

RESPON KANDUNGAN ISOFLAVON DAIDZEIN PADA LEGUM *Alysicarpus vaginalis* TERHADAP VARIASI DOSIS PUPUK FOSFOR

(Response of Daidzein Isoflavone Content in Alysicarpus vaginalis Legume to Variations in Phosphorus Fertilizer Doses)

Prihutomo Suharto*, Rahmat Gusri, I Kadek Yoga Kertiyasa, I Putu Gede Didik Widiarta

Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jl. Adisucipto, Penfui – Kupang, Kode Pos 104 Kupang 85001 NTT, Indonesia

*Correspondent author, email: prihutomo_suharto@staf.undana.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang penelitian didasarkan pada pentingnya daidzein sebagai fitoestrogen yang berpotensi meningkatkan performa reproduksi ternak, sementara ketersediaannya dalam bahan pakan konvensional masih terbatas. *Alysicarpus vaginalis* merupakan salah satu spesies leguminosa lokal yang memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang cukup tinggi, termasuk keberadaan isoflavon sehingga informasi ini sangat krusial untuk pengembangan pakan fungsional berbasis fitogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi dosis pupuk fosfor terhadap kandungan isoflavon daidzein pada legum *Alysicarpus vaginalis*. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri atas 5 perlakuan variasi dosis fosfor yaitu 0, 10, 20, 30, dan 40 kg P/ha dengan 3 ulangan. Metode yang digunakan meliputi tahap 1) ekstraksi isoflavon melalui maserasi dengan etanol 70%, 2) konsentrasi ekstrak menggunakan rotary evaporator, dan 3) analisis kuantitatif kandungan daidzein pada legum *Alysicarpus vaginalis* yang diberi variasi dosis pupuk fosfor dengan menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan dosis fosfor (0-40 kg P/ha) secara signifikan ($P < 0,05$) meningkatkan kandungan daidzein, dari 0,0922 g/100 g sampel (kontrol / 0 kg P/ha) menjadi 2,9978 g/100 g sampel pada dosis tertinggi (40 kg P/ha). Analisis statistik mengungkapkan korelasi positif yang kuat antara dosis fosfor dan akumulasi daidzein ($R^2 = 0,985$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah aplikasi pupuk fosfor dapat meningkatkan produksi daidzein pada *Alysicarpus vaginalis*, yang berimplikasi pada pengembangan pakan fungsional untuk mendukung kesehatan dan produktivitas ternak.

Kata-kata kunci: *Alysicarpus vaginalis*, pupuk fosfor, HPLC, isoflavon, daidzein

ABSTRACT

This study is grounded in the significance of daidzein as a phytoestrogen with potential to enhance livestock reproductive performance, while its availability in conventional feed ingredients remains limited. *Alysicarpus vaginalis* is a local legume species exhibiting relatively high phenolic and flavonoid compounds, including isoflavones, making this information crucial for developing phytogenic based functional feed. This research aimed to evaluate the effect of varying phosphorus fertilizer doses on daidzein isoflavone content in *Alysicarpus vaginalis*. An experimental study was conducted using a Completely Randomized Design (CRD) with five phosphorus dose treatments (0, 10, 20, 30, and 40 kg P/ha) and three replications. The methodology included: (1) isoflavone extraction via 70% ethanol maceration, (2) extract concentration using a rotary evaporator, and (3) quantitative analysis of daidzein content in phosphorus fertilized *Alysicarpus vaginalis* using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). Increasing phosphorus doses (0–40 kg P/ha) significantly ($P < 0.05$) elevated daidzein content from 0.0922 g/100 g sample (control, 0 kg P/ha) to 2.9978 g/100 g sample at the highest dose (40 kg P/ha). Statistical analysis revealed a strong positive correlation between phosphorus dosage and daidzein accumulation ($R^2 = 0.985$). Phosphorus fertilizer application enhances daidzein production in *Alysicarpus vaginalis*, implying potential for functional feed development to support livestock health and productivity.

Keywords: *Alysicarpus vaginalis*, phosphorus fertilizer, HPLC, isoflavone, daidzein

PENDAHULUAN

Hijauan pakan merupakan komponen esensial dalam menunjang proses pertumbuhan dan perkembangan hewan ternak secara optimal (Sutaryono & Sari, 2023). Untuk menjamin ketersediaan nutrisi yang memadai bagi ternak, diperlukan kesinambungan dalam produksi tanaman pakan sepanjang tahun (Suherman & Herdiawan, 2015). Namun demikian, kondisi iklim terutama selama periode musim kemarau seringkali menjadi kendala signifikan dalam pemenuhan kebutuhan hijauan untuk pakan ternak. Variabilitas temporal musim kemarau di berbagai wilayah Indonesia turut mempengaruhi ketersediaan hijauan pakan. Pada prinsipnya, produksi tanaman hijauan makanan ternak sangat dipengaruhi oleh pola musiman, seperti ketersediaan hijauan pakan dapat meningkat secara substansial selama musim hujan, sedangkan pada musim kemarau mengalami penurunan produksi baik secara kuantitas maupun kualitas. Penurunan ini berdampak pada berkurangnya pemberian pakan hijauan seperti rumput (Sriagtula & Sowmen, 2018), yang umumnya disebabkan oleh degradasi kelembaban tanah akibat kekeringan (Suryaningsih, 2022). Defisit pakan hijauan dapat berimplikasi negatif terhadap performa fisiologis ternak termasuk penurunan produktivitas, perlambatan pertumbuhan dan gangguan fungsi reproduksi (Sari *et al.*, 2022). Kondisi tersebut menjadi salah satu faktor pembatas dalam pengembangan sektor peternakan nasional. Oleh karena itu, diversifikasi sumber pakan melalui introduksi dan pengembangan tanaman leguminosa menjadi alternatif strategis yang dapat mengatasi keterbatasan hijauan selama musim kering (Suherman & Herdiawan, 2015). Tanaman legum diketahui memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap kondisi tanah marginal dan tetap mampu tumbuh pada musim kemarau (Daning & Foekh, 2018). Selain itu, leguminosa mengandung kadar protein dan nutrisi yang tinggi, sehingga berpotensi besar sebagai sumber pakan berkualitas. Indonesia sendiri memiliki kekayaan biodiversitas tanaman pakan, khususnya dari kelompok legum, yang dapat dimanfaatkan secara optimal untuk mendukung ketahanan pakan ternak nasional.

Berbagai spesies leguminosa lokal memiliki keunggulan nutrisi yang signifikan, salah satunya adalah *Alysicarpus vaginalis*. Tanaman yang dikenal dengan sebutan lokal

kacang brobos atau barobos ini diperkirakan berasal dari wilayah India (Arya & Mehta, 2017). Secara agronomis, legum ini mampu menghasilkan biomassa sebesar 4-6 ton BK/ha dengan palatabilitas yang baik bagi ternak ruminansia (Jelantik *et al.*, 2019). Dari aspek nutrisi, kandungan protein kasar *Alysicarpus vaginalis* mencapai 16-18% pada fase pertumbuhan optimal, dan tetap mempertahankan kadar protein 13,23% pada fase vegetatif (Jelantik *et al.*, 2019), suatu nilai yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan rerumputan pakan konvensional. Sebagai tanaman legum tropis, *Alysicarpus vaginalis* menyimpan potensi senyawa bioaktif yang belum banyak diteliti. Tanaman legum *Alysicarpus vaginalis* dilaporkan mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, isoflavone termasuk daidzein yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan, estrogenik, dan antikanker (Sarkar & Li, 2003; Vitale *et al.*, 2013). Beberapa studi awal mengindikasikan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang cukup tinggi pada spesies ini, termasuk keberadaan isoflavon (Farag *et al.*, 2008).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa distribusi daidzein dapat bervariasi pada berbagai bagian tanaman, seperti daun, batang, akar, dan biji (Kaufman *et al.*, 1997). Daidzein sebagai salah satu fitoestrogen menunjukkan afinitas tinggi terhadap reseptor estrogen (Wang *et al.*, 2017; Kaufman *et al.*, 1997), daidzein memiliki banyak potensi pada bidang peternakan karena dapat meningkatkan performa reproduksi ternak, terutama pada ruminansia dan unggas (Sukumaran *et al.*, 2018). Daidzein diketahui dapat mempengaruhi sekresi hormon reproduksi, meningkatkan kualitas oosit (sel telur), serta menstabilkan siklus estrus pada sapi perah (Liu *et al.*, 2021). Metabolit daidzen dapat menghasilkan senyawa *Equol* yang dapat menunjukkan aktivitas estrogenik yang lebih kuat dan berperan penting dalam peningkatan fertilitas (Tiscione *et al.*, 2017). Namun, data mengenai profil metabolik *Alysicarpus vaginalis* khususnya kandungan daidzein pada masing-masing organ tanaman masih terbatas. Pemahaman mengenai distribusi senyawa ini dapat menjadi dasar untuk pemanfaatan tanaman secara lebih optimal, baik dalam pengembangan obat herbal maupun sumber senyawa bioaktif baru. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi

kadar daidzein pada berbagai bagian tanaman leguminosa *Alysicarpus vaginalis* serta potensi upaya dalam pengembangan pakan fungsional berbasis fitogenik.

Fosfor (P) merupakan salah satu unsur hara esensial yang berperan penting dalam pertumbuhan tanaman, metabolisme energi, dan sintesis senyawa bioaktif, termasuk flavonoid dan isoflavon (Vance *et al.*, 2003). Pada tanaman legum, ketersediaan fosfor tidak hanya memengaruhi produktivitas biomassa tetapi juga dapat memodulasi produksi senyawa fenolik seperti daidzein yang memiliki nilai farmakologis tinggi (Suliman & Tran, 2014). *Alysicarpus vaginalis* salah satu spesies legum yang dikenal mengandung daidzein, diduga responsif terhadap pemupukan fosfor mengingat peran fosfor dalam jalur biosintesis fenilpropanoid sebagai prekursor senyawa isoflavon (Dixon & Paiva, 1995). Beberapa studi menunjukkan bahwa pemberian fosfor berperan sebagai aktivator yang dapat meningkatkan aktivitas enzim-enzim dalam biosintesis isoflavon, seperti fenilalanin amonia-liase (PAL) dan *chalcone synthase* (CHS) (Dong & Lin,

2021), sehingga berpotensi meningkatkan produksi daidzein (Zhang *et al.*, 2009). Selain itu, fosfor juga berperan dalam fiksasi nitrogen simbiotik pada legum melalui pembentukan nodul yang secara tidak langsung dapat memengaruhi metabolisme sekunder tanaman (Suliman & Tran, 2015). Namun, respons tanaman terhadap dosis fosfor yang berbeda belum banyak dieksplorasi, terutama dalam konteks peningkatan kandungan senyawa bioaktif seperti daidzein.

Pemanfaatan kandungan daidzein sebagai suplemen pakan ternak masih terbatas karena ketersediaannya yang rendah dalam bahan pakan konvensional. Oleh karena itu, pencarian sumber alternatif daidzein dari legum lokal seperti *Alysicarpus vaginalis* menjadi penting untuk dikembangkan sebagai upaya pengembangan pakan fungsional untuk mendukung reproduksi ternak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi dosis pupuk fosfor pada tanaman legum *Alysicarpus vaginalis* terhadap respons kandungan daidzein.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan berupa *rotary evaporator* (untuk konsentrasi ekstrak), Sentrifus (untuk pemisahan larutan), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dengan detektor UV, Kolom HPLC: Lichrosper® 100 RP-18 (non-polar). Selanjutnya, bahan tanaman yang digunakan merupakan bibit tanaman leguminosa *Alysicarpus vaginalis*. Pupuk fosfor digunakan sebagai perlakuan pada penelitian ini. Bahan kimia yang digunakan meliputi Etanol 70% (untuk ekstraksi isoflavon), Metanol dan asam asetat 0,02% (untuk fase gerak HPLC), Standar isoflavon (daidzein) untuk kalibrasi HPLC.

Metode Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi dosis fosfor (0, 10, 20, 30, dan 40 kg P/ha) dengan variabel yang diukur dalam penelitian ini diantaranya adalah 1) pengamatan kandungan senyawa fenolik dan isoflavon melalui warna hasil ekstraksi legum *Alysicarpus vaginalis*; 2) pengukuran analisis kuantitatif

senyawa daidzein pada tanaman legum *Alysicarpus vaginalis*.

Prosedur Kerja

Prosedur Ekstraksi Isoflavon Melalui Maserasi
Sampel tanaman legum *Alysicarpus vaginalis* seberat 100 gram dari masing-masing perlakuan dosis fosfor (0, 10, 20, 30, dan 40 kg P/ha) pertama-tama dihomogenisasi menggunakan blender. Proses ekstraksi kemudian dilakukan melalui maserasi menggunakan 250 mL etanol 70% selama 24 jam pada suhu ruang (Jang *et al.*, 2019). Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 untuk memisahkan filtrat dari residu. Ekstraksi berulang dilakukan pada residu sebanyak dua kali masing-masing dengan 100 mL etanol 70% selama 24 jam untuk memastikan ekstraksi sempurna (Jang *et al.*, 2019; Bustamante-Rangel *et al.*, 2018).

Konsentrasi Ekstrak

Seluruh filtrat yang diperoleh dikombinasikan dan dikonsentrasikan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat kemudian dikeringkan lebih lanjut dalam oven pada suhu 50°C selama 30 menit untuk

menghilangkan sisa pelarut, menghasilkan ekstrak etanol kering yang siap untuk analisis lebih lanjut (Bustamante-Rangel *et al.*, 2018).

Analisis Kuantitatif Dengan HPLC

Identifikasi dan kuantifikasi isoflavon dilakukan menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dengan prosedur analisis menurut Foudah & Abdel-Kader (2017); Bustamante-Rangel *et al.* (2018) diantaranya sebagai berikut:

1. Preparasi sampel: Ekstrak etanol dilarutkan kembali dalam etanol absolut dengan konsentrasi 0,1 mg/ml.
2. Sentrifugasi: Larutan sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit untuk klarifikasi.
3. Kondisi operasional HPLC:

- Kolom: Lichrosper® 100 RP-18 (10 cm).
- Fase gerak: metanol: asam asetat 0,02 M (57,5:42,5 v/v)
- Laju alir: 1,0 mL/menit
- Detektor UV: λ 265 nm
- Volume injeksi: 20 μ L
- Suhu kolom: 25°C

Analisis Data

Data kandungan isoflavon dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dengan rancangan acak lengkap (RAL). Uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) diterapkan apabila ditemukan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antar perlakuan. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan software SPSS versi 25 dengan tingkat kepercayaan 95% (Steel & Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Legum *Alysicarpus vaginalis*

Ekstraksi legum *Alysicarpus vaginalis* menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan variasi massa dan warna ekstrak pada setiap variasi aplikasi fosfor (P). Hasil ekstraksi disajikan pada Tabel 1 berikut.

Berdasarkan analisis data pada Tabel 1 menunjukkan tren peningkatan massa ekstrak yang sejalan dengan kenaikan dosis aplikasi fosfor pada legum *Alysicarpus vaginalis*. Perlakuan tanpa fosfor 0 kg P/ha (kontrol)

menghasilkan ekstrak dengan massa terendah (1,276 g) berwarna kuning muda, sedangkan perlakuan 40 kg P/ha menghasilkan ekstrak dengan massa tertinggi (9,458 g) berwarna coklat hitam. Perubahan warna yang progresif dari kuning ke coklat tua hingga coklat hitam ini mengindikasikan adanya peningkatan kandungan senyawa fenolik dan isoflavon, yang secara luas diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Dastmalchi *et al.*, 2017).

Tabel 1. Hasil ekstraksi legum *Alysicarpus vaginalis* pada variasi pemberian dosis pupuk fosfor

Dosis Fosfor (kg P/ha)	<i>Alysicarpus vaginalis</i>	
	Massa (g/100 g sampel)	Warna Ekstrak
0	1,276 ^{a 1)}	Kuning
10	4,275 ^b	Coklat
20	8,279 ^c	Coklat
30	8,30 ^c	Coklat Tua
40	9,458 ^d	Coklat Hitam
p-value	< 0,001 ²⁾	

Keterangan: 1) a, b, c, d Superscript yang berbeda pada baris yang sama pada setiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) berdasarkan uji DMRT. 2) Terdapat pengaruh sangat nyata ($p < 0,001$) dari aplikasi fosfor terhadap perlakuan fosfor terhadap massa ekstrak legum *Alysicarpus vaginalis*.

Berdasarkan analisis data pada Tabel 1 menunjukkan tren peningkatan massa ekstrak yang sejalan dengan kenaikan dosis aplikasi fosfor pada legum *Alysicarpus vaginalis*. Perlakuan tanpa fosfor 0 kg P/ha (kontrol)

menghasilkan ekstrak dengan massa terendah (1,276 g) berwarna kuning muda, sedangkan perlakuan 40 kg P/ha menghasilkan ekstrak dengan massa tertinggi (9,458 g) berwarna coklat hitam. Perubahan warna yang progresif dari kuning ke coklat tua hingga coklat hitam ini mengindikasikan adanya peningkatan

kandungan senyawa fenolik dan isoflavon, yang secara luas diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Dastmalchi *et al.*, 2017).

Hubungan positif antara dosis fosfor dan massa ekstrak yang dihasilkan dapat dijelaskan melalui peran fosfor dalam metabolisme sekunder tanaman. Fosfor berperan sebagai kofaktor penting dalam aktivasi enzim-enzim pada jalur biosintesis fenilpropanoid, yang merupakan jalur utama produksi senyawa fenolik termasuk daidzein (Anguraj Vadivel *et al.*, 2019). Temuan ini diperkuat oleh penelitian Araya-Cloutier *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa ketersediaan fosfor yang memadai dapat meningkatkan produksi senyawa bioaktif pada tanaman famili legum. Gradasi warna ekstrak yang semakin gelap seiring peningkatan dosis fosfor menunjukkan beberapa kemungkinan: 1.) Akumulasi senyawa polar seperti daidzein; 2.) Proses oksidasi senyawa fenolik selama ekstraksi; 3.) Peningkatan kandungan pigmen alami seperti tanin (Dastmalchi *et al.*, 2017).

Hasil ini konsisten dengan temuan Chang *et al.* (2020) yang melaporkan korelasi positif antara intensitas warna gelap dengan kandungan daidzein pada ekstrak tanaman legum. Temuan penelitian menunjukkan bahwa aplikasi fosfor tidak hanya meningkatkan rendemen ekstrak tetapi juga berpotensi meningkatkan kandungan senyawa bioaktif yang bermanfaat sebagai antioksidan alami. Namun, untuk memastikan komposisi dan kuantitas senyawa isoflavon seperti daidzein diperlukan analisis lebih lanjut menggunakan teknik analisis HPLC (Anguraj Vadivel *et al.*, 2019).

Hasil Identifikasi Isoflavon Daidzein Pada Legum *Alysicarpus vaginalis* Menggunakan HPLC

Analisis dengan HPLC bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa daidzein dalam sampel tanaman legum tanaman legum *Alysicarpus vaginalis* yang diberikan lima tingkat aplikasi fosfor (P) sebagai perlakuan: 0, 10, 20, 30, dan 40 kg P/ha. Analisis HPLC dilakukan dengan membandingkan waktu retensi dari senyawa isoflavon standar dengan waktu retensi dari masing-masing sampel. Adanya puncak-puncak yang memiliki waktu retensi relatif sama dengan senyawa daidzein menunjukkan bahwa dalam sampel tersebut terdapat kandungan daidzein. Penentuan waktu retensi senyawa daidzein standar dilakukan pada hari yang sama dengan penentuan waktu retensi

dari masing-masing sampel untuk meminimalkan perbedaan kondisi.

Analisis kuantitatif senyawa daidzein dilakukan dengan cara menghitung area di bawah puncak luas. Konsentrasi senyawa daidzein dapat diketahui dengan mengalikan persentase luas masing-masing senyawa daidzein dalam kromatogram dengan massa ekstrak etanol yang dihasilkan. Hasil identifikasi senyawa daidzein berdasarkan kromatogram pada tanaman legum *Alysicarpus vaginalis* yang diberikan lima tingkat aplikasi fosfor (P) sebagai perlakuan: 0, 10, 20, 30, dan 40 kg P/ha dapat dilihat pada Tabel 2.

Analisis kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) berhasil mengidentifikasi dan mengkuantifikasi senyawa daidzein pada ekstrak *Alysicarpus vaginalis* dengan berbagai tingkat aplikasi fosfor. Kondisi analisis HPLC yang digunakan meliputi kolom Lichrosper RP-18 (10 cm), fase gerak metanol:asam asetat 0,02 M (57,5:42,5%), dan deteksi UV pada λ 265 nm. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan puncak daidzein dengan waktu retensi konsisten pada $8,20 \pm 0,05$ menit. Hasil analisis menunjukkan pola peningkatan kandungan daidzein yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis fosfor. Pada perlakuan tanpa fosfor (kontrol), kandungan daidzein relatif rendah (0,0922 g), namun meningkat hampir 10 kali lipat pada aplikasi 10 kg P/ha (0,8915 g). Peningkatan paling signifikan teramati antara perlakuan 30 kg P/ha (2,0447 g) dan 40 kg P/ha (2,9978 g).

Analisis kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) berhasil mengidentifikasi dan mengkuantifikasi senyawa daidzein pada ekstrak *Alysicarpus vaginalis* dengan berbagai tingkat aplikasi fosfor. Kondisi analisis HPLC yang digunakan meliputi kolom Lichrosper RP-18 (10 cm), fase gerak metanol:asam asetat 0,02 M (57,5:42,5%), dan deteksi UV pada λ 265 nm. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan puncak daidzein dengan waktu retensi konsisten pada $8,20 \pm 0,05$ menit. Hasil analisis menunjukkan pola peningkatan kandungan daidzein yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis fosfor. Pada perlakuan tanpa fosfor (kontrol), kandungan daidzein relatif rendah (0,0922 g), namun meningkat hampir 10 kali lipat pada aplikasi 10 kg P/ha (0,8915 g). Peningkatan paling signifikan teramati antara perlakuan 30 kg P/ha (2,0447 g) dan 40 kg P/ha (2,9978 g).

Tabel 2. Kandungan isoflavon daidzein legum *Alysicarpus vaginalis* pada variasi pemberian dosis pupuk fosfor

Dosis Fosfor (kg P/ha)	<i>Alysicarpus vaginalis</i>		
	Kandungan Daidzein (g/100 g sampel)	Kandungan Daidzein (mg/100 g sampel)	Waktu Retensi (Menit)
0	0,0922 ± 0,003 ^{a 1)}	9,22 ± 0,30 ^a	8,21 ± 0,05
10	0,8915 ± 0,012 ^b	89,15 ± 1,20 ^b	8,19 ± 0,03
20	1,3841 ± 0,021 ^c	138,41 ± 2,10 ^c	8,23 ± 0,04
30	2,0447 ± 0,034 ^d	204,47 ± 3,40 ^d	8,20 ± 0,02
40	2,9978 ± 0,045 ^e	299,78 ± 4,50 ^e	8,22 ± 0,03
p-value	<0,001 ²⁾		

Keterangan: 1) a, b, c, d, e Superscript yang berbeda pada baris yang sama pada setiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) berdasarkan uji DMRT. 2) Terdapat pengaruh sangat nyata ($p < 0,001$) dari aplikasi fosfor terhadap kandungan daidzein

Kadar daidzein dihitung berdasarkan luas area puncak kromatogram dengan menggunakan kurva kalibrasi standar daidzein (0,1-5 mg/mL) dengan persamaan regresi linier: $y = 12543x + 87,26$; $R^2 = 0,9992$. Perhitungan menunjukkan korelasi positif yang kuat antara dosis fosfor dengan akumulasi daidzein, dengan persamaan regresi $y = 0,073x + 0,115$ ($R^2 = 0,985$). Fosfor (P) memainkan peran penting dalam berbagai proses metabolisme, termasuk pembangkitan energi, respirasi, sintesis membran dan integritasnya, sintesis asam nukleat, fotosintesis, aktivasi atau in-aktivasi enzim, pensinyalan, serta metabolisme karbohidrat (Biala-Leonhard *et al.*, 2021; Dixon, 1999).

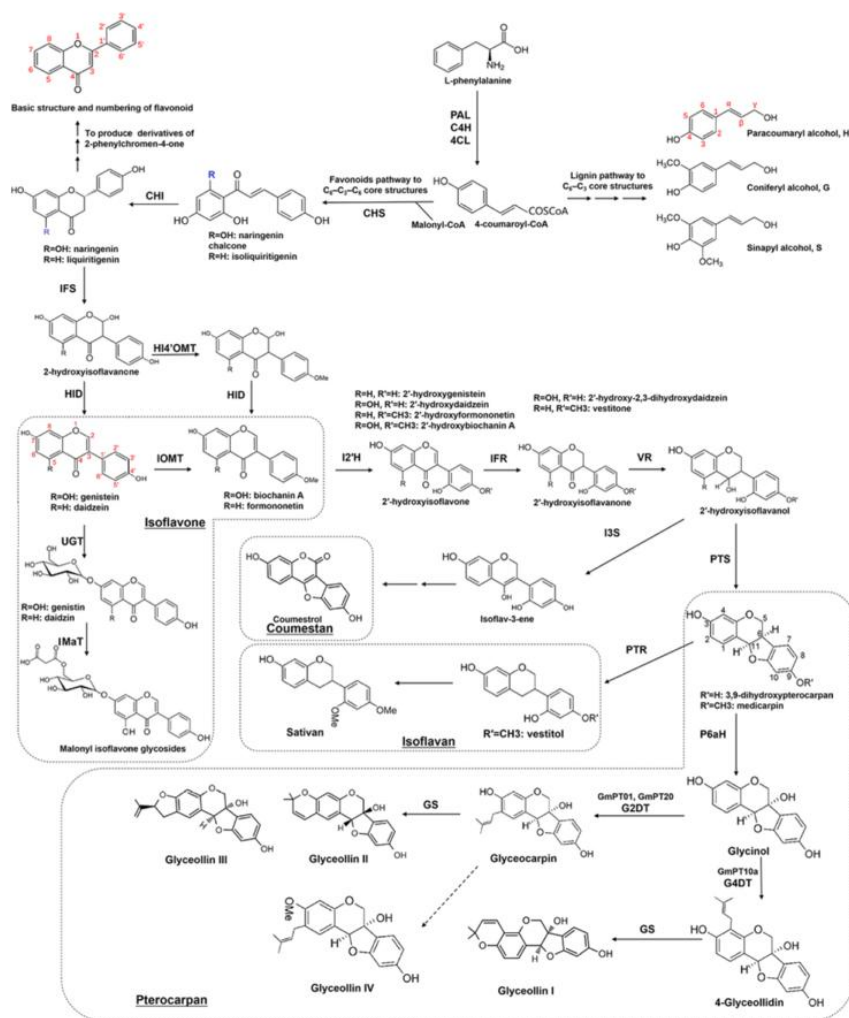
Fosfor (P) juga berperan krusial dalam pengembangan hubungan simbiosis antara legum dan bakteri, karena sejumlah P tertentu diperlukan untuk melaksanakan Biological Nitrogen Fixation (BNF) (Bassi *et al.*, 2018; Deng *et al.*, 2019). Terdapat bukti yang cukup bahwa legum yang berpolong membutuhkan lebih banyak P dibandingkan tanaman non-simbiotik yang hanya bergantung pada sumber nitrogen mineral (Deng *et al.*, 2019; García-Calderón *et al.*, 2020). Sejumlah besar P diperlukan untuk jalur metabolisme transfer energi yang terjadi selama fungsi nodul (García-Calderón *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2019). Namun, sebagian besar tanah pertanian memiliki kandungan P yang tidak memadai untuk mendukung BNF yang efisien (Deng *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2019). Proses selanjutnya adalah perubahan menjadi asam amino (Deng *et al.*, 2019). Phenylalanine adalah produk akhir dari jalur shikimate, yang juga menimbulkan asam amino aromatik tirosin dan triptofan yang berperan sebagai precursor dari asam sinamat (Wang *et al.*, 2023).

Pada jalur metabolisme Phenylpropanoid menghasilkan sejumlah senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, isoflavon, kumarin, konjugat asam hidroksisinamat, dan lignan (Ahmad *et al.*, 2021; Anguraj Vadivel *et al.*, 2021; Banasiak *et al.*, 2013). Dalam jalur ini, Phenylalanine, asam amino aromatik, diubah menjadi p-coumaroyl-CoA melalui aktivitas Phenylalanine ammonia-lyase (PAL), asam sinamat 4-hidroksylase (C4H), dan 4-coumarate: CoA ligase (4CL). Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) mengkatalisis langkah pertama dalam metabolisme Phenylpropanoid, yaitu deaminasi Phenylalanine menjadi asam transinamat (Dong & Lin, 2021; Dixon *et al.*, 1995). Dalam proses metabolisme Phenylpropanoid yang terjadi pada tanaman legum *Alysicarpus vaginalis*, enzim Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) berperan sebagai enzim yang mengkatalisis pada langkah pertama dalam proses metabolisme Phenylpropanoid dimana Phenylalanine mengalami deaminasi untuk menghasilkan asam transinamat yang merupakan precursor sintesis isoflavon daidzein (Dong & Lin, 2021; Dixon *et al.*, 1995). Seperti pada banyak tanaman, proses deaminasi Phenylalanine dengan mengaktifkan isoform Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) dari legum *Alysicarpus vaginalis* yang memberikan kode kepada turunan gen dari enzim Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) meliputi PAL1-PAL2-PAL3-PAL4 (Muro-Villanueva, Mao & Chapple, 2019).

Langkah kedua dalam metabolisme Phenylpropanoid yaitu melibatkan aktivitas dari asam sinamat 4-hidroksylase (C4H), cytochrome P450 monooxygenase pada tanaman yang mengkatalisis proses hidroksilasi asam transinamat untuk menghasilkan asam p-

kumarat atau p-coumaric acid. Langkah kedua dalam metabolisme Phenylpropanoid ini merupakan reaksi oksidasi pertama dalam jalur sintesis isoflavon (Yadav *et al.*, 2020). Pada langkah ketiga dalam metabolisme Phenylpropanoid, 4-coumarate: CoA ligase (4CL) mengkatalisis pembentukan p-coumaroyl-CoA dengan menambahkan unit ko-enzim A (CoA) ke asam p-kumarat atau p-coumaric acid. Pada tumbuhan, gen 4-coumarate: CoA ligase (4CL) biasanya memiliki turunan gen famili yang sebagian besar menunjukkan spesifisitas substrat. Dari empat gen 4-coumarate: CoA

ligase (4CL) terdapat pada *Alysicarpus vaginalis* yang meliputi: Av4CL1, Av4CL2, dan Av4CL4 yang terlibat dalam biosintesis lignin, sedangkan Av4CL3 berperan dalam metabolisme isoflavon (Ahmad *et al.*, 2021; Biala-Leonhard *et al.*, 2021). Pada tumbuhan, aktivitas 4-coumarate: CoA ligase (4CL) berkorelasi positif dengan kandungan antosianin dan flavonol sebagai respons terhadap stres (Veitch, 2013; Watanabe *et al.*, 2019). Mekanisme pembentukan isoflavon daidzein dalam metabolisme Phenylpropanoid disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme produksi isoflavon daidzein dalam metabolisme Phenylpropanoid pada tanaman legum *Alysicarpus vaginalis*

Semakin tinggi Phenylalanine yang terbentuk maka semakin banyak precursor isoflavon daidzein. Aktivitas enzim Phenylalanine amonia-lyase (PAL) yang terlibat dalam biosintesis senyawa polifenol senyawa

seperti isoflavon, phenylpropanoids, dan lignin dalam tanaman. Hal ini sejalan dengan pendapat Olesinska *et al.* (2021) yang menyatakan tanaman dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya dengan melakukan metabolisme

primer. Hasil metabolisme primer ini berupa karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Disamping adanya metabolisme primer, tanaman juga melakukan metabolisme sekunder yang mana metabolit primer sebagai prekursornya (Król *et al.*, 2020). Metabolisme sekunder dilakukan tanaman dalam mempertahankan hidupnya dari serangan biotik dan abiotik disekitar tumbuhnya. Hasil metabolisme sekunder berupa senyawa fenol, penilpropanoid, saponin, terpenoid, alkaloid, isoflavon, tanin, steroid dan flavonoid (Ogunsuyi *et al.*, 2020; Heimler *et al.*, 2017; Kougan *et al.*, 2013).

Hubungan positif antara dosis fosfor dan kadar daidzein menunjukkan bahwa tanaman merespons peningkatan ketersediaan fosfor dengan meningkatkan produksi senyawa pertahanan seperti isoflavon. Temuan ini sejalan dengan penelitian Su *et al.* (2021) yang melaporkan bahwa pemberian fosfor meningkatkan kandungan isoflavon pada kedelai.

Potensi senyawa daidzein yang terkandung pada legum *Alysicarpus vaginalis* dalam penelitian ini dapat bermanfaat terhadap kesehatan dan produktivitas ternak. Pernyataan ini dibuktikan dengan hasil penelitian Mohanty *et al.* (2014) yang mengungkapkan bahwa tanaman muda dengan kandungan fitoestrogen tinggi menunjukkan efek galaktopoetik, yang mampu merangsang produksi susu. Temuan ini didukung oleh studi Dewhurst *et al.* (2003) dan Vanhatalo *et al.* (2007), di mana pemberian silase semanggi merah pada sapi perah tidak hanya meningkatkan asupan bahan kering tetapi juga meningkatkan produksi susu dengan komposisi asam lemak yang lebih optimal, ditandai dengan peningkatan proporsi asam

lemak tak jenuh ganda. Lebih lanjut, Liu *et al.* (2013) melaporkan bahwa suplementasi daidzein pada sapi perah di fase akhir laktasi menghasilkan peningkatan produksi susu disertai peningkatan kandungan lemak dan protein. Selain itu, pemberian 300–400 mg daidzein pada sapi perah yang mengalami stres panas terbukti meningkatkan kadar imunoglobulin G, interferon- α , dan interleukin-2 dalam serum darah tanpa mengubah kadar protein total dan albumin, menunjukkan peningkatan respons imun dan adaptasi terhadap kondisi stres termal.

Studi pada domba oleh Moorby *et al.* (2004) menunjukkan bahwa pemberian semanggi merah dengan kadar formononetin tinggi menghasilkan pertambahan bobot badan yang lebih signifikan dibandingkan dengan pakan berbasis semanggi merah rendah formononetin atau rumput *Lolium perenne*, meskipun asupan bahan kering harian tetap sama. Temuan serupa dilaporkan oleh Speijers *et al.* (2005), memperkuat bukti bahwa fitoestrogen seperti formononetin dapat memengaruhi efisiensi pertumbuhan pada ruminansia.

Pada unggas, suplementasi daidzein dalam ransum ayam petelur terbukti meningkatkan perkembangan folikel pra-ovulasi (Liu *et al.*, 2008), meningkatkan berat telur dan performa produksi (Guo-zhen & Li, 2014) serta memperbaiki kualitas kulit telur melalui peningkatan ketebalan, kekuatan, dan kadar kalsium (Etxeberria *et al.*, 2013). Selain itu, daidzein juga berdampak positif terhadap keragaman mikrobiota ileum, menunjukkan perannya dalam modulasi kesehatan pencernaan (Guo-zhen & Li, 2014).

SIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis fosfor (0–40 kg P/ha) secara signifikan ($P < 0,05$) dapat meningkatkan kandungan daidzein pada legum *Alysicarpus vaginalis*, dari kandungan daidzen sebanyak 0,0922 g/100 g sampel (kontrol) menjadi 2,9978 g/100 g sampel pada dosis tertinggi (40 kg P/ha). Adanya korelasi positif yang kuat ($R^2 = 0,985$) antara dosis fosfor dan akumulasi daidzein. Dari hasil tersebut

membuktikan bahwa fosfor berperan krusial dalam aktivasi enzim jalur fenilpropanoid, seperti fenilalanin amonia-lyase (PAL) dan chalcone synthase (CHS) yang mendukung biosintesis daidzein. Sehingga temuan ini berpotensi menjadikan legum *Alysicarpus vaginalis* sebagai bahan pakan fungsional untuk meningkatkan kesehatan reproduksi dan produktivitas ternak.

SARAN

1. Uji coba pemberian *Alysicarpus vaginalis* yang diperkaya daidzein sebagai suplemen pakan pada ternak ruminansia dan unggas untuk mengukur dampaknya terhadap performa reproduksi dan produksi susu atau telur.
2. Pengembangan protokol pemupukan fosfor yang optimal untuk budidaya *Alysicarpus vaginalis* skala lapangan, dengan mempertimbangkan faktor lingkungan dan efisiensi biaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M.Z., Zhang, Y., Zeng, X., Li, P., Wang, X., Benedito, V.A., & Zhao, J. 2021. Isoflavone malonyl-CoA acyltransferase GmMaT2 is involved in nodulation of soybean by modifying synthesis and secretion of isoflavones. *J. Exp. Bot.* 72: 1349–1369. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa511>
- Anguraj Vadivel, A.K., McDowell, T., Renaud, J.B., & Dhaubhadel, S. 2021. A combinatorial action of GmMYB176 and GmbZIP5 controls isoflavonoid biosynthesis in soybean (*Glycine max*). *Commun. Biol.* 4: 356. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01889-6>
- Anguraj Vadivel, A.K., Renaud, J., Kagale, S., & Dhaubhadel, S. 2019. GmMYB176 regulates multiple steps in isoflavonoid biosynthesis in soybean. *Front. Plant Sci.* 10:562. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00562>
- Araya-Cloutier, C., den Besten, H.M., Aisyah, S., Gruppen, H., & Vincken, J.P. 2017. The position of prenylation of isoflavonoids and stilbenoids from legumes (*Fabaceae*) modulates the antimicrobial activity against Gram positive pathogens. *Food Chem.* 226: 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.026>
- Arya, P., & Mehta, J.P. 2017. Antioxidant Potential of Himalayan Medicinal Plants *Angelica glauca*, *Alysicarpus vaginalis* and *Peristrophe bicalyculata*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 6: 1892–1901. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.226>
- Banasiak, J., Biala, W., Staszko, A., Swarczewicz, B., Kepczynska, E., Figlerowicz, M., & Jasinski, M. 2013. A *Medicago truncatula* ABC transporter belonging to subfamily G modulates the level of isoflavonoids. *J. Exp. Bot.* 64: 1005–1015. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers380>
- Bassi, D., Menossi, M., & Mattiello, L. 2018. Nitrogen supply influences photosynthesis establishment along the sugarcane leaf. *Scientific Reports.* 8(1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20653-1>
- Biala-Leonhard, W., Zanin, L., Gottardi, S., de Brito Francisco, R., Venuti, S., Valentinuzzi, F., Mimmo T., Cesco, S., Bassin, B., Martinoia, E., Pinton, R., Jasiński, M., & Tomasi, N. 2021. Identification of an isoflavonoid transporter required for the nodule establishment of the *rhizobium-fabaceae* symbiotic interaction. *Front. Plant Sci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.758213>
- Bustamante-Rangel, M., Delgado-Zamarreño, M.M., Pérez-Martín, L., Rodríguez-Gonzalo, E., & Domínguez-Álvarez, J. 2018. Analysis of Isoflavones in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 17: 391–411. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12325>
- Chang, Y.N., Zhu, C., Jiang, J., Zhang, H., Zhu, J.K., & Duan, C.G. 2020. Epigenetic regulation in plant abiotic stress responses. *J. Integr. Plant. Biol.* 62: 563–580. <https://doi.org/10.1111/jipb.12901>
- Daning, D.R.A., & Foekh. 2018. Evaluasi produksi dan kualitas nutrisi pada bagian daun dan kulit kayu *Calliandra callotirsus* dan *Gliricidia sepium*. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan.* 16(1): 7–11.
- Dastmalchi, M., Chapman, P., Yu, J., Austin, R.S., & Dhaubhadel, S. 2017. Transcriptomic evidence for the control of soybean root isoflavonoid content by

- p regulation of overlapping
-
- phenylpropanoid pathways.
- BMC
Genomics*
- . 18: 70.
-
- <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3463-y>
- Deng, B., Li, Y., Xu, D., Ye, Q., & Liu, G. 2019. Nitrogen availability alters flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus* via the effects on the internal carbon/nitrogen balance. *Scientific Reports*. 9(1): 1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-38837-8>
- Dewhurst, R.J., Fisher, W.J., Tweed, J.K.S., & Wilkins, R.J. 2003. Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. *J. Dairy Sci.* 86: 2598–2611. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73855-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73855-7)
- Dixon, R.A., Harrison, M.J., & Paiva, N.L. 1995. The isoflavonoid phytoalexin pathway: from enzymes to genes to transcription factors. *Physiologia Plantarum*. 93: 385–392.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb02243.x>
- Dixon, R.A. 1999. Isoflavonoids: biochemistry, molecular biology and biological functions. *Compr. Natural Products Chem.* 1: 773–823.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091283-7.00030-8>
- Dong, N.Q., & Lin, H.X. 2021. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions. *J. Integr. Plant Biol.* 63: 180–209.
<https://doi.org/10.1111/jipb.13054>
- Etxeberria, U., Fernández-Quintela, A., Milagro, F.I., Aguirre, L., Martínez, J.A., & Portillo, M.P. 2013. Impact of Polyphenols and Polyphenol-Rich Dietary Sources on Gut Microbiota Composition. *J. Agric. Food Chem.* 61: 9517–9533.
<https://doi.org/10.1021/jf402506c>
- Farag, M.A., Huhman, D.V., Dixon, R.A., & Sumner, L.W. 2008. Metabolomics reveals novel pathways and differential mechanistic and elicitor-specific responses in phenylpropanoid and isoflavonoid biosynthesis in *Medicago truncatula* cell cultures. *Plant Physiol.* 146: 387–402.
<https://doi.org/10.1104/pp.107.108431>
- Foudah, A.I., & Abdel-Kader, M.S. 2017. Isoflavonoids. Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health. *InTech*.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.68701>
- García-Calderón, M., Pérez-Delgado, C.M., Palove-Balang, P., Betti, M., & Márquez, A.J. 2020. Flavonoids and Isoflavonoids Biosynthesis in the Model Legume *Lotus japonicus*; Connections to Nitrogen Metabolism and Photorespiration. *Plants*. 9(6): 774.
<https://doi.org/10.3390/plants9060774>
- Guo-zhen, J., & Li, W. 2014. Effect of Daidzein on Ileum Microflora Biodiversity in Hy-Line Variety Brown Layers. *J. Northeast Agric. Univ.* 21: 31–36.
[https://doi.org/10.1016/S1006-8104\(15\)30017-9](https://doi.org/10.1016/S1006-8104(15)30017-9)
- Heimler, D., Romani, A., & Ieri, F. 2017. Plant polyphenol content, soil fertilization and agricultural management: A review. *Eur. Food Res. Technol.* 243: 1107–1115.
<https://doi.org/10.1007/s00217-016-2826-6>
- Hu, B., Jiang, Z., Wang, W., Qiu, Y., Zhang, Z., Liu, Y., Li, A., Gao, X., Liu, L., & Qian, Y. 2019. Nitrate–NRT1. 1B–SPX4 cascade integrates nitrogen and phosphorus signalling networks in plants. *Nature Plants* 5(4): 401–413.
<https://doi.org/10.1038/s41477-019-0420-1>
- Jang, D., Jung, Y.S., Kim, M.S., Oh, S.E., Nam, T.G., & Kim, D.O. 2019. Developing and Validating a Method for Separating Flavonoid Isomers in Common Buckwheat Sprouts Using HPLC-PDA. *Foods*. 8(11): 549.
<https://doi.org/10.3390/foods8110549>
- Jelantik, I.G.N., Tiba, N.T., & Penu, C.L. 2019. Memanfaatkan Padang Pengembalaan Alam Untuk Meningkatkan Populasi dan Produktifitas Ternak Sapi di Daerah Lahan Kering. Ponorogo: Myria Publisher.
- Kaufman, P.B., Duke, J.A., Briellmann, H., Boik, J., & Hoyt, J.E. 1997. A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *J. Altern. Complement Med.* 3: 7–12.
<https://doi.org/10.1089/acm.1997.3.7>
- Kougan, G.B., Tabopda, T., Kuete, V., & Verpoorte, V. 2013. Simple phenols,

- phenolic acids, and related esters from the medicinal plants of africa. In *Medicinal Plant Research in Africa*. 225–249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00006-0>
- Król, B., Seczyk, Ł., Kołodziej, B., & Paszko, T. 2020. Biomass production, active substance content, and bioaccessibility of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart) following the application of nitrogen. *Ind. Crop. Prod.* 148: 112271. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112271>
- Liu, D.Y., He, S.J., Jin, E.H., Liu, S.Q., Tang, Y.G., Li, S.H., & Zhong, L.T. 2013. Effect of daidzein on production performance and serum antioxidative function in late lactation cows under heat stress. *Livest. Sci.* 152: 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.003>
- Liu, H.Y., & Zhang, C.Q. 2008. Effects of daidzein on messenger ribonucleic Acid expression of gonadotropin receptors in chicken ovarian follicles. *Poult. Sci.* 87: 541–545. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00274>
- Liu, Q., Liu, Y., Li, G., Savolainen, O., Chen, Y., & Nielsen, J. 2021. De novo biosynthesis of bioactive isoflavonoids by engineered yeast cell factories. *Nat. Commun.* 12(1): 6085. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26361-1>
- Mohanty, I., Senapati, M.R., Jena, D., & Behera, P.C. 2014. Ethnoveterinary importance of herbal galactogogues—A review. *Vet. World.* 7: 325–330. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.325-330>
- Moorby, J.M., Fraser, M.D., Theobald, V.J., Wood, J.D., & Haresign, W. 2004. The effect of red clover formononetin content on live-weight gain, carcass characteristics and muscle equol content of finishing lambs. *Anim. Sci.* 79: 303–313. <https://doi.org/10.1017/S1357729800090160>
- Muro-Villanueva, F., Mao, X., & Chapple, C. 2019. Linking phenylpropanoid metabolism, lignin deposition, and plant growth inhibition. *Curr. Opin. Biotechnol.* 56: 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.12.008>
- Ogunsuyi, O.B., Ademiluyi, A.O., & Obob, G. 2020. Solanum leaves extracts exhibit antioxidant properties and inhibit monoamine oxidase and acetylcholinesterase activities (in vitro) in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Basic and Clinical and Pharmacology.* 31: 1–13. <https://doi.org/10.1515/jbcp-2019-0256>
- Olesinska, K., Sugier, D., & Kaczmariski, Z. 2021. Yield and chemical composition of raw material from meadow Arnica (*Arnica chamissonis* Less.) depending on soil conditions and nitrogen fertilization. *Agriculture.* 11: 810. <https://doi.org/10.3390/agriculture11090810>
- Sari, Y.C., Nanda, S., Mardiah, F.P., & Yunita, R. 2022. Pengembangan leguminosa Indigofera sebagai pakan ternak di Nagari Batu Payung Kecamatan Lareh Sago Halaban Kabupaten Lima Puluh Kota. *Buletin Ilmiah Magari Membangun.* 5(2): 108-118.
- Sarkar, F.H., & Li, Y. 2003. Soy isoflavones and cancer prevention. *Cancer Invest.* 21(5): 744–57. <https://doi.org/10.1081/cnv-120023773>
- Speijers, M.H.M., Fraser, M.D., Theobald, V.J., & Haresign, W. 2005. Effects of ensiled forage legumes on performance of store finishing lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120: 203-216. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.027>
- Sriagtula, R., & Sowmen, S. 2018. Evaluasi pertumbuhan dan produktivitas sorgum mutan Brown Midrib (*Sorghum bicolor* L. Moench) fase pertumbuhan berbeda sebagai pakan hijauan pada musim kemarau di tanah ultisol. *Jurnal Peternakan Indonesia.* 20(2): 130-144.
- Steel, R.G.D., & Torrie, J.H. 1995. Pinsip Prosedur Statistika. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Su, L., Liu, S., Liu, X., Zhang, B., Li, M., Zeng, L., & Li, L. 2021. Transcriptome profiling reveals histone deacetylase 1 gene overexpression improves flavonoid, isoflavonoid, and phenylpropanoid metabolism in *Arachis hypogaea* hairy roots. *PeerJ.* 9: e10976. <https://doi.org/10.7717/peerj.10976>

- Suherman, D., & Herdiawan, I. 2015. Tanaman legum pohon *Desmodium rensonii* sebagai tanaman pakan ternak bermutu. *Pastura*. 4(2): 100-104.
- Sukumaran, A., McDowell, T., Chen, L., Renaud, J., & Dhaubhadel, S. 2018. Isoflavonoid-specific prenyltransferase gene family in soybean: GmPT01, a pterocarpan 2-dimethylallyltransferase involved in glyceollin biosynthesis. *Plant J.* 96: 966-981. <https://doi.org/10.1111/tpj.14083>
- Suliman, S., & Tran, L.S. 2014. Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: metabolism and regulatory mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 15(11): 19389–93. <https://doi.org/10.3390/ijms151119389>
- Suliman, S., & Tran, L.S. 2015. Phosphorus homeostasis in legume nodules as an adaptive strategy to phosphorus deficiency. *Plant Sci.* 239: 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.06.018>
- Suryaningsih, Y. 2022. Penerapan teknologi silase untuk mengatasi keterbatasan hijauan pakan ternak pada musim kemarau di Desa Arjasa Kecamatan Arjasa Kabupaten Situbondo. *Mimbar Integritas: Jurnal Pengabdian*. 1(2): 279–289.
- Sutaryono, Y.A.S., & Sari, N.H. 2023. Introduksi pemanfaatan legum lamtoro tarramba (*Leucaena leucocephala* cv. tarramba) sebagai pakan sumber protein pada kelompok peternak sapi sambik elen Kecamatan Bayan Kabupaten Lombok Utara. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*. 6(2): 296–301.
- Tiscione, D., Gallelli, L., Tamanini, I., Luciani, L.G., Verze, P., Palmieri, A., Mirone, V., Bartoletti, R., Malossini, G., & Cai, T. 2017. Daidzein plus isolase associated with zinc improves clinical symptoms and quality of life in patients with LUTS due to benign prostatic hyperplasia: results from a phase I-II study. *Arch. Ital. Urol. Androl.* 89(1): 12–16. <https://doi.org/10.4081/aiua.2017.1.12>
- Vance, C.P., Uhde-Stone, C., & Allan, D.L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157(3): 423–447. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>
- Vanhatalo, A., Kuoppala, K., Toivonen, V., & Shingfield, K.J. 2007. Effects of forage species and stage of maturity on bovine milk fatty acid composition. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109: 856–867. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700023>
- Veitch, N.C. 2013. Isoflavonoids of the leguminosae. *Nat. Prod. Rep.* 30(7): 988–1027. <https://doi.org/10.1039/c3np70024k>
- Vitale, D.C., Piazza, C., Melilli, B., Drago, F., & Salomone, S. 2013. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* 38(1): 15–25. <https://doi.org/10.1007/s13318-012-0112-y>
- Wang, X., Li, C., Zhou, C., Li, J., & Zhang, Y. 2017. Molecular characterization of the C-glucosylation for puerarin biosynthesis in *Pueraria lobata*. *Plant J.* 90: 535–546. <https://doi.org/10.1111/tpj.13510>
- Wang, X., Zhang, J., Lu, X., Bai, Y., & Wang, G. 2023. Two diversities meet in the rhizosphere: root specialized metabolites and microbiome. *J. Genet. Genomics.* <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.10.004>
- Watanabe, S., Yamada, R., Kanetake, H., Kaga, A., & Anai, T. 2019. Identification and characterization of a major QTL underlying soybean isoflavone malonylglycitin content. *Breed Sci.* 69(4): 564–572. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.19027>
- Yadav, V., Wang, Z., Wei, C., Amo, A., Ahmed, B., Yang, X., & Zhang, X. 2020. Phenylpropanoid pathway engineering: an emerging approach towards plant defense. *Pathogens.* 9: 312. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040312>
- Zhang, J., Wang, X., & Xu, T. 2009. Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with se-methylselenocysteine in mice. *Toxicol Sci.* 101(1): 22-31. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm221>