

## EFEK PEMBERIAN LIMBAH CAIR TAHU PADA KADAR MDA (*Malondialdehid*) SERUM TIKUS YANG DIOVARIIEKTOMI

\*Nur Permatasari, \*\*Nenny Prasetyaningrum, \*\*\*Krisnina Mahadewi

\*Departemen Oral Biologi PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

\*\*Departemen Oral Biologi PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

\*\*\*Mahasiswa PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

### Abstrak

Kondisi hipoestrogen pada wanita menopause menyebabkan penurunan kadar estrogen sehingga terjadi peningkatan stres oksidatif akibat ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas. Kadar radikal bebas yang terlalu banyak dalam tubuh akan mengakibatkan berbagai macam penyakit. Terapi sulih hormon diketahui dapat memperbaiki keadaan ini, namun terdapat beberapa efek samping yang ditimbulkan sehingga mulai dikembangkan terapi alternatif, salah satunya adalah penggunaan fitoestrogen. Limbah cair tahu yang masih mengandung isoflavon, menjadi peluang alternatif yang potensial karena penelitian ini bertujuan membuktikan efek pemberian limbah cair tahu terhadap penurunan kadar Malondialdehid (MDA) serum tikus pasca ovariektomi. Penelitian ini merupakan *true experimental* laboratorium dengan metode *randomized post test only controlled group design*. Dua puluh empat tikus *Rattus norvegicus strain wistar* betina dibagi secara random dalam 6 kelompok, terdiri dari kelompok tikus tanpa perlakuan (K1), kelompok tikus pasca ovariektomi 4 minggu (K2), kelompok tikus pasca ovariektomi 8 minggu (K3), dan kelompok tikus pasca ovariektomi 4 minggu yang diberi limbah cair tahu selama 4 minggu dengan dosis 1,2 ml/kgBB (K4), 6 ml/kgBB (K5), dan 12 ml/kgBB (K6). Pengukuran kadar MDA serum dilakukan dengan uji *thiobarbituric acid* (TBA). Hasil penelitian menunjukkan pemberian limbah cair tahu dapat menurunkan kadar MDA serum tikus secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok tikus pasca ovariektomi 8 minggu dan terdapat korelasi yang kuat ( $r = -0.620$ ) antara dosis limbah cair tahu dengan penurunan kadar MDA serum tikus. Dapat disimpulkan bahwa limbah cair tahu dapat menurunkan kadar MDA serum tikus yang mengalami kondisi hipoestrogen.

**Kata Kunci:** Ovariektomi, limbah cair tahu, MDA serum

### Abstract

*Hypoestrogen condition that occur in postmenopausal women causes decreased amount of estrogen resulting in increased oxidative stress due to an imbalance between the levels of antioxidants and free radicals. Levels of free radicals in the body which accumulates too much will result in a wide range of diseases. HRT (Hormone Replacement Therapy) can largely improve the situation, but a lot of side effects that began to develop alternative therapies, one of which is a phytoestrogen. Tofu liquid waste still contains isoflavones, it is a potential alternative opportunities. This study aims to prove the effect of tofu liquid waste to the decreased levels of serum MDA of ovariectomized rats. This research uses true experimental laboratory design and method of randomized post test only controlled group design. Twenty four female Rattus norvegicus of strain Wistar rats were divided into 6 groups, there are normal group without intervention (K1), group of 4 weeks ovariectomized rats (K2) and 8 weeks ovariectomized rats (K3), another three groups of 4 weeks ovariectomized rats and get tofu liquid waste treatment for 4 weeks with a dose of 1.2 ml/kgBB (K4), 6 ml/kgBB (K5), and 12 ml/kgBB (K6). Measurement of serum MDA uses thiobarbituric acid test (TBA). Results from this study showed provision of tofu liquid waste can decrease serum MDA levels of rats with degree of significance ( $p < 0.05$ ) compared to 8 week ovariectomized rats without tofu liquid waste therapy and there are strong correlation ( $r = -0.620$ ) between the provision of liquid waste and the rats serum MDA levels. The conclusion of this research is to know that tofu liquid waste can reduce levels of serum MDA rats with hypoestrogen condition.*

**Keyword:** ovariectomy, tofu liquid waste, serum MDA

## PENDAHULUAN

Radikal bebas, seperti radiasi dan asap rokok, merupakan senyawa yang diketahui dapat mengakibatkan berbagai macam penyakit jika terakumulasi dalam tubuh dengan jumlah banyak.<sup>23</sup> Tubuh manusia dapat menetralsisir radikal bebas, namun bila jumlahnya berlebihan maka kemampuan untuk menetralsisirnya akan berkurang.<sup>16</sup> Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal kerusakan akibat aktivitas radikal bebas dengan menjadikannya suatu molekul stabil.<sup>20</sup> Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh dikenal dengan istilah stres oksidatif.<sup>17</sup> Stres oksidatif dipicu oleh dua kondisi umum, yaitu kurangnya antioksidan dan berlebihnya produksi radikal bebas.<sup>10</sup> Peningkatan radikal bebas secara drastis di dalam tubuh dapat terjadi akibat penurunan kadar estrogen yang berfungsi sebagai antioksidan.<sup>10</sup>

Kondisi hipoestrogen akan meningkatkan kadar MDA serum dikarenakan terjadi peningkatan stres oksidatif di dalam tubuh.<sup>11</sup> Defisiensi estrogen mempengaruhi penurunan system *antioxidant enzyme* (AO) yang dapat menyebabkan stres oksidatif sehingga melepaskan radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS).<sup>21</sup>

Kondisi hipoestrogen pada periode menopause dapat diatasi dengan terapi sulih hormon yang diketahui mahal dan dalam jangka panjang dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker endometrium dan kanker payudara.<sup>10</sup> Oleh karena itu diperlukan suatu alternatif terapi. Penggunaan bahan alami yang mengandung hormon atau fitohormon

sudah banyak dikembangkan saat ini, salah satunya adalah fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan suatu substrat dari tumbuhan yang memiliki aktivitas mirip estrogen.<sup>8</sup> Fitoestrogen alami yang saat ini mulai dikembangkan adalah golongan *Leguminoceae* yang memiliki senyawa isoflavon.<sup>9</sup> Contoh tanaman yang mengandung senyawa isoflavon tinggi adalah kedelai.<sup>9</sup> Selain pada tanaman kedelai, senyawa isoflavon dapat ditemukan terutama pada produk olahannya, seperti tahu.<sup>10</sup> Dewasa ini diketahui limbah cair tahu masih memiliki kandungan isoflavon sebanyak 20%.<sup>14</sup> Dengan demikian limbah cair tahu yang mengandung isoflavon dapat dimanfaatkan sebagai sumber estrogen alami sekaligus dapat mengurangi pencemaran lingkungan.<sup>5</sup>

Kerja isoflavon kedelai sebagai antioksidan terjadi dengan cara menangkap radikal ion superoksida dan kemudian mengubahnya menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.<sup>15</sup> Malondialdehyde (MDA) merupakan senyawa hasil peroksidasi lemak yang salah satunya diakibatkan oleh peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh dimana lemak merupakan komponen yang paling mudah mengalami peroksidasi akibat radikal bebas.<sup>10</sup> Kadar MDA yang *reliable* ditemukan pada MDA plasma/serum dan urin.<sup>18</sup> Kadar MDA serum dipilih karena *reliable* dan lebih mudah untuk dilakukan pengambilan daripada urin.

Tujuan penelitian ini adalah menetapkan efek limbah tahu terhadap penurunan kadar MDA dengan menggunakan tikus putih strain Wistar (*Rattus norvegicus*) pasca ovariectomi sebagai

model wanita menopause. Ovariectomi menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar MDA dan penurunan aktifitas GPX (*Glutathione Peroxidase*).<sup>12</sup> Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini ditujukan untuk membuktikan efek limbah cair tahu pada kadar MDA (Malondialdehid) serum tikus yang diovariectomi.

## METODE PENELITIAN

**Rancangan Penelitian.** Penelitian ini menggunakan desain *true experimental* laboratorik dengan metode *Randomized Posttest Only Controlloed Group Design* dimana setiap hewan coba memiliki probabilitas yang sama untuk mendapatkan perlakuan sehingga dapat menjaga validitas generalisasi ke populasi. Dua puluh empat tikus *Rattus novergicus strain wistar* betina dibagi secara random dalam enam kelompok, terdiri dari kelompok tikus normal tanpa perlakuan (K1), kelompok tikus pasca ovariectomi 4 minggu (K2), kelompok tikus pasca ovariectomi 8 minggu (K3), dan kelompok tikus pasca ovariectomi 4 minggu yang diberi terapi limbah cair tahu selama 4 minggu dengan dosis 1,2 ml/kgBB (K4), 6 ml/kgBB (K5), dan 12 ml/kgBB (K6). Setelah itu, pada keenam kelompok tersebut dilakukan pengambilan serum darah sebagai sampel untuk mendapatkan data hasil eksperimen dilakukan perhitungan MDA serum.

## Prosedur Ovariectomi

Berat badan tikus ditimbang, lalu tikus difiksasi dalam posisi supinasi. Dilakukan anestesi menggunakan *ketamin* i.m dengan dosis 40ml/kgBB. Bulu abdomen dicukur kira-kira 1 cm di atas garis kedua ovarium kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan *alcohol 70%* dan *betadine solution*. Setelah itu dilakukan insisi transabdominal kira-kira di atas uterus sepanjang 1,5–2 cm selapis demi selapis sampai menembus dinding peritoneum. Luka insisi ditarik ke lateral kanan dan kiri menggunakan hak. Uterus dicari dengan menelusuri kornu *uteru-oviduct-ovarium* dengan hati-hati, ovarium kiri terlihat sebagai sekelompok anggur yang *translucen*. *Oviduct* dan ovarium dibebaskan dari jaringan lemak dan jaringan ikat sekitarnya. Selanjutnya *oviduct* bagian distal dan ovarium diligasi. Kemudian *oviduct* dan ovarium diangkat. Luka potongan diberi *basitrasin* serbuk (*Nebacetin*). Prosedur yang sama dilakukan untuk ovarium kanan. Luka insisi ditutup atau dijahit lapis demi lapis dengan benang, kemudian luka diolesi *betadine* dan diberi *Nebacetin*, ditutup dengan kassa steril. Kemudian diberikan *Gentamycin* i. m dengan dosis 60-80 ml/kgBB 1 kali per hari selama 3 hari, dan *Novalgine* i.m dengan dosis 0,3 ml selama 1 hari.<sup>10</sup>

## Pembuatan Limbah Cair Tahu.

Pilih kedelai yang bersih kemudian dicuci. Rendam dalam air bersih selama 8 jam (paling sedikit 3 liter air untuk 1 kg kedelai). Kedelai akan mengembang jika direndam. Kemudian kedelai dicuci. Apabila kurang

bersih maka tahu yang dihasilkan akan cepat menjadi asam. Tumbuk kedelai dan tambahkan air hangat sedikit demi sedikit hingga berbentuk bubur. Masak bubur tersebut, jangan sampai mengental pada suhu 70<sup>0</sup>-80<sup>0</sup>C (ditandai dengan adanya gelembung-gelembung kecil). Saring bubur kedelai dan endapkan airnya dengan menggunakan 3 ml asam cuka untuk 1 liter sari kedelai, sedikit demi sedikit sambil diaduk perlahan-lahan. Cetak dan pres endapan tersebut hingga mengeluarkan air (limbah cair tahu). Konsentrasi limbah cair tahu inilah yang digunakan sebagai variabel penelitian. Setelah itu, tikus yang diovariectomi diberikan limbah cair tahu melalui sonde sesuai dengan dosis yang ditetapkan selama 4 minggu.<sup>15</sup>

#### **Pengukuran MDA Serum dengan Uji TBA**

S spuit dan tabung reaksi dipersiapkan. Tikus dianestesi total dengan menggunakan eter. Bagian ventral tubuh tikus dibedah melewati tulang *pectoral*, rongga thorax dibuka dan paru-paru disingkapkan hingga diperoleh jantung. Darah tikus diambil secara intrakardiak dengan menggunakan spuit tanpa antikoagulan. Diambil 100 µl serum, yang kemudian ditambahkan dengan larutan TCA 100% 250 µl. Selanjutnya ditambahkan HCl 1 N 200 µl dan aquabides sampai mencapai volume 0,5 ml. Kemudian

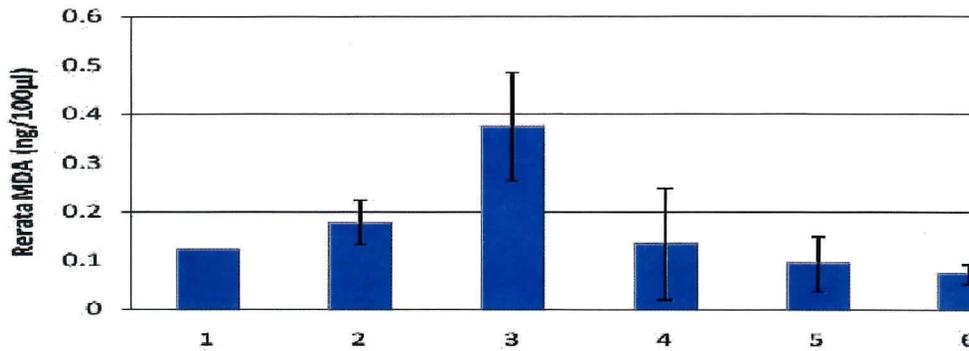
ditambahkan Na-thio 1 % 100 µl. Setelah itu larutan dipanaskan pada suhu 100<sup>0</sup> C selama 20 menit. Setelah pemanasan selesai, sampel diberi aquabides agar seimbang sebelum dilakukan sentrifugasi 2000 rpm dalam waktu 15 menit. Usai disentrifugasi, diambil supernatant di atasnya. Supernatant diletakkan pada tabung terpisah, dan ditambahkan aquabides hingga mencapai volume 3 ml dengan penambahan aquabides. Kadar MDA diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.<sup>3</sup>

#### **Analisis Data**

Hasil pengamatan kadar MDA tulang mandibula pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 16.00 for Windows* dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Uji yang digunakan adalah uji *One-way ANOVA*, *Uji Post hoc Multiple Comparison Equal Variance by LSD*, dan uji korelasi Pearson.<sup>6</sup>

#### **HASIL PENELITIAN**

**Hasil Perhitungan Rerata Kadar MDA Serum.** Hasil perhitungan rerata kadar MDA serum seperti tampak pada gambar 1.



**Gambar1. Diagram Rerata dan Standar Deviasi Kadar MDA Serum pada Masing-Masing Kelompok**

Keterangan:

K1: tanpa ovariektomi; K2: pasca ovx 4 minggu; K3: pasca ovx 8 minggu; k4: pasca ovx 4 minggu + limbah cair tahu 1,2 ml/kgBB; K5: pasca ovx 4 minggu + limbah cair tahu 6 ml/kgBB; K6: pasca ovx 4

**Uji One Way ANOVA.** Analisis dengan menggunakan uji *Oneway ANOVA* bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA serum yang signifikan antar kelompok. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai  $p = 0,000$  sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA serum pada keenam kelompok.

**Uji Post Hoc Multiple Comparison.** Analisis mengenai perbedaan rata-rata dari keenam kelompok dapat diketahui melalui uji *Post-Hoc Multiple Comparison*. Metode *Post-Hoc* yang digunakan adalah Uji LSD. Dari uji LSD dapat diketahui bahwa pada kondisi hipostrogen, K2 mengalami peningkatan rata-rata kadar MDA serum jika dibandingkan dengan rata-rata kadar MDA serum K1. Namun peningkatan yang terjadi tidaklah bermakna. Sedangkan K3 mengalami peningkatan rata-rata kadar MDA serum yang bermakna jika dibandingkan dengan rata-rata kadar MDA serum K1 dan K2. Kondisi penurunan kadar MDA serum pasca pemberian terapi limbah cair tahu pada tikus

yang diovariektomi, K4 mengalami penurunan rata-rata kadar MDA serum yang signifikan jika dibandingkan dengan K3 dan memiliki rata-rata kadar MDA serum yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan K1 dengan perbedaan yang tidak signifikan. K5 dan K6 mengalami penurunan rata-rata kadar MDA serum yang signifikan jika dibandingkan dengan K3 dan memiliki rata-rata kadar MDA serum yang lebih rendah jika dibandingkan dengan K1 dengan perbedaan yang tidak signifikan.

**Uji Korelasi Pearson** Hasil penelitian ini didapatkan korelasi yang kuat ( $r = -0,620$ ) dan signifikan ( $p = 0,031$ ) antara peningkatan dosis limbah cair tahu dengan kadar MDA serum tikus yang diovariektomi. Arah korelasi adalah negatif, yang menunjukkan semakin semakin besar dosis limbah cair tahu yang diberikan maka semakin rendah kadar MDA serum tikus yang diovariektomi.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan tikus normal pada kelompok tanpa perlakuan ovariectomi masih memiliki jumlah estrogen yang cukup sebagai antioksidan dalam tubuh. Berdasarkan penelitian sebelumnya, pada tikus yang dilakukan ovariectomi ditemukan bahwa pasca ovariectomi 2 minggu tikus sudah dalam kondisi hipoestrogen yang ditandai oleh kadar E2 (estradiol) di bawah 9 pg/mL, gambaran vaginal smear yang didominasi oleh sel epitel parabasal dan intermedier yang mirip kondisi diestrus atau periode terakhir dari siklus estrus, berat uterus berkurang, serta gambaran makroskopis dan mikroskopis yang menunjukkan atrofi pada uterus.<sup>2</sup>

Hasil dari penelitian ini menunjukkan kelompok tikus pasca ovariectomi 4 minggu tanpa terapi limbah cair tahu terdapat peningkatan kadar MDA serum jika dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan. Namun peningkatan yang terjadi tidaklah signifikan. Hal tersebut dapat terjadi karena ovarium bukan satu-satunya organ penghasil estrogen. Pada perempuan premenopause, estrogen berasal dari ovarium yang menghasilkan estradiol sebanyak 60% dan jaringan ektraglandular yang menghasilkan estrone sebanyak 40%.<sup>2</sup> Saat pasca menopause di mana fungsi ovarium mulai menghilang, kontribusi ovarium dalam menghasilkan estrogen menjadi minimal sedangkan peran jaringan ektraglandular menjadi dominan, terutama pada jaringan lemak.<sup>2</sup>

Sedangkan hasil penelitian untuk kelompok tikus pasca ovariectomi 8 minggu tanpa terapi limbah cair tahu didapatkan kadar MDA serum yang meningkat secara signifikan jika dibanding dengan kelompok tanpa perlakuan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nazrun (2008) yang menyatakan bahwa ovariectomi menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang ditunjukkan dengan peningkatan aras MDA dan penurunan aras aktifitas GPX (*Glutathione Peroxidase*).<sup>12</sup>

Fitoestrogen merupakan dekomposisi alami yang ditemukan pada tumbuhan yang memiliki banyak kesamaan dengan estradiol.<sup>15</sup> Isoflavon merupakan salah satu senyawa fitoestrogen yang terdiri dari genistein dan daidzein serta terbukti mempunyai efek hormonal, khususnya efek estrogenik. Jalur klasik estrogen dan fitoestrogen dimediasi melalui aktivasi transkripsi oleh gen-gen yang responsif terhadap estrogen (antara lain target gen eNOS, MnSOD, dan *cytochrom-oxidase*) dan melibatkan reseptor estrogen intraseluler. Kompleks hormon-reseptor berikatan dengan *estrogen response element* (ERE) spesifik pada region promoter gen target, menyebabkan aktivitas transkripsi (jalur genomik).<sup>15</sup>

Penurunan kadar MDA serum pada kelompok yang diberi terapi limbah cair tahu 1,2 ml/kgBB, 6 ml/kgBB, dan 12 ml/kgBB ini sesuai dengan hipotesis bahwa limbah cair tahu dapat memiliki efek estrogenik dan antioksidan yang dilihat dari efeknya dalam menurunkan kadar MDA serum tikus yang diovariectomi.

Hal ini sesuai dengan teori bahwa tujuan utama pada jalur klasik estrogen dan fitoestrogen adalah dapat memodulasi eNOS dan ekspresi gen antioksidan melalui interaksi kompleks reseptor dengan *estrogen response element* (ERE) pada regio promotor gen target.<sup>15</sup> Isoflavon meningkatkan kapasitas antioksidan melalui interaksi dengan reseptor estrogen, sehingga dapat menginduksi ekspresi eNOS yang mengarah pada pembentukan NO yang dapat menginduksi sintesa protein sehingga meningkatkan sistem pertahanan selular salah satunya adalah MnSOD yang diikuti oleh penurunan ROS. Sebagai antioksidan isoflavon dapat memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas dengan cara menangkap radikal bebas (*scavenger free radical*), yaitu dengan menjadi donor elektron, sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.<sup>24</sup> Hal ini sejalan dengan semakin besar dosis terapi yang diberikan, didapatkan penurunan kadar MDA Serum.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Terdapat peningkatan kadar MDA serum paling tinggi pada tikus pasca ovariektomi 8 minggu.

1. Pemberian limbah cair tahu dengan dosis 1,2ml/kgBB, 6 ml/kgBB dan 12 ml/kgBB dapat menurunkan kadar MDA serum pada tikus yang telah dilakukan ovariektomi.
2. Semakin meningkatnya dosis limbah cair tahu yang diberikan maka semakin kecil nilai kadar MDA serum tikus yang diovariectomi.

### Saran

Guna pengembangan keilmuan, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Kandungan zat lain di dalam limbah cair tahu dan persentase setiap zat yang terkandung di dalam limbah cair tahu.
2. Tingkat keamanan dan toksisitas dari aplikasi limbah cair tahu apabila digunakan sebagai terapi terhadap manusia.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Achdiat, CM. 2003. *Fitoestrogen untuk wanita menopause*, (Online). (<http://www.situs.kesrepro.info/aging/jul/2003/ag01.html>, diakses tanggal 19 Agustus 2011).
2. Anita, Kenty. 2005. *Efek Isoflavone Genistein dan Daidzein Ekstrak Pueraria Lobata Strain Kangean terhadap Endometrium Tikus (Rattus novergicus) Hipoestrogen*. Thesis. Tidak Diterbitkan. Program Studi Biomedik Program Pascasarjana Universitas Brawijaya: Malang.
3. Arfiyanti, Ariani D. 2006. *Efek Ekstrak Etanol Daun Ceplukan (Physalis minima L) terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Tikus Putih (Rattus novergicus) Strain Wistar yang dilakukan Ovariectomy*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya: Malang.
4. Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B, Wresdiyati T. 2009. *Kualitas Spermatozoa Tikus yang diberi Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng*

- (Zn) dan Vitamin E, (Online), (<http://www.respository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/43200/S%20Astuti.pdf?sequence=1>), diakses tanggal 6 Juni 2011.
5. Ayuningtyas, Ajeng. 2009. *Makalah Kimia Dasar Isoflavon Dalam Kedelai*, (Online), (<http://www.scribd.com/doc/15749320/M-AKALAH-KIMIA-DASAR>), diakses tanggal 18 Oktober 2010.
  6. Dahlan, Sopiudin M. 2006. *Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan: Uji Hipotesis*. Jakarta: Bina Mitra Press.
  7. Favier. 1995. *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*. Birkhauser Verlag: Basel.
  8. Glover A, Assinder SJ. 2006. *Acute exposure of adult male rats to dietary phytoestrogen reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression*. *Jour. Endoc.* 189: 565-573.
  9. Hakim MA, Putri AH, Devita N, Mahadewi K. 2011. *Efektivitas Isoflavone dalam Limbah Cair Tahu sebagai Ekspresi Estrogen terhadap Struktur Mikroskopik Tulang Mandibula dan Jaringan Periodontal pada Model Tikus Ovariectomi: Upaya Menanggulangi Kejadian Periodontitis pada Wanita Pasca Menopause*. PKM-P. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Baruwijaya: Malang.
  10. Kintono, Rio. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak Terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) Serum Tikus yang Diovariectomi*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya: Malang.
  11. Kumru S, Aydin S, Aras A, Gursu M, Gulcu F. 2005. *Effects of Surgical Menopause and Estrogen Replacement Therapy on Serum Paraoxonase Activity and Plasma Malondialdehyde Concentration*. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 59: 108-112.
  12. Nazrun AS, Khairunnur A, Norliza M, Norazlina M, Nirwana I. 2008. *Effects of Palm Tocotrienols on Oxidative Stress and Bone Strength in Ovariectomized Rats*. *Med and Health*, 3(2): 247-255.
  13. Pawiroharsono. 2007. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Yogyakarta: Direktorat Teknologi Bioindustri Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
  14. Purbowatiningrum RS, Hasim, Iswantini Dyah. 2004. *Pengembangan Metode Penentuan Isoflavon Kadar Rendah Dalam Limbah Cair Tahu Menggunakan Enzim Nadh Oksidase*. JKSA. 7(1). 2004 Volume 7., No. 1/ 2004
  15. Putri, Hanafi A. 2011. *Efektivitas Limbah Cair Tahu Terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) Tulang Mandibula Pada Tikus Paska Ovariectomi*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya: Malang.
  16. Sauriasari. 2006. *Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas*, (Online), (<http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2006-01-22-Mengenal-&-Menangkal-Radikal-Bebas.shtml>), diakses tanggal 20 Desember 2011.

17. Shafie, Farshihah M. 2011. *Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan Terhadap Penyakit Periodontal*. Skripsi. Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara: Medan.
18. Siswonoto, Susilo. 2007. *Hubungan Kadar Malondialdehid Plasma Dengan Keluaran Klinis Stroke Iskemik Akut*. Tesis. Diterbitkan. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Syaraf Univeritas Diponegoro: Semarang.
19. Sjahid, Rachmawan L. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.)*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.
20. Syukur R, Alam G, Mufidah, Rahim A, Tayeb R. 2011. *Aktivitas Antiradikal Bebas Beberapa Ekstrak Tanaman*. JST Kesehatan, Vol.1 No.1 : 61 – 67.
21. Vaishali S, Sanjeev S, Neelima S, Shaila, S. 2005. *Status of Antioxidant Enzymes and Trace Metals in Postmenopausal Women*. Journal of Obstetric Gynecologic India, 55: 64-66.
22. Valco ML, Moncol J, Telser J. 2006. *Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39: 44-84.
23. Widyatmoko, Sonny B. 2009. *Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan E pada Kadar SGOT dan SGPT Serum Darah Tikus Putih Yang Terpapar Allethrin*. Diterbitkan. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara: Medan.
24. Wijaya. 1996. *Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan*. Forum Diagnosticum, Prodia Diagnostic Educational Services, 1: 1-12.
25. Winarsi, Hery. 2007. *Isoflavon Kedelai Diperkaya dengan Zn sebagai Suplemen Antiarteros Merosis Wanita Premenopause*. Biota. 12(2): 70-77.
26. Winarsi H, Muchtadi D, Zakaria FR, Purwanto A. 2005. *Efek Suplementasi Zn Terhadap Status Imun Wanita Premenopause Yang Diintervensi Dengan Minuman Berisoflavon*. Hayati. 12(2):82-86.