

## **Ekstrak etanolik kacang panjang (*Vigna sinensis* (L) Savi ex Hassk) meningkatkan proliferasi sel epitel payudara**

### **Snake beans (*Vigna sinensis* (L) Savi ex Hassk) extract increases breast epithelial cells proliferation**

**Edy Meiyanto<sup>\*)</sup>, Sri Handayani dan Riris Istighfari Jenie**

Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC), Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

---

#### **Abstrak**

Kacang panjang adalah bahan alam yang digunakan oleh sebagian masyarakat Jawa untuk merawat payudara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanolik buah kacang panjang (EKP) terhadap proliferasi sel epitel payudara secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengaruh EKP secara *in vitro* dilakukan terhadap sel MCF-7 menggunakan MTT assay dan pengamatan morfologi sel. Percobaan *in vivo* dilakukan terhadap tikus betina galur Sprague Dawley (SD) yang dibagi menjadi 3 kelompok yakni kelompok *base line*, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan EKP dengan dosis 1000 mg/kgBB yang diberikan setiap hari selama 14 hari sejak tikus berumur 30 hari. Pengamatan dilakukan terhadap adanya perkembangan bobot uterus basah, perkembangan lobulus kelenjar payudara, dan perubahan ekspresi reseptor estrogen. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian EKP mampu meningkatkan proliferasi sel MCF-7 yang bergantung pada dosis. Pemberian EKP dosis 50 ug/mL-300 ug/mL menampakkan efek peningkatan proliferasi, sedangkan pada dosis 400 ug/mL dan 500 ug/mL menurunkan proliferasi. Namun demikian, penurunan proliferasi tersebut tidak menyebabkan kematian sel. Pemberian EKP dengan dosis 1000 mg/kgBB berkecenderungan meningkatkan bobot uterus. Pemberian EKP juga mampu meningkatkan perkembangan lobulus hingga 2 kali lipat dan meningkatkan ekspresi reseptor estrogen pada sel epitel duktus dan lobulus payudara. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kacang panjang pada dosis tertentu mampu meningkatkan perkembangan kelenjar payudara dan relatif aman (tidak menimbulkan kematian sel) sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai produk untuk perawatan payudara wanita.

**Kata kunci:** Kacang panjang, perawatan payudara, proliferasi, sel epitel lobulus, reseptor estrogen

#### **Abstract**

Some Javaness people use snake beans for skin and breast care, especially for better breast development. This research was conducted to examine the effect of snake beans extract (EKP) on the breast epithelial cells proliferation on *in vitro* and *in vivo* models. The *in vitro* experiment was carried out against MCF-7 cells using MTT assay and morphologically examination was carried out under light microscope. Sprague Dawley female Rats were used in *in vivo* experiment. The rats (30 days of age) were separated into 3 groups, namely base line group, control group, and treatment groups. The extract was administered in the dose of 1000 mg/kgBW p.o. every day for 14 days then the rats were examined for wet uterus weight, lobulus development, and estrogen receptor (ER) expression. Extract treatment induced MCF-7 cells proliferation in dose dependent manner. The extract exhibited proliferative effect in the dose of 50 ug/mL-

300 ug/mL, but in the dose of 400 ug/mL and 500 ug/mL the extract inhibited cells proliferation and there were no cell death effect. Extract treatment in the dose of 1000 mg/kgBW tended to increase uterus weight. The extract also increased lobulus development up to two fold and induced estrogen receptor expression in epithelial cells of lobulus and ductus. These results conclude, snake bean (in appropriate dose) induces breast glands development and relatively safe (no death effect on the cells), therefore can be developed for breast care product.

**Key words:** Snake bean, breast care, proliferation, lobulus epithelial cells, estrogen receptor

## Pendahuluan

Perkembangan payudara diawali pada masa puber karena pengaruh hormon estrogen yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa. Hormon tersebut mempengaruhi pertumbuhan payudara dengan memacu proliferasi sel-sel epitel duktus dan lobulus pada jaringan payudara yang pada saat yang sama telah mengekspresikan reseptor estrogen (ER) (Leeson *et al.*, 1989). Kompleks estrogen dan reseptornya tersebut selanjutnya akan memacu ekspresi protein yang esensial untuk *cell cycle progression*, misalnya Cyc D, CDK4, dan Myc (Nilsson *et al.*, 2001; Foster *et al.*, 2001). Perkembangan lobulus (yang selanjutnya akan membentuk kelenjar air susu) merupakan faktor yang penting untuk pertumbuhan payudara dan ikut menentukan tekstur payudara. Namun demikian, tidak semua wanita memiliki respons yang sama terhadap rangsang hormonal untuk perkembangan payudara sehingga ukuran dan teksturnya pun tidak sama.

Upaya untuk mendapatkan agen yang mampu meningkatkan perkembangan kelenjar payudara merupakan langkah yang penting untuk membantu perawatan payudara. Banyak senyawa yang memiliki efek seperti estrogen (estrogenic), baik sintetik maupun dari alam. Fitoestrogen merupakan senyawa yang berasal dari tanaman dan memiliki efek estrogenic. Salah satu diantaranya adalah genistein, suatu senyawa alam golongan flavonoid yang berasal dari kedelai. Genistein memiliki efek *estrogenic* yaitu mampu meningkatkan pertumbuhan uterus dan lobulus payudara tikus yang telah di-ovariectomi (Messina and Loprinzi, 2001). Akan tetapi aktivitas Genistein tersebut ditentukan oleh adanya interaksi dengan estrogen reseptor pada *estrogen binding site*-nya sehingga bersifat kompetitif terhadap estrogen. Kondisi ini dirasa kurang ideal untuk kasus sel-sel epitel lobulus yang kurang mengekspresikan

reseptor estrogen dan tidak memiliki efek yang signifikan pada kasus dengan ketersediaan estrogen yang cukup. Keadaan yang sama juga terjadi pada senyawa clofibrat (Xu *et al.*, 2001), daidzein (Messina and Loprinzi, 2001), dan nonylfenol (Watanabe *et al.*, 2004). Oleh karena itu masih diperlukan eksplorasi untuk menemukan agen yang mampu meningkatkan perkembangan payudara yang tidak terpengaruh adanya estrogen.

Kacang panjang (*Vigna sinensis* (L) Savi ex Hassk) adalah salah satu tanaman yang dipercaya masyarakat dapat memperbesar payudara. Pada sebagian masyarakat di Jawa, buah dan biji tanaman ini dimanfaatkan untuk merawat payudara dengan cara ditumbuk kemudian dioleskan pada payudara. Pada umumnya buah kacang-kacangan mengandung senyawa isoflavon yang bersifat estrogenik (Benassayag *et al.*, 2002). Tanaman ini juga mengandung flavonoid diantaranya terdapat enam anthocyanin (cyanidin 3-O-galactoside, cyanidin 3-O-glucoside, delphinidin 3-O-glucoside, malvidin 3-O-glucoside, peonidin 3-O-glucoside, dan petunidin 3-O-glucoside) dan empat flavonol/flavonol glikosida (kaempferol 3-O-glucoside, quersetin, quercetin 3-O-glucoside, dan quercetin 3-O-6'-acetylglucoside) (Wong and Chang, 2004). Kandungan flavonoid di dalam kacang panjang yang cukup banyak jenisnya memberi potensi besar pada kacang panjang untuk berefek estrogenik, namun demikian hal ini masih memerlukan bukti ilmiah melalui penelitian.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak etanolik buah kacang panjang terhadap proliferasi sel epitelial payudara (*in vitro*) dan perkembangan lobulus, uterus, serta ekspresi reseptor estrogen sel epitel lobulus pada tikus (*in vivo*) yang memberikan makna penting mengenai potensi

tanaman tersebut sebagai bahan untuk perawatan payudara.

## Metodologi

### Ekstrak etanolik buah kacang panjang (EKP)

Buah kacang panjang diperoleh dari daerah Sleman dan telah dideterminasi di Bagian Biologi Farmasi UGM sebagai *Vigna sinensis* (L.) Savi ex Hassk; dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam, kemudian ditumbuk hingga diperoleh serbuk halus. Ekstrak kacang panjang diperoleh dengan cara mengekstraksi serbuk kering buah kacang panjang menggunakan etanol 70 % yang kemudian dikeringkan dengan *vacuum evaporator* pada suhu tidak lebih 60 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

### Sel epitel payudara

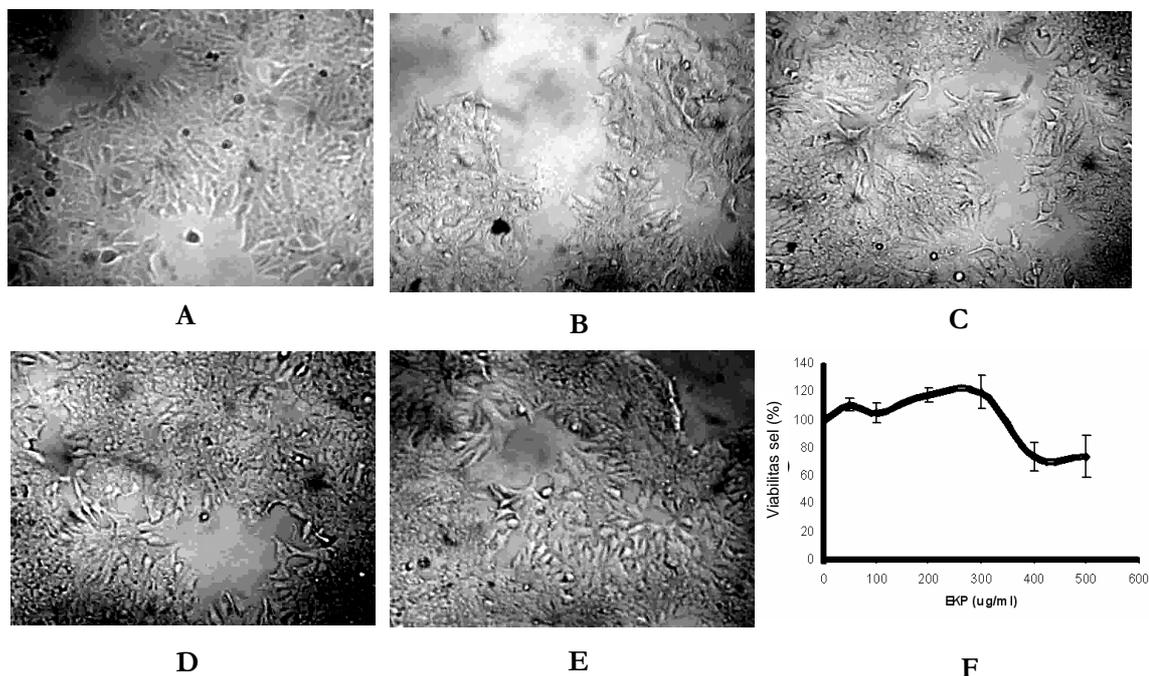
Sel yang digunakan pada penelitian ini adalah sel MCF-7 koleksi *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC) Fakultas farmasi UGM yang dirawat dan ditumbuhkan pada medium DMEM (Gibco) dengan 10 % FBS (Gibco) dan 1 % Penicillin-Streptomycin (Gibco).

### Binatang uji

Binatang uji yang digunakan adalah tikus betina (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley (SD) yang berasal dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UGM dan dirawat sesuai standar laboratorium.

### Uji proliferasi *In Vitro*

Sel MCF-7 sejumlah 5000 sel/sumuran ditanam pada *microplate* 96 sumuran dan diinkubasi selama 48 jam untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik. Setelah itu medium diganti yang baru dengan ditambahkan ekstrak pada berbagai konsentrasi (50, 100, 200, 300, 400, dan 500 µg/mL) dengan co-solvent DMSO (Sigma) dan diinkubasi pada 37 °C dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 % selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media dan ekstrak dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS (Sigma). Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100µl media kultur dan 10µl MTT (Sigma) 5 mg/mL. Sel diinkubasi kembali selama 4-6 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 %, 37 °C. Reaksi MTT dihentikan dengan reagen asam isopropanol (HCl 4N (Merck)-isopropanol (Merck), 1:100), digoyang di atas shaker



Gambar 1. Efek perlakuan EKP terhadap proliferasi sel MCF-7. Sel MCF-7 sebanyak 5000 sel/sumuran yang telah ditanam 48 jam sebelumnya diberi perlakuan EKP dosis 50-500 µg/mL atau DMSO 0,5 % sebagai kontrol. Sel diinkubasi lagi selama 48 jam kemudian direaksikan dengan MTT. Setelah diinkubasi selama 4 jam, reaksi dihentikan dan dibaca absorbansinya pada λ 550 nm. A adalah kontrol sel (DMSO 0,5 %), B-E adalah sel dengan perlakuan EKP masing-masing sebesar 50, 200, 300, dan 500µg/mL. Grafik merupakan nilai rata-rata±SD dari 3 percobaan.

selama 10 menit. Serapan dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm.

#### Uji efek estrogenik *In Vivo*

Sebanyak 14 tikus betina berumur 30 hari yang sebelumnya telah dikondisikan pada kandang percobaan dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama sejumlah 4 ekor dikorbankan pada saat memulai percobaan sebagai baseline (BL) data makroskopis dan mikroskopis. Kelompok kedua berjumlah 4 ekor tidak diberi perlakuan EKP sebagai kontrol (KTP). Kelompok ketiga berjumlah 6 ekor diberi perlakuan EKP dengan dosis 1000 mg/kgBB p.o. setiap hari selama 14 hari. Pada akhir percobaan, semua tikus dikorbankan dengan cara dislokasi leher untuk diamati dan ditimbang bobot uterus basah, perkembangan kelenjar mammae (jumlah lobulus) dengan pengecatan Haematoksilin Eosin (HE) pada irisan mammae kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya (Zeiss), dan pengamatan ekspresi reseptor estrogen pada sel-sel epitel duktus dan lobulus dengan teknik immunohistokimia menggunakan antibodi ER alfa (Santa Cruz Biotechnology, Inc, ER $\alpha$  (F-10:sc-8002)) pada irisan mammae yang lain.

#### Analisis data

Data absorbansi, data berat basah uterus dan data jumlah lobulus diolah dengan Excell MS Office 2003, kemudian diolah lebih lanjut dengan statistika, SPSS 11.0 menggunakan metode Anova yang dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui signifikansi perbedaannya.

### Hasil Dan Pembahasan

#### Efek ekstrak kacang panjang terhadap proliferasi sel MCF-7

Kacang panjang oleh sebagian masyarakat diyakini mampu menambah ukuran payudara. Kemungkinan efek tersebut timbul

oleh adanya peningkatan proliferasi sel-sel epitel payudara, yaitu sel-sel penyusun duktus dan lobulus. MCF-7 merupakan *cell line* yang diturunkan dari sel epitel duktus dan mengekspresikan ER-alfa (Zampieri *et al.*, 2002).

Dengan demikian sel MCF-7 akan responsif terhadap estrogen maupun senyawa fitoestrogen sehingga proliferasinya akan meningkat. Pemberian EKP pada kultur sel MCF-7 menunjukkan fenomena pertumbuhan yang tidak konsisten terhadap dosis. Pemberian ekstrak dengan dosis yang semakin meningkat hingga 300 ug/mL menunjukkan efek peningkatan proliferasi/pertumbuhan sel, namun pada dosis yang lebih tinggi lagi, yaitu 400 ug/mL dan 500 ug/mL terjadi efek penurunan pertumbuhan sel (Gambar 1). Hasil tersebut menunjukkan adanya dosis optimum dari EKP untuk memberikan efek proliferasi yang maksimum dan hal ini merupakan potensi yang besar yang dimiliki buah kacang panjang sebagai penguat payudara.

#### Efek EKP terhadap perkembangan uterus dan kelenjar mammae (Lobulus)

Percobaan secara *in vivo* penting dilakukan untuk mengetahui efek EKP secara sistemik, karena aplikasinya di masyarakat pada dasarnya juga bersifat sistemik meskipun dilakukan secara topikal. Aplikasi EKP secara topikal tidak mungkin dilakukan pada percobaan menggunakan tikus karena anatomi kulit tikus berbeda dengan kulit manusia. Oleh karena itu pada percobaan ini aplikasi perlakuan EKP dilakukan secara peroral dengan dosis yang relatif rendah, yaitu

Tabel I. Efek pemberian EKP terhadap bobot basah uterus tikus<sup>1</sup>

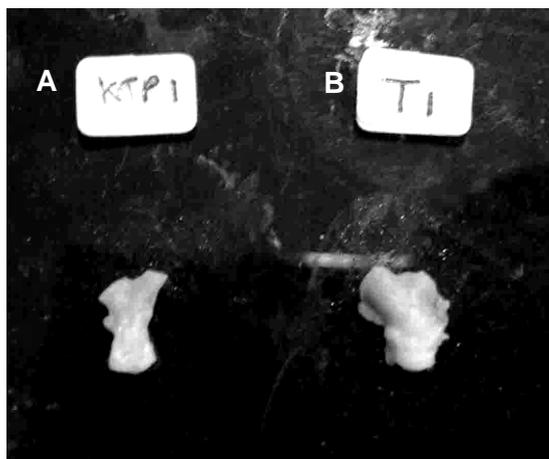
Perlakuan	n	Berat Basah Uterus (mg $\pm$ SD)
BL <sup>2</sup>	3	101,3 $\pm$ 23,2
Kontrol (KTP) <sup>3</sup>	3	97,7 $\pm$ 15,9
EKP 1000 mg/kgBB	4	157,5 $\pm$ 58,2

Keterangan:

<sup>1</sup> Nilai berat basah uterus merupakan rata-rata  $\pm$  SD. Kelompok uji termasuk *baseline*, EKP 1000 mg/kgBB, dan kontrol. Nilai dalam kolom dengan superskrip yang berlainan berarti berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Uji statistik dilakukan dengan uji ANOVA dilanjutkan dengan Uji Tukey.

<sup>2</sup> Tikus *baseline* dikorbankan pada saat sebelum dimulainya perlakuan.

<sup>3</sup> Tikus kontrol merupakan tikus yang tidak mendapatkan perlakuan.



Gambar 2. Efek EKP pada uterus. Tikus betina galur SD berumur 30 hari tanpa perlakuan (KTP) atau dengan diberi perlakuan EKP 1000 mg/kgBB setiap hari selama 14 hari. Tikus kemudian dikorbankan dengan dislokasi leher kemudian diamati morfologi serta ditimbang bobot uterus basah. A. adalah uterus tikus kelompok kontrol (KTP) dan B adalah uterus tikus kelompok EKP, tampak lebih besar dibandingkan kontrol.

1000 mg/kgBB yang merupakan hasil konversi dosis genistein pada percobaan yang sama (Santell *et al.*, 1997) dengan asumsi kadar flavonoid/ isoflavon pada ekstrak sebesar 10 - 20 % (data tidak ditunjukkan).

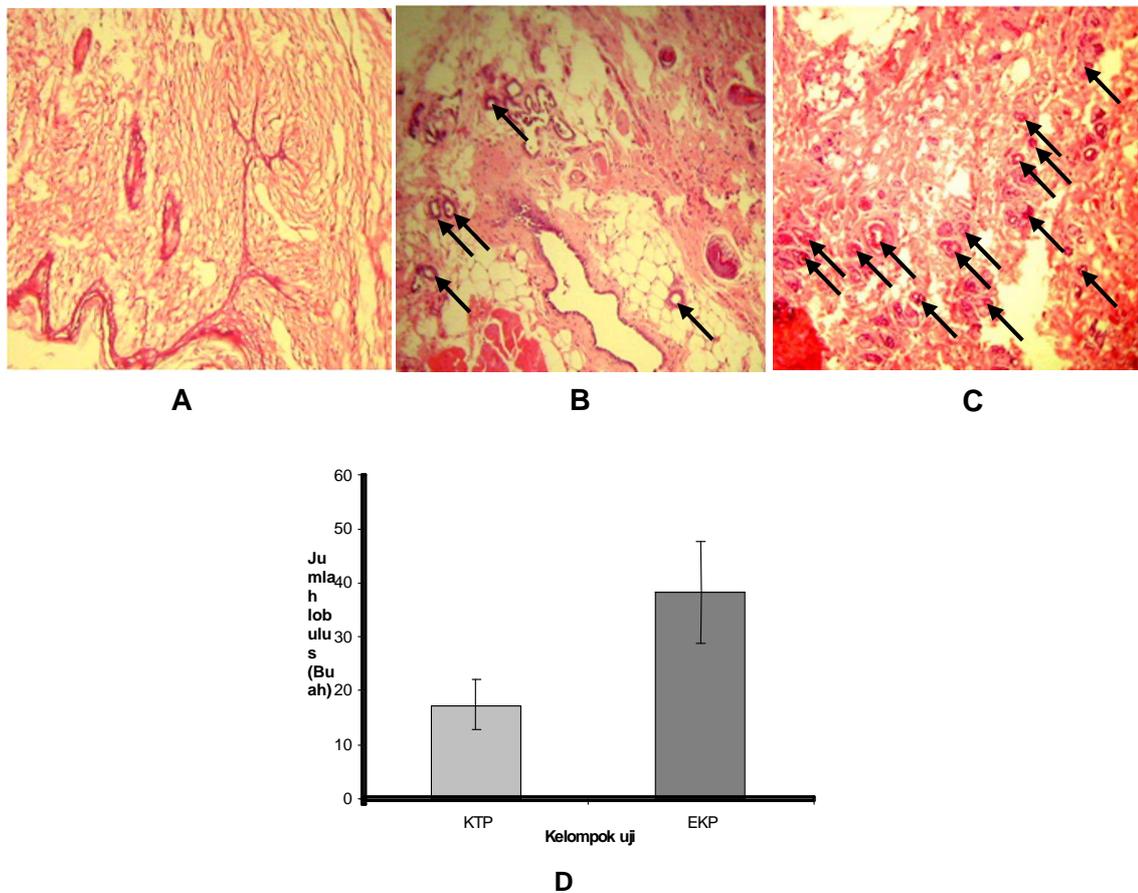
Hasil dari percobaan *in vivo* menunjukkan bahwa pemberian EKP memiliki kecenderungan menaikkan bobot uterus tikus, meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (Tabel I dan Gambar 2). Sementara, tikus yang diberi EKP secara signifikan menunjukkan kenaikan pertumbuhan kelenjar mammae (terjadi kenaikan jumlah lobulus) hingga 2 kali lipat yaitu kurang lebih sejumlah 17 lobul per lapang pandang mikroskop pada kontrol (tanpa perlakuan EKP) menjadi kurang lebih 38 lobul per lapang pandang mikroskop pada pemberian EKP (Gambar 3). Sedangkan pada tikus di awal percobaan (*baseline*) belum menampakkan adanya pertumbuhan kelenjar mammae. Hasil ini menunjukkan bahwa EKP mampu menstimulasi perkembangan kelenjar

mammae. Selain itu pemberian EKP secara per oral juga mampu meningkatkan ekspresi reseptor estrogen alpha ( $ER \alpha$ ) pada sel-sel epitel duktus dan lobulus (Gambar 4).

#### Pembahasan

Adanya fenomena efek yang tergantung dosis pada percobaan *in vitro* menggunakan sel MCF-7 merupakan hal yang menarik untuk dicermati. Efek ini menyerupai efek genistein terhadap sel epitel payudara maupun pada perkembangan uterus (Murkies *et al.*, 1998). Berdasarkan penelitian tersebut diketahui bahwa pada kadar rendah, genistein menunjukkan efek estrogenik, sedang pada kadar tinggi menunjukkan efek antiestrogen sehingga mampu menekan pertumbuhan sel kanker payudara. Efek antagonistik ini disebabkan karena genistein memiliki target aksi yang tidak tunggal. Pada kadar tinggi genistein tidak hanya berinteraksi dengan reseptor estrogen saja melainkan juga menghambat kerja beberapa protein kinase yang berperan penting pada transduksi sinyal. Dengan mekanisme seperti ini maka genistein mampu menghambat sinyal pertumbuhan yang umumnya melalui protein kinase sehingga menyebabkan *cell cycle arrest* (Ji *et al.*, 1999). Mekanisme tersebut kemungkinan juga memperantarai efek yang ditimbulkan oleh EKP pada sel epitel payudara.

Analisis kandungan kimia ekstrak etanolik buah kacang panjang menunjukkan adanya kandungan flavonoid dan terpenoid yang signifikan (data tidak diperlihatkan). Kandungan senyawa tersebut sangat mungkin memberi kontribusi pada aktivitas proliferasi terhadap sel MCF-7 tersebut. Akan tetapi pada percobaan ini masih belum bisa dipastikan, apakah penghambatan yang diperlihatkan pada kadar tinggi tersebut melalui mekanisme seperti halnya genistein. Meskipun demikian dapat dikatakan bahwa dengan melihat tidak adanya sel yang mati (Gambar 1) maka kemungkinan besar penghambatan tersebut melalui mekanisme *cell cycle arrest*, bukan apoptosis ataupun nekrosis. Dengan demikian penggunaan EKP yang relatif berlebihan tidak memberikan efek toksik maupun over-proliferasi pada sel epitel sehingga tidak membahayakan.



Gambar 3. Peningkatan perkembangan lobulus pada tikus yang diberi EKP. Tikus betina galur SD berumur 30 hari tanpa perlakuan (KTP) atau dengan diberi perlakuan EKP 1000 mg/kgBB setiap hari selama 14 hari. Tikus kemudian dikorbankan dengan dislokasi leher kemudian dilakukan pengecatan HE terhadap irisan kelenjar mammae. A, B, dan C masing-masing secara berurutan adalah kelompok BL, kontrol, dan EKP 1000 mg/kgBB, preparat diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Grafik (D) merupakan rata-rata $\pm$ SD jumlah lobulus per lapang pandang dari 12 lapang pandang preparat HE tersebut. (\*) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kontrol dan EKP ( $P < 0,05$  %)

Secara *in vivo* EKP juga menunjukkan efek estrogenik yang signifikan. Kemungkinan besar kandungan flavonoid pada EKP tersebut mampu berinteraksi dengan reseptor estrogen sehingga dapat meningkatkan proliferasi sel-sel epitel duktus dan lobulus yang merupakan ciri khas sel-sel tersebut. Fenomena *in vivo* ini tidak sama dengan efek genistein, yaitu dengan adanya estrogen genistein tidak memberikan efek perkembangan lobulus maupun uterus (Messina and Loprinzi, 2001) karena genistein berkompetisi pada *binding site* yang sama dengan estrogen. Sebaliknya, EKP mampu

meningkatkan perkembangan kelenjar mammae meskipun tikus tersebut tidak di-ovariectomi, yang berarti masih menghasilkan estrogen. Hal ini memberikan informasi bahwa ekstrak tersebut dapat digunakan dan akan memberikan efek meskipun pemakainya secara normal menghasilkan estrogen.

Adanya fenomena bahwa EKP mampu meningkatkan ekspresi reseptor estrogen memberikan dugaan kuat bahwa efek peningkatan perkembangan kelenjar mammae tersebut tidak hanya disebabkan oleh efek estrogeniknya tetapi juga kemungkinan oleh

adanya mekanisme lain yang menyebabkan peningkatan ekspresi reseptor estrogen. Peningkatan ekspresi reseptor estrogen merupakan hal yang penting agar sel-sel epitel tersebut semakin responsif terhadap estrogen maupun fitoestrogen sehingga kemudian untuk berproliferasi. Meskipun demikian hal yang juga perlu diperhatikan adalah apakah peningkatan ekspresi reseptor estrogen ini juga tergantung dosis? Apabila peningkatan ekspresi

reseptor tersebut berbanding lurus dengan peningkatan dosis maka perlu diwaspadai penggunaannya bagi wanita yang memiliki resiko terkena kanker payudara.

### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan kepada seluruh anggota CCRC Fakultas Farmasi UGM yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Benassayag, C., Perrot-Appanat, M. and Ferre, F., 2002, Phyroestrogens as Modulators of Steroid Action in Target Cells, *J. Chrom. B*, 777 : 233 – 248.
- Foster, J. S., Henley, D.C., Ahamed, S., Wimalasena, J., 2001, Estrogen and Cell Cycle Regulation in Breast Cancer, *Trend in Endocrinology and Metabolism*, **12** (7), 320-327.
- Ji, S., Willis G.M., Frank G.R. Cornelius S.G., and Spurlock M.E., 1999, Soybean Isoflavones, Yenistein and Yenistin In hibit Rat Myoblast Proliferation, Fusion and Myotube Protein Sintesis, *J. Nutr*, 129 : 1291 – 1297.
- Leeson, C. R., Leeson, T. S. and Paparo, A. A., 1989, *Textbook of Histology*, WB Saunders Company, Philadelphia.
- Messina, M. J. and Loprinzi, C. L., 2001, Soy for Breast Cancer Survivors: A Critical Review of the Literature, *J. Nutr.*, 131: 3095S–3108S.
- Murkies, A. L., Wilcox, G., Davis, S. R., 1998, Phytoestrogens, *J Clin Endocrinol Metab* **83**:297-303.
- Nilsson, S., Makela, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., Enmark, E., Petterson K., Warner, M., Gustafsson, J., 2001, Mechanisms of Estrogen Action, *Physiol Rev.*, Vol 81, 1536-1565.
- Santell, R. C. Chang, Y. C., Nair M. G. and Helferich W. G., 1997, Dietary Genistein Exerts Estrogenic Effec Upon the Uterus, Mammary Gland and the Hypotalamic/Putuitary Axis in Rats, *J. Nutr*, 127: 263 - 269
- Watanabe, H., Suzuki, A., Goto, M., Lubahn, D. B., Handa, H., Iguchi, T., 2004, Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol, *Journal of Molecular Endocrinology*, **33**, 243–252.
- Wong, Y. S., and Chang, Q., 2004, Identification of flavonoids in Hakmeitau beans (*Vigna sinensis*) by high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry (LC-ESI/MS), *J. Agric. Food Chem.*, 52: 22, 6694 - 6699
- Xu, S. Y., Zhu, B. T., Cai, M. X., Conney, A. H., 2001, Stimulatory Effect of Clofibrate on the Action of Estradiol in the Mammary Gland but Not in the Uterus of Rats, *JPET*, 297:50–56.
- Zampieri L, Bianchi P, Ruff P, Arbuthnot P, 2002, Differential modulation by estradiol of P-glycoprotein drug resistance protein expression in cultured MCF7 and T47D breast cancer cells, *Anticancer Res.*, **22**(4):2253-9.

---

\* Korespondensi : Dr Edy Meiyanto, M.Si., Apt.  
Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada  
Sekip Utara Yogyakarta, 55281. Telp. 0274-543120  
E-mail: meiyana\_e@ugm.ac.id