medik Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2004, *Health Technology Assessment – Terapi Sulih Hormon pada Wanita Perimenopause*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Elwood, JM. 1998. Critical Appraisal of a randomized clinical trial. In: *Critical Appraisal of Epidemiological Studies and Clinical Trials*, 2nd ed. Oxford University Press Inc., New York.
- Faas, M, Bouman, A, Moes, H, et al. 2000. The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: Th2-type response? *Fertility Sterility*, vol. 74, pp. 1008-1013.
- Faure, ED., Chantre, P., Mares, P. 2002. Effects of standardized soy-extract on hot-flushes: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause*, vol. 9, pp. 329-34.
- Ferrari, A. 2009. Soy extract phytoestrogens with high dose of isoflavones for menopausal symptoms, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 35, pp. 1083-1090.
- Freeman, EW, Sherif, K. 2007. Prevalence of hot flushes and night sweats around the world: a systematic review, *Climacteric*, vol. 10, pp. 197-214.
- Gapstur, SM, Morrow, M, Sellers, TA, 1999, Hormone replacement therapy and risk of breast cancer with a favorable histology. Results of the Iowa Women's Health Study, *Journal of American Medical Association*, vol. 281, pp. 2091-2097
- Geerlings, MI, Ruitenberg, A, Wittemann, JCM, et al. 2001. Reproductive Period and Risk of Dementia in Postmenopausal Women, *Journal of American Medical Association*, vol.285, pp.1475-1481.

Giltay, EJ, Fonk, JC, von Bloomberg, BM, et al. 2000. In vivo effects on sex steroids on lymphocyte responsiveness and immunoglobulin levels in human. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol 85, pp. 1648-1657.

Girmes-Grieco, NK. 2001. Soy Isoflavone supplementation does not alter distribution of circulating lymphocytes or natural killer cell activity in postmenopausal women. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, pp.10-11.

Glazier, MG, Bowman, MA. 2001. A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement therapy. *Archive of Internal Medicine*, vol. 161, pp. 1161-1172.

Gold, EB, Bromberger, J, Crawford, S, et al. 2001. Factors Associated with Age at Natural Menopause in a Multiethnic sample of Midlife Women. *American Journal of Epidemiology*, vol. 153, pp. 865-874.

Gold, EB, Block, G, Crawford, S, et al. 2004. Lifestyle and Demographic Factors in Relation to Vasomotor Symptoms: Baseline Results form the Study of Women's Health Across the Nation, *American Journal of Epidemiology*, vol. 159, pp. 1189-1199.

Goldin BR, Adlercreutz H, Gorbach SL et al. 1986. The relationship between estrogen levels and diets of Caucasian American and Oriental immigrant women. *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 44, pp. 945-953

Grady, D, Wenger, NK, Herrington, D, et al. 2000. Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease. The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study, *Annals of Internal Medicine*, vol. 132, pp. 689-696.

Greenberg, RS., Daniels SR., Flanders, WD. 2005. Medical Epidemiology: Variability and Bias, 4th edition, McGraw-Hill, New York, pp. 162-175

Greene, JG. 2002. Measuring the symptom dimension of quality of life: general and the menopause-specific scales and their subscale structure, in : Schneider, HPG (ed), *Hormone Replacement Therapy and Quality of Life*, Parthenon Publishing, London, pp. 35-43.

Grodstein, F, Martinez, E, Platz, EA, et al. 1988. Postmenopausal hormone use and risk for colorectal cancer and adenoma, *Annals of Internal Medicine*, vol. 128, pp. 705-712.

Grodstein, F, Stampfer, MJ, Manson, JE, et al. 1996. Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease, *New England Journal of Medicine*, vol. 335, pp. 453-461.

Grossman CD. 1984. Regulation of the immune system by sex steroid. *Endocrinology Review*, vol. 5, pp. 435-453.

- Guo, TL, McCay, A, Zhang, LX, et al. 2001. Genistein modulates immune response and increases host resistance to B16F10 tumor in adult female B6C3F1 mice, *Journal of Nutrition*, vol. 131, pp. 3251-3258
- Han, KK, Soares, JM, Mauro, AH, et al. 2002. Benefits of Soy Isoflavone Therapeutic Regimen on Menopausal Symptoms, *Obstetrics & Gynecology*, vol. 99, pp. 389-94.
- Hidayat, A. 2005. Aspek biopsikososial menopause, dalam : Martaadisoebrata, D, Sastrawinata, S, Saifuddin AB (eds), Bunga Rampai Obstetri dan Ginekologi Sosial, Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta, pp. 330-41.
- Hogervorst, E, Yaffe, K, Richards, M, et al. 2004. Hormone replacement therapy for cognitive function in postmenopausal women (Cochrane Review), in: The Cochrane Library, Issue 2, John Willey & Sons, Chichester, United Kingdom.
- Honjo, H, Urabe, M, Okubo, T, et al. 1997. Country-specific information on the menopause in Japan. Presented in: First Consensus Meeting on Menopause in the East Asian Region, Geneva.
- Hulley, S, Grady, D, Bush, T, et al. 1998. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women, *Journal of American Medical Association*, vol. 280, pp. 605-13.
- Humphrey, LL, Takano, L, Chan, B. 2002. Postmenopausal hormone replacement therapy and cardiovascular disease, Systematic Evidence Review No. 10, Oregon Health & Science University Evidence-based Practice Center. Contract no 290-97-0018. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. Available at www.ahrq.gov/clinic/serfiles.htm. [June 9, 2010]
- Hutchins AM., Slavin JL., Lampe JW. 1995. Urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy product. *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 95, pp.545-551.
- International Menopause Society (IMS). 2007. IMS Updated Recommendation on postmenopausal hormone therapy. *Climacteric*, vol. 10, pp. 181-194.
- Jacobs A., Wegewitz U., Sommerfeld C., et al. 2009. Efficacy of isoflavones in relieving vasomotor menopausal symptoms – A systematic review, *Molecular Nutrition and Food Research*, vol 53, pp. 1084-1097
- Jacobsen, BK, Knutsen, SF, Fraser, GE. 1998. Does high soymilk intake reduce prostate cancer incidence? The Adventist Health Study (United States), *Cancer Causes Control*, vol. 9, pp. 553-557.
- Jenkins, JK, Malyak, M, Arend, WP. 1994. The effects of interleukin-10 on interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 beta production in human monocytes and neutrophils. *Lymhpokine Cytokine Research*, vol 13, pp. 47-54.

- Jenkins, DJA, Kendal, CWC, Connelly, PW. 2002. Effects of high- and low-isoflavone (phytoestrogen) soy foods on inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. *Metabolism*, vol. 51, pp. 919-924.
- Kamada, M, Irahara, M, Maegawa, M. 2001. B cell subsets in postmenopausal women and the effect of hormone replacement therapy, *Gynecology Obstetric Investigations*, vol. 52, pp. 82-88.
- Kaufert, PA. 1996. The social and cultural context of menopause (review), *Maturitas*, vol. 23, pp. 169-180.
- Khaodhiar, L., Ricciotti, HA., Li L. 2007. Daidzein-rich-isoflavone-aglycone are effective in reducing hot flashes in menopausal women. In: The Cochrane Collaboration. *Phytoestrogens for vasomotor menopausal symptoms (Review)*. Willey Publishers.
- Knight, DC., Eden JA. 1996. A Review of the clinical effect of phytoestrogen. *Obstetrics and Gynecology*, vol. 87, pp. 897-904
- Krebs, EE, Ensrud, KE, MacDonald, R 2004, Phytoestrogens for Treatment of Menopausal Symptoms: A Systematic Review, *Obstetrics & Gynecology*, vol. 104, pp. 824-36.
- Kresno, SB, 2010, Sistem Imunitas Tubuh, dalam: *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, edisi ke-5, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, pp. 4-13.
- Kubes, P, Suzuki, M and Granger, DN. 1991. Nitric oxide: an endogenous modulator leukocyte adhesion, *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, vol.88, pp. 4651-4655.
- Kuiper, GG, Enmark, E, Pelto-Huikko, M, et al.. 1996. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary, *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, vol. 93, pp. 5925-5930.
- Kumar, NB, Cantor, A, Allen K. 2004. The specific role of isoflavones in reducing prostate cancer risk, *Prostate*, vol 59, pp. 141-147.
- Laird, SM, Tuckerman, EM, Cork, BA, et al. 2003. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage, *Human Reproduction Update*, vol 9, pp. 163-174.
- Lacey, JV, Mink, PJ, Lubin, JH, et al. 2002. Menopausal hormone replacement therapy and risk of ovarian cancer, *Journal of American Medical Association*, vol. 288, pp. 334-41.
- Lamche, HR, Silberstein, PT, Knabe, AC, Thomas DD, et al. 1990. Steroids decrease granulocyte membrane fluidity, while phorbol ester increase membrane fluidity. Studies using electron paramagnetic resonance, *Inflammation*, vol. 14, pp. 61-70.

- LeBlanc, E, Janowsky, J, Chan B. 2001, Hormone replacement therapy and cognition, Systematic review and meta-analysis, *Journal of American Medical Association*, vol. 285, pp. 1489-99.
- Lemeshow S., Hosmer DW., Klar J., et al. 1990. Adequacy of Sample Size in Health Studies. Diterjemahkan oleh Dibyo Pramono, 1997, Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Lennan, MA, Lester, S, Moore, V. 2004. Oral oestrogen replacement therapy versus placebo for hot flushes (Cochrane review), in : The Cochrane Library, Issue 2, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, United Kingdom.
- Lethaby, A, Farquhar, C, Sarkis, A. 2004. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: endometrial hyperplasia and irregular bleeding (Cochrane Review), in: The Cochrane Library, issue 2, John Willey & Sons, Chichester, United Kingdom.
- Lethaby, A, Marjribanks, J, Kronenberg, F. 2007. Phytoestrogens for vasomotor menopausal symptoms (Cochrane Review), in: The Cochrane Library, issue 2, John Willey & Sons, Chichester, United Kingdom.
- Lesourd, BM, Mazari, L, Ferry, M. 1998. The Role of Nutrition in Immunity in the Aged, *Nutrition Reviews*, vol. 56, pp. 113s-125s.
- Licastro, F, Candore, G, Lio, D, et al. 2005. Innate immunity and inflammation in ageing: a key for understanding age-related diseases, *Immunity and Ageing*, vol 8, pp.1-14.
- Manson, JE, Hsia J, Johnson, KC, et al. 2003. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease, *New England Journal of Medicine*, vol. 349, pp. 523-534.
- Markiewicz, L., Garey, J., Adlecreutz H., et al. 1993. In-vitro bioassays of non-steroidal phytoestrogens. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 45, pp. 399-405
- McKay, LI, Cidlowski, JA. 1999. Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocrinology Reviews*, vol. 20, pp. 435-459.
- McNagly SE. 1999. Prescribing hormone replacement therapy for menopausal symptoms, *Annals of Internal Medicine*, vol. 131, pp. 606-615.
- Melby, MK, Lock, M, Kaufert, P. 2005. Culture and symptom reporting at menopause, *Human Reproduction Update*, vol. 11, pp. 495-512.
- Messina, M, Erdman, J, Jr, Setchell, KDR, 2004, Introduction to and perspectives from the Fifth International Symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease, *Journal of Nutrition*, vol 134, pp. 1205s-1206s.
- Meydani,A, Ahmed, T. 2005. Aging, Nutritional Status, and Infection in the Developing World, *Nutrition Reviews*, vol. 63, pp. 233-246.

Miyagi, M, Aoyama, H, Morishita, M, et al. 1992. Effects of sex hormones on chemotaxis of human peripheral polymorphonuclear leukocytes and monocytes, *Journal of Periodontology*, vol. 63, pp. 28-32.

Ministry of Health Republic of Indonesia. 2007. Indonesia Health Profile 2005. Center for Data and Information Ministry of Health Republic of Indonesia, Jakarta.

Moehrer, B, Hextall, A, Jackson S. 2008. Oestrogens for urinary incontinence in women (Cochrane Review), in : Cochrane Library, Issue 3, John Willey & Sons Ltd, Chichester, United Kingdom.

Morelli, V., Naquinn C. 2002. Alternatives Therapies for Tradisional Disease States: Menopause. *Journal of The American Academy of Family Physician*, vol. 66, p.1.

Molero, L, Garcia-Duran M, Diaz-Recasens, J, et al.. 2002. Expression of estrogen receptor subtypes and neuron nitric oxide synthase in neutrophils from women and men: regulation by estrogens. *Cardiovascular Research*, vol. 56, pp. 43-51.

Morse, C, Smith, A, Dennerstein, D, et al. 1994. The treatment-seeking woman at menopause, *Maturitas*, vol. 18, pp.161-173.

Munro, IC, Harwood, M, Hlywka, JJ, et al. 2003. Soy isolavones: a safety review. *Nutritional Review*, vol. 61, pp. 1-33.

Murkies, AL., Limbard, C., Strauss, BJ., et al. 1995. Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flushes: Effect of soy and wheat. *Maturitas*, vol. 21, pp. 189-195.

Nagata C., Kabuto M, Kurisu, et al. 1997. Decreased serum estradiol concentration associated with high dietary intake of soy products in premenopausal Japanese women. *Nutrition and Cancer*, vol. 29, pp. 228-233.

Nedrow, A, Miller, J, Walker, M, et al. 2006. Complementary and Alternative Therapies for the Management of Menopause-Related Symptoms, *Archives of Internal Medicine*, vol. 166, pp. 1453-1465.

Nelson, HD, Vesco, KK, Haney, E, et al. 2006. Nonhormonal Therapies for Menopausal Hot Flashes, Systematic Review and Meta-analysis, *Journal of American Medical Association*, vol. 295, pp. 2057-2071.

Nelson, HD. 2008. *Menopause*, *The Lancet*, vol. 371, pp. 760-770.

Nikander, E, Kilkkinen, A. 2003. A Randomized Placebo-Controlled Crossover Trial with Phytoestrogens in Treatment of Menopause in Breast Cancer Patients, *Obstetrics & Gynecology*, vol. 101, pp. 1213-1220.

North American Menopause Society (NAMS). 2010. Estrogen and progestogen use in postmenopausal women: 2010 position statement of the North American Society. *Menopause*, vol. 17, pp. 242-255.

Olazabal Ulacia, JC, Garcia Panagua, R, Montero Luengo, J, et al. 1999. Models of intervention in menopause: proposal of a holistic or integral model, *Menopause*, vol. 6, pp. 264-272.

Ostensen, M. 1999. Sex hormone and pregnancy in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus, *Annual of New York Academy of Science*, vol. 876, pp. 131-143.

Paes, CM., 2001. Soy Isoflavone Supplementation Does Not Alter Lymphocyte Proliferation and Cytokine Production in Postmenopausal Women, Thesis Submitted to the Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University,

Pawiroharsono, S. 2000. Characterization of microorganism and its implementation for active substance improvement of tempe. Disampaikan pada seminar sehari "Masa depan industri tempe menghadapi millenium ketiga", Yayasan Tempe Indonesia, di Jakarta pada tanggal 13 Februari 2000.

Polgar, B, Barakonyi, A, Xynos, I . 1999. The role of gamma/delta T cell receptor positive cells in pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, vol. 41, pp. 239-244.

Posma, E, Moes, H, Heinemann, MJ et al. 2004. The effect of testosterone on cytokine production in the specific and non-specific immune response, *American Journal of Reproductive Immunology*, vol. 52, pp. 237-243.

Potter, SM, Baum, J, Teng, H, et al. 1998. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 68, pp. 1375s-1379s,

Prihartono, N, Palmer, JR, Louik, C, et al. 2000. A case control study of use of postmenopausal female hormone supplements in relation to the risk of large bowel cancer, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, vol. 9, pp. 443-447.

Ratnam, SS, Campana, S (eds). 1998. Consensus statement on the role of HRT during menopause in East Asian women, First Consensus Meeting on Menopause in the East Asian Region, Geneva, 26-30 May 2007.

Riman, T, Dickman, PW, Nilson, S, et al. 2002. Hormone replacement therapy and the risk of invasive epithelial ovarian cancer in Swedish women, *Journal of National Cancer Institute*, vol. 94, pp. 497-504.

Rodriguez, C, Patel, AV, Calle, EE, et al. 2001. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women, *Journal of American Medical Association*, vol. 285, pp. 1460-65.

Rosano, GMC, Vitale, C, Marazzi, G 2007. Menopause and Cardiovascular Disease: The Evidence, *Climacteric*, vol. 10, pp. 19-24.

Rosen, CJ. 2005. Postmenopausal Osteoporosis, *The New England Journal of Medicine*, vol. 353, pp. 595-604.

Rosett, JW. 2005. Menopause, micronutrients, and hormone therapy, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 8, pp. 1223s-1231s.

Ross, RK, Paganini-Hill, A, Wan, PC. 2000. Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk; estrogen versus estrogen plus progestin, *Journal of National Cancer Institute*, vol. 92, pp. 328-332.

Rossouw, JE, Anderson, GL, Prentice, RL, et al. 2002. Risk and benefit of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: Principal results from the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial, *Journal of American Medical Association*, vol. 288, pp. 321-333.

Ryan-Borchers, TA, Park, JS, Chew, BP, et al. 2006. Soy isoflavones modulate immune function in healthy postmenopausal women, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 83, pp. 1118-1125.

Sastroasmoro S., Ismael S. 2002. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, edisi ke 2, CV Sagung Seto, Jakarta.

Schairer, C, Lubin, J, Troisi, R, Sturgeon S, et al. 2000. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk, *Journal of American Medical Association*, vol. 283, pp. 485-491.

Schneider, HPG, Behre, HM. 2002. Contemporary evaluation of climacteric complaints: Its impact on quality of life, in : Schneider, HPG (ed), *Hormone Replacement Therapy and Quality of Life*, Parthenon Publishing, London, pp. 35-43.

Schubert, CM, Rogers, NL, Remsberg, KE, et al. 2006, Lipids, lipoproteins, lifestyle, adiposity and fat-free mass during middle age: The Fels Longitudinal Study, *International Journal of Obesity*, vol. 30, pp. 251-260.

Setchell KDR. 2001. Soy isoflavones –benefits and risk from nature's selective estrogen receptor modulators (SERMS), *Journal of American College of Nutrition*, vol. 20, pp. 354s-362s.

Shapiro, S. 2007. Recent epidemiological evidence relevant to the clinical management of the menopause, *Climacteric*, vol. 10, pp. 2-15.

Sherburn, M, Guthrie, JR, Dudley, EC, et al. 2001. Is incontinence associated with menopause? *Obstetrics Gynecology*, vol. 98, pp. 628-633.

Skobeloff, EM, Spivey, WH, Silverman, R. 1996. The effect of the menstrual cycle on asthma presentation in the emergency department. *Archives of Internal Medicine*, vol. 156, pp. 1837-1840.

Soules MR, Sherman S, Parrott E. 2001. Executive Summary: stages of reproductive aging workshop (STRAW), Park City, Utah, *Menopause*, vol.8, pp. 402-407.

Steinberg, FM, Guthrie, NL, Villablanca, AC, et al. 2003. Soy protein with isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 78, pp. 123-130.

Stefano, GB, Peter, D. 2001. Cell surface estrogen receptors coupled to cNOS mediate immune and vascular tissue regulation therapeutics implications, *Medical Science Monitor*, vol. 7, pp. 1066-1074.

Stimson, WH. 1988. Oestrogen and human T lymphocytes: presence of specific receptors in the T-suppressor/cytotoxic subset, *Scandinavia Journal of Immunology*, vol. 28, pp. 345-350.

Suenaga, R, Evans, MJ, Mitamura, K, et al. 1998. Peripheral blood T cells and monocytes and B cell lines derived from patients with lupus express estrogen receptor transcripts similar to those of normal cells. *Journal of Rheumatology*, vol. 25, pp. 1305-1312.

Tan, D, Darmasetiawan, S, Haines, CJ, et al. 2006. Guidelines for hormone replacement therapy of Asian women during the menopausal and thereafter, Expert Panel on Menopause in Asian Women, *Climacteric*, vol. 9, pp. 146-151.

The Hong Kong College of Obstetrician and Gynaecologists. 2003. Guidelines for the administration of hormone replacement therapy. Available at: <http://www.hkcog.org.hk/docs/guidelines> [October 14, 2010]

Tice, JA, Ettinger, B, Ensrud, K, et al. 2003. Phytoestrogen Supplements for the Treatment of Hot Flashes: The Isoflavone Clover Extract (ICE) Study, A Randomized Controlled Trial, *Journal of American Medical Association*, vol. 290, pp. 207-214.

Utian, W, Archer, D, Gallagher, J, Gass, M, Gelfand, M, Henderson, V, et al. 2004. Recommendations for estrogen and progestogen use in peri and postmenopausal women: October 2004 position statement of The North American Menopause Society, *Menopause*, no.11, pp. 589-600.

Upmalis, DH., Lobo, R., Bradley, L., et al. 2000. Vasomotor symptom relief by soy-isoflavone extract tablet in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause*, vol. 7, pp. 236-42.

Vasto, S, Malavolta, M, Pawelec, G. 2006. Age and Immunity, *Immunity and Ageing*, vol. 3, pp. 1186-1191.

Veenstra van Nieuwenhoven, AL, Bouman, A, Moes, H, et al. 2002. Cytokine production in natural killer cells and lymphocytes in pregnant women compared with women in the follicular phase of the ovarian cycle, *Fertility and Sterility*, vol. 77, pp. 1032-1037.

Vestergaard, P, Herman, AP, Stilgren L, et al. 2003. Effects of 5 years of hormonal therapy, CM, replacement therapy on menopausal symptoms and blood pressure, a randomized controlled study, *Maturitas*, vol. 46, pp. 123-132.

Wada, K, Itoh, T, Nakagawa, M. 1992. Estrogen binding sites in peripheral blood monocytes and effects of the danazol on their sites in vitro, *General Pharmacology*, vol. 23, pp. 693-700.

Wei, H., Bowen, R., Cai, Q., et al. 1995. Antioxidant and antipromotional effects of the soy-bean isoflavone genistein. *Procedure Social Experiments of Biology Medicine*, vol. 208, pp. 124-30.

Wang, W, Higuchi, CM, Zhang, R. 1997. Individual and combinatory effects of soy isoflavones on the in vitro potentiation of lymphocyte activation, *Nutrition and Cancer*, vol. 29, pp. 29-34

Wells, M, Sturde,DW, Barlow, DH, et al. 2002. Effect on endometrium of long term treatment with continuous combined oestrogen-progestogen replacement therapy: follow-up study, *British Medical Journal*, vol. 325, pp. 239.

Wells, G, Tugwell, P, Shea, B, et al. 2002. Meta-analysis of the efficacy of hormone replacement therapy in treating and preventing osteoporosis in postmenopausal women, *Endocrinology Review*, vol. 23, pp. 529-539.

Weusten, JJ, Blankesteyn, MA, Gmelig-Meyling, FH, et al. 1986. Presence of oestrogen receptors in human blood mononuclear cells and thymocytes, *Acta Endocrinologica (Copenhagen)*, vol. 112, pp. 409-414.

Whitacre, CC. 2001. Sex differences in autoimmune disease, *Nature Immunology*, vol. 2, pp. 777-780.

World Health Organization. 2002. The World Health Report 2002. Available online at: http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf [September 29, 2009]

World Health Organization. 2003, Facts and figures, in : The World Health Report 2003. Available online at: <http://www.who.int/whr/2003/en/Facts and Figures-en.pdf>. [September 29, 2009]

World Health Organization. 2007. World Health Statistics 2007, WHO Press, Geneva, Switzerland.

Wu, JM, Zelinski, MB, Ingram, DK, Ottenger, MA. 2005. Ovarian Aging and Menopause: Current Theories, Hypotheses, and Research Models, Mini Review, *Experimental Biology and Medicine*, vol. 230, pp. 818-828.

Yang, G., Shu, XO., Jin F. 2004. Soyfood consumption and risk of glycosuria: a cross-sectional study within the Shanghai Women's Health Study. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol 58, pp. 615-620.

Yang, JH, Chen, CD, WU, MY, et al. 2000. Hormone replacement therapy reverses the decrease in natural killer cytotoxicity but does not reverse the decrease in the T-cell subpopulation or interferon-gamma production in postmenopausal women. *Fertility and Sterility*, vol. 74, pp. 261-267.

- Yellayi S, Naaz A, Tomomi S, Szczwzykowski M, Cooke P. 2001. Genistein causes thymic atrophy and changes in lymphocyte subpopulation: potential health implications? *The Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB) Journal*, vol. 15, pp. 498-510
- Yovel, G, Shakhar, K, Ben Eliyahu, S. 2001, The effects of sex, menstrual cycle, and oral contraceptives on the number and activity of natural killer cells. *Gynecology Oncology*, vol. 81, pp. 254-262.
- Zava DT, Duwe G. 1997. Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoids in human breast cancer cells in vitro. *Nutrition and Cancer*, vol. 27, pp. 31-40
- Zeng H, Chen, Q, Zhao, B. 1998. Genistein ameliorates β -amyloid peptide (25-35)-induced hippocampal neuronal apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, vol, 36, pp. 180-188.
- Zhan, S, Ho, SC. 2005. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 81, pp. 397-408.
- Zhang, Y, Song, TT, Cunnick, JE, et al. 1999. Daidzein and genistein glucuronides in vitro are weakly estrogenic and activate human natural killer cells at nutritionally relevant concentrations. *Journal of Nutrition*, vol. 129, pp. 399-405
- Zheng, W, Dai, Q, Custer, LJ, et al. 1999. Urinary excretion of isoflavonoids and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology and Biomarkers Preview*, vol. 8, pp. 35-40.
- Ziegler, RG. 2004. Phytoestrogens and breast cancer, Editorial, *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 74, pp. 183-184.