

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)  
SELAMA TIGA BULAN TERHADAP PENINGKATAN KADAR FSH  
(*Follicle Stimulating Hormone*) TIKUS (*Rattus novergicus*) STRAIN  
WISTAR JANTAN**

**TUGAS AKHIR**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:

**Hanim Isyfi Fahmi**

**NIM. 0910711007**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)  
SELAMA TIGA BULAN TERHADAP PENINGKATAN KADAR FSH  
(*Follicle Stimulating Hormone*) TIKUS (*Rattus novergicus*) STRAIN  
WISTAR JANTAN**

Oleh:

Hanim Isyfi Fahmi

NIM. 0910711007

Telah diuji pada

Hari: Selasa

Tanggal: 19 Februari 2013

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. I Wayan Agung Indrawan, SpOG(K)

NIP.19710323 200604 1 009

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Husnul Khotimah, S.si, Mkes  
NIP. 19751125 200501 2 001

dr. Habiba Aurora, M.Biomed  
NIP. 19840628 200812 2 003

Mengetahui :  
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.ParK  
NIP. 19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr.Wb

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul " Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) selama Tiga Bulan terhadap Peningkatan Kadar FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) Tikus (*rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan".

Ucapan terimakasih tak lupa penulis sampaikan kepada pihak yang membantu proses pembuatan tugas akhir ini hingga selesai, antara lain:

1. Dr.dr. Karyono Mintaroem, SpPA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.ParK selaku Ketua Jurusan Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Dr.dr.Nurdiana,M.Kes. selaku pemilik proyek penelitian ini yang telah memberikan kesempatan penulis untuk ikut serta dalam penelitian besar beliau serta membimbing penulis dengan sabar dalam proses penelitian.
4. Ibu Husnul Khotimah, S. Si Mkes sebagai pembimbing pertama yang telah sabar membimbing penulis dari penyusunan proposal hingga penyelesaian Tugas Akhir ini dengan baik dan senantiasa memberikan semangat serta masukan yang bermanfaat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.



5. Dr.Habiba Aurora, M.Biomed sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar membimbing penulis dan memberikan semangat serta masukan yang bermanfaat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Dr. I Wayan Agung Indrawan, SpOG(K) sebagai penguji yang telah bersedia memberikan kritik dan saran tentang Tugas Akhir ini.
7. Orang tua penulis Ya'kub dan Isnainiyah, yang selalu memberikan semangat, doa, kasih sayang, serta mengingatkan penulis untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini.
8. Teman-teman kelompok penelitian Ekstrak Kedelai, Aik, Arif dan Wulan atas kerjasamanya dalam penyelesaian penelitian ini.
9. Teman-Teman penulis yaitu Annisa dan Ratna yang selalu mengingatkan dan membantu dalam pengerjaan tugas akhir ini.
10. Karyawan di Laboratorium Farmakologi yaitu mas Memet, Bu Fer, Bu Aminah, serta Analis Biokim MIPA yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
11. Seluruh anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB atas bantuan dan kerjasamanya.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari penulisan ini masih jauh dari sempurna. Penulis membuka diri untuk menerima kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan Tugas Akhir ini. Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat dalam bidang ilmiah maupun klinis.

Malang, 13 Februari 2013

Penulis

## ABSTRAK

Fahmi, Hanim Isyfi. 2013. **Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) selama Tiga Bulan terhadap Peningkatan Kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) Tikus (*Rattus novvergicus*) Strain Wistar Jantan.** Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Husnul Khotimah, S.Si, Mkes. (2) dr. Habiba Aurora, M.Biomed.

Konsumsi kedelai meningkat beberapa tahun terakhir. Kedelai mengandung fitoestrogen genistein yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen  $\alpha$  dan  $\beta$ . Ikatan genistein dengan reseptor estrogen dapat mempengaruhi fertilitas pada tikus jantan. Salah satu parameter terjadinya infertilitas pada tikus jantan adalah peningkatan kadar FSH (*Follicle Stimulating Hormone*). FSH berperan dalam proses spermatogenesis dengan cara menstimulasi sel sertoli pada tubulus seminiferus. Penelitian ini bertujuan membuktikan efek pemberian ekstrak kedelai terhadap kadar FSH. Studi eksperimental secara *in vivo* menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design* dilakukan terhadap hewan coba tikus strain wistar jantan. Tikus wistar strain jantan berusia 30 hari diberikan ekstrak kedelai selama tiga bulan dengan dosis 0,34  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  GEK (Genistein dalam Ekstrak Kedelai), 0,69  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  dan 1,38  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  GEK. Kadar FSH diukur dengan menggunakan metode ELISA dan dilakukan analisa data dengan uji *One Way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan kadar FSH yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $P < 0,005$ ). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak kedelai selama tiga bulan dapat meningkatkan kadar FSH tikus wistar jantan.

Kata Kunci: Kedelai, Genistein, FSH, Infertilitas

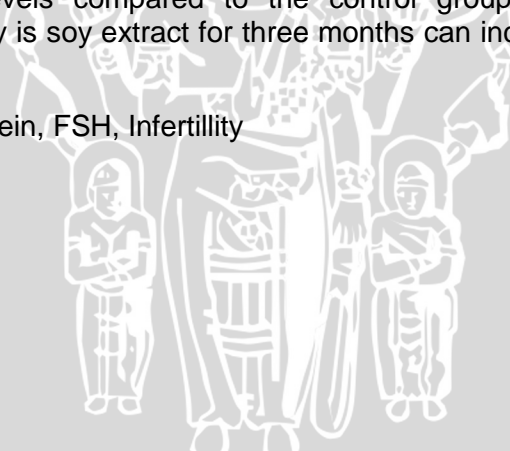


## ABSTRACT

Fahmi, Hanim Isyfi. 2013. **The Effect of Soy Extract (*Glycine max* (L.) Merrill) for Three months to Increasing FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) Levels in Male Rat (*Rattus novergicus*) Wistar Strain**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Husnul Khotimah, S.Si, Mkes. (2) dr. Habiba Aurora, M.Biomed.

Soybean consumption increased in recent years. Soy contains phytoestrogens genistein can bind to estrogen receptors. Binding of genistein to estrogen receptors can affect fertility on male rats. One of the parameters of infertility on male rats is increase of FSH (Follicle Stimulating Hormone) levels. FSH plays a role in the process of spermatogenesis by stimulating Sertoli cells in the seminiferous tubules. The Objective of this study was to prove the effect of administration soybean extract to FSH level. This study was conducted on Wistar rats which Randomized Controlled Group Post Test Only Design. Wistar male rats aged 30 days were given soybean extract for three months with doses soy extract 0,34 µg/grBB GEK (Genistein in Soy Extract), 0,69 µg/grBB and 1,38 µg/grBB GEK. FSH levels were measured using ELISA method and analyzed by One Way ANOVA test. The results showed that all treatment groups significantly increased on FSH levels compared to the control group (P <0.005). The conclusion of this study is soy extract for three months can increase the levels of FSH in male rats.

Keywords: Soy, Genistein, FSH, Infertility



## DAFTAR ISI

Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Gambar.....	ix
Daftar Tabel.....	x
Daftar Lampiran.....	xi
Daftar Singkatan.....	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat penelitian.....	3
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kedelai.....	4
2.1.1 Taksonomi Kedelai.....	4
2.1.2 Morfologi Tanaman Kedelai.....	5
2.1.3 Kedelai Kuning Varietas Argomulyo.....	6
2.1.4 Kandungan Nutrisi Kedelai.....	7
2.1.5 Manfaat Kedelai untuk Kesehatan.....	8
2.2 Fitoestrogen.....	9
2.2.1 Sumber dan Klasifikasi Fitoestrogen.....	10
2.2.2 Metabolisme dan Ekskresi Fitoestrogen.....	11
2.2.3 Struktur Kimia Fitoestrogen.....	11
2.2.4. Genistein.....	12
2.2.4.1 Bioaktivitas Genistein.....	13
2.2.4.2 Target Reseptor Genistein.....	13
2.2.4.3 Genistein sebagai <i>Endocrine Disruptor</i> .....	14
2.2.4.4 Manfaat Genistein pada Kesehatan.....	15
2.2.4.5 Pengaruh Genistein terhadap Fertilitas Jantan.....	15
2.2.5 Daidzein.....	16
2.3 Sistem Reproduksi Jantan	
2.3.1 Spermatogenesis.....	17
2.3.2 Hormon-Hormon Reproduksi Jantan.....	18
2.3.2.1 Estrogen.....	18
2.3.2.2 Testosteron.....	20
2.3.2.3 FSH.....	20
2.3.2.4 LH.....	21
2.4 Tikus ( <i>Rattus novergicus</i> ) Jantan.....	21
2.5 Infertilitas.....	23
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep.....	26
3.2 Hipotesis Penelitian.....	27



## BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian.....	28
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	28
4.2.1 Populasi.....	28
4.2.2 Sampel.....	28
4.3 Variabel Penelitian.....	30
4.3.1 Variabel Bebas.....	30
4.3.2 Variabel Tergantung.....	30
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	30
4.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	30
4.5.1 Bahan dan Alat untuk Pemeliharaan Tikus Wistar.....	30
4.5.2 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstrak Kedelai.....	31
4.5.3 Bahan dan Alat untuk Pembedahan Tikus.....	31
4.5.4 Bahan dan Alat untuk Pemisahan Serum pada Sampel Darah Jantung Hewan Coba.....	31
4.5.5 Bahan dan Alat untuk Mengukur Kadar <i>Follicle Stimulating     Hormone</i> (FSH) dengan Metode ELISA.....	31
4.5.6 Alat untuk Pemberian Ekstrak Kedelai.....	32
4.6 Definisi Operasional.....	32
4.7 Prosedur Penelitian.....	33
4.7.1 Persiapan hewan Coba.....	33
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Kedelai.....	33
4.7.3 Penentuan Dosis Genistein dalam Ekstrak Kedelai.....	35
4.7.4 Pemberian Ekstrak Kedelai.....	36
4.7.5 Pembedahan Hewan Coba.....	36
4.7.6 Pemisahan Serum pada Sampel Darah Jantung Hewan Coba.....	36
4.7.7 Pengukuran Kadar <i>Follicle Stimulating Hormone</i> (FSH) Serum dengan Metode Elisa.....	37
4.8 Pengolahan Data.....	38
4.9 Skema Rancangan Penelitian.....	38

## BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil penelitian.....	39
5.2 Analisa Data.....	40
5.2.1 Uji Homogenitas.....	40
5.2.2 Uji Normalitas.....	41
5.2.3 Uji <i>One Way ANOVA</i> .....	41
5.2.4 Uji <i>Tukey</i> .....	42
5.2.5 Koefisien Determinasi dan Koefisien Korelasi.....	42

## BAB 6 PEMBAHASAN

43

## BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan.....	46
7.2 Saran.....	46

Daftar Pustaka.....	47
---------------------	----

Lampiran.....	54
---------------	----



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Morfologi Kedelai.....	5
Gambar 2.2	Sumber dan Klasifikasi Fitoestrogen.....	10
Gambar 2.3	Perbandingan Struktur Fitoestrogen dan Estradiol.....	12
Gambar 2.4	Target Molekular Genistein.....	14
Gambar 2.5	Proses Spermatogenesis dan Hormon yang Berperan.....	18
Gambar 3.1	Skema Kerangka Konsep.....	26
Gambar 4.1	Skema Rancangan Penelitian.....	38
Gambar 5.1	Grafik Hasil Pengamatan Efek Ekstrak Kedelai terhadap Kadar FSH Tikus Jantan.....	40



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 2.1	Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo.....	6
Tabel 2.2	Kandungan Zat Gizi Kedelai per 100 gram.....	7
Tabel 2.3	Kandungan Isoflavon dalam Produk Kedelai.....	7
Tabel 2.4	Isoflavon Total, Daidzein dan Genistein Aglikon Produk Kedelai.....	8
Tabel 2.5	Kandungan Isoflavon Total, Daidzein dan Genistein Aglikon Susu soya.....	8
Tabel 2.6	Karakteristik Fisiologi Tikus ( <i>Rattus novergicus</i> ) Strain Wistar Jantan.....	23
Tabel 5.1	Hasil Pengamatan Efek Ekstrak Kedelai terhadap Kadar FSH Tikus jantan.....	39



DAFTAR LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan *One-Way Anova*..... 54

**Lampiran 2.** Hasil Uji Tukey HSD.....55

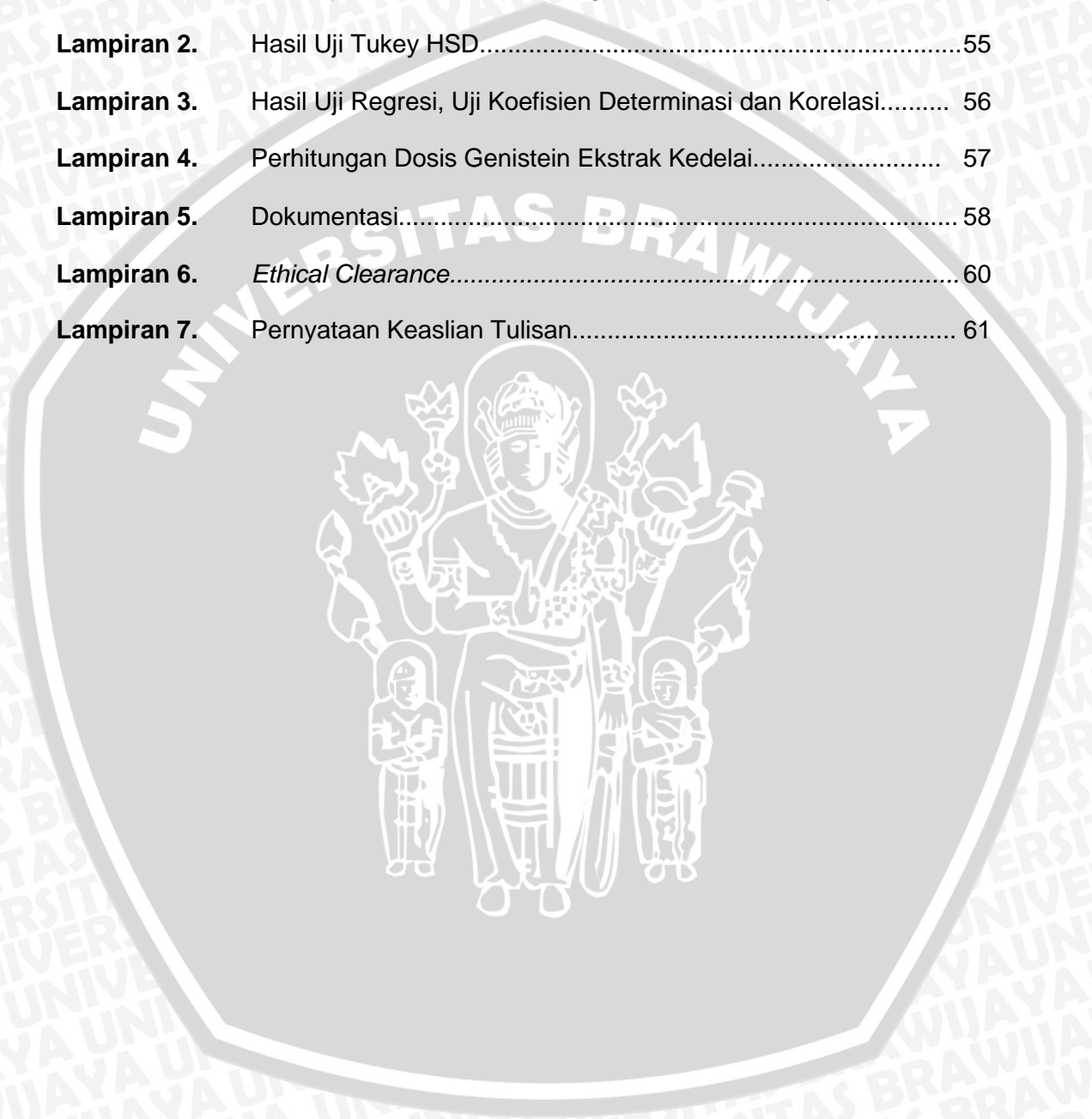
**Lampiran 3.** Hasil Uji Regresi, Uji Koefisien Determinasi dan Korelasi..... 56

**Lampiran 4.** Perhitungan Dosis Genistein Ekstrak Kedelai..... 57

**Lampiran 5.** Dokumentasi..... 58

**Lampiran 6.** *Ethical Clearance*..... 60

**Lampiran 7.** Pernyataan Keaslian Tulisan..... 61





## DAFTAR SINGKATAN

ER $\alpha$	= <i>Estrogen Receptor alpha</i>
ER $\beta$	= <i>Estrogen Receptor betha</i>
AR	= <i>Androgen Receptor</i>
ASI	= Air Susu ibu
GnRH	= <i>Gonadotropin –Releasing Hormone</i>
LH	= <i>Luteinizing Hormone</i>
FSH	= <i>Follicle-Stimulating Hormone</i>
ABP	= <i>Androgen-Binding Protein</i>
GEK	= Genistein ekstrak kedelai
BLITKABI	= Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-umbian
UHPLC	= <i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i>
WBTi	= <i>World Breastfeeding Trends Initiative</i>
PR	= Progesteron Reseptor
EPA	= <i>Environmental Protection Agency</i>
O-DMA	= O-desmethylangolensin
SERM	= <i>Selective Estrogen Receptor Modulator</i>
SHBG	= <i>Sex Hormone Binding Globulin</i>
ASRM	= <i>the American Society for Reproductive Medicine</i>
BKKBN	= Badan Kependudukan dan Keluarga Bencana Nasional
PUSLITTAN	= Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan

## BAB 1

## PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang Masalah

Promosi khasiat susu kedelai semakin marak dalam kurun waktu beberapa tahun ini. Promosi khasiat susu kedelai sebagai pengganti susu sapi, lebih murah dan tanpa efek samping sering dipublikasikan pada beberapa media informasi di Indonesia. Hal ini membuat masyarakat menengah bawah lebih banyak mengkonsumsi susu kedelai daripada susu sapi dikarenakan harga susu sapi yang semakin hari semakin tinggi. Susu kedelai juga sering diberikan pada bayi lepas usia menyusu yang alergi terhadap laktosa.

Menurut data Ginting (2009), proyeksi konsumsi susu kedelai dalam kurun waktu 2003-2025 akan terus mengalami peningkatan. Hal ini menunjukkan, semakin banyak orang yang mengkonsumsi susu kedelai baik secara teratur maupun tidak teratur. Salah satu faktor peningkatan konsumsi susu kedelai adalah masyarakat yang menganggap konsumsi bahan alam seperti susu kedelai tidak akan menimbulkan efek samping padahal bahan alam apabila dikonsumsi secara berlebihan juga akan menimbulkan efek samping.

Kedelai (*Glycine max*) diketahui mengandung fitoestrogen. Menurut Kandarakis, *et al.* (2009), fitoestrogen bersifat sebagai *endocrine disruptors*. *Endocrine disruptor* ini dapat mengganggu fungsi hormon estrogen dengan cara berikatan dengan reseptor estrogen sehingga menghambat ikatan estrogen dengan reseptornya. Pengikatan fitoestrogen dengan reseptor estrogen

menyebabkan beberapa kelainan pada reproduksi pria dan wanita. Salah satunya menyebabkan infertilitas pada pria.

Penelitian tentang bahaya konsumsi susu kedelai belum banyak dilakukan di Indonesia. Informasi tentang kedelai juga belum banyak diketahui masyarakat. Salah satunya yaitu bahaya konsumsi kedelai dalam jangka waktu lama yang dapat menyebabkan infertilitas pada pria (Chavarro, *et al.*, 2008). Menurut Suryandari, *dkk.* (2006), 50% penyebab infertilitas di Indonesia dikarenakan masalah pada pria dan setengah dari kasus infertilitas pria tersebut disebabkan oleh abnormalitas produksi sperma baik kualitatif maupun kuantitatif. Salah satu parameter yang dapat mengukur tingkat infertilitas reproduksi pria adalah *Follicle Stimulating Hormone* (FSH).

FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) banyak digunakan untuk investigasi regulasi fungsi testis karena ikut mengatur proses spermatogenesis. FSH berikatan dengan reseptor-reseptor spesifik yang melekat pada sel-sel sertoli di dalam tubulus seminiferus. Pengikatan ini mengakibatkan sel-sel tumbuh dan mensekresikan berbagai unsur spermatogenik (Guyton and Hall, 2007).

Penelitian yang dilakukan Atanassova, *et al.* (2000) menunjukkan bahwa pemberian genistein sebanyak 4 mg/kg/hari selama 16 hari pada tikus jantan usia 2 hari dapat menurunkan kadar FSH secara signifikan. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Glover and Assinder (2006) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kedelai sebanyak 225 µg/g selama 22 hari pada tikus jantan dapat menurunkan kadar FSH.

Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian untuk mengetahui efek pemberian ekstrak kedelai dalam jangka waktu lebih lama terhadap kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada tikus (*Rattus novvergicus*) strain wistar jantan.



## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak kedelai selama tiga bulan dapat menurunkan kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pemberian ekstrak kedelai selama tiga bulan dapat menurunkan kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah ilmu pengetahuan tentang ekstrak kedelai, bahan kandungan, efek samping konsumsi kedelai dalam jangka waktu lama dan dosis aman konsumsi kedelai

### 1.4.2 Manfaat Praktis

1. Mengetahui ekstrak kedelai dapat menyebabkan penurunan kadar FSH pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan
2. Sebagai bahan rujukan pengembangan penelitian produksi kedelai di masa mendatang

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Kedelai

Kedelai merupakan komoditas pangan penghasil protein nabati yang sangat penting karena gizinya, aman dikonsumsi, dan harganya yang relatif murah dibandingkan dengan sumber protein hewani. Di Indonesia, kedelai pada umumnya dikonsumsi dalam bentuk pangan olahan seperti tahu, tempe, susu kedelai dan berbagai bentuk makanan ringan (Darmadjati, *et al.*, 2005).

Kedelai (*Glycine max* L. Merr) merupakan salah satu hasil pertanian yang sangat penting artinya sebagai bahan makanan, karena jumlah dan mutu protein yang dikandungnya sangat tinggi yaitu sekitar 40 % dan susunan asam amino esensialnya lengkap serta sesuai sehingga protein kedelai mempunyai mutu yang mendekati mutu protein hewani (Suhaidi, 2003).

## 2.1.1 Taksonomi Kedelai

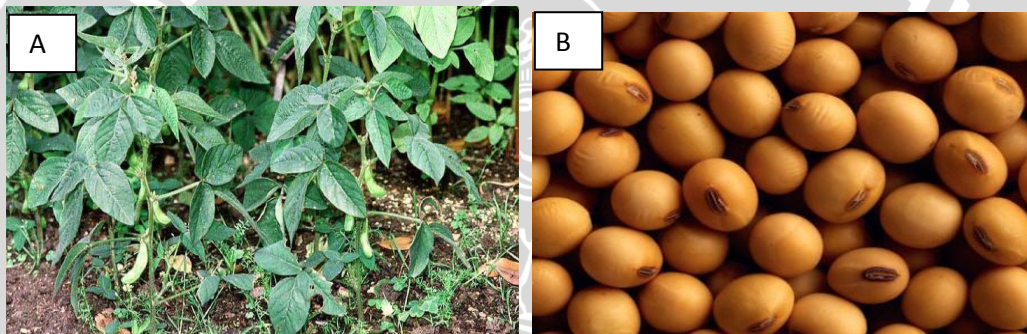
Kingdom	: Plantae
Subingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermathopyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopisida
Subclass	: Rosidae
Orde	: Fabales
Familly	: Fabaceae
Genus	: <i>Glycine wild</i>
Species	: <i>Glycine max</i> (L.) Merrill.

(USDA, 2011)



### 2.1.2 Morfologi Tanaman Kedelai

Kedelai merupakan tanaman semusim berupa semak rendah dan tumbuh tegak (Gambar 2.1B). Tinggi tanaman kedelai berkisar antara 30 – 100 cm. Batang kedelai beruas-ruas dengan 3-6 cabang (Sutrisno, 2012). Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Sedangkan Pertumbuhan batang kedelai dibedakan menjadi dua tipe yaitu *determinat* dan *indeterminat* (Irwan, 2006)



Gambar 2.1 Morfologi Kedelai. (A) Tanaman Kedelai. Tanaman kedelai memiliki batang yang beruas-ruas dan sistem perakaran tunggang. (B) Biji Kedelai. kulit biji kedelai kuning, mengandung hilum dan berbentuk bulat lonjong (Irwan, 2006).

Biji kedelai berkeping dua dan terbungkus kulit biji. Warna kulit biji kuning, hijau atau coklat. Puser biji (hilum) adalah jaringan bekas biji melekat pada dinding buah, bewarna coklat tua, kuning, putih atau hitam (Gambar 2.1B). Bentuk biji kedelai pada umumnya bulat lonjong, tetapi ada yang bundar atau bulat agak pipih (Sumarno, 1986 *dalam* Sutrisno, 2012). Biji kedelai mempunyai ukuran yang bervariasi, mulai dari yang berukuran kecil (7-9 g/100 biji), sedang (10-13 g/100 biji), dan berukuran besar (>13 g/100 biji) (Irwan, 2006).



### 2.1.3 Kedelai Kuning Varietas Argomulyo

Kedelai kuning varietas argomulyo memiliki ciri-ciri yang dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo (PUSLITTAN, 2010)

Ciri-Ciri Kedelai	Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo
Warna Hipokotil	Ungu
Warna Bulu	Coklat
Warna Bunga	Ungu
Warna Kulit Biji	Kuning
Warna Hilum	Putih Terang
Tipe Tumbuh	Determinit
Umur Berbunga	35 hari
Umur saat Panen	80-82 hari
Tinggi Tanaman	40 cm
Percabangan	3-4 cabang dari batang utama
Bobot 100 biji	16,0 g
Kandungan Protein	39,4%
Kandungan Minyak	20,8%
Kerebahan	Tahan Rebah
Ketahanan terhadap Penyakit	Toleran Karat Daun
Keterangan	Sesuai untuk Bahan Baku Susu Kedelai

### 2.1.4 Kandungan Nutrisi Kedelai

Kedelai memiliki banyak kandungan zat gizi. Selain itu, kedelai juga mengandung zat isoflavon seperti genistein, daidzein dan glycitein. Kandungan zat gizi dan isoflavon pada kedelai dapat dilihat pada tabel 2.1 – 2.4.

Tabel 2.2 Kandungan Zat Gizi Kedelai per 100 gram (Depkes, 2005)

Zat Gizi Kedelai	Jumlah
Energi	381 kalori
Protein	40.40 g
Lemak	16.70 g
Karbohidrat	24.90 g
Kalsium	222.0 mg
Fosfor	682 mg
Besi	10.00 mg
Vitamin A	0 mg
Vitamin B1	0.52 mg
Kandungan Air	12.70 %

Tabel 2.3 Kandungan Isoflavone dalam Produk Kedelai (Cassidy, *et al.*, 2006)

Makanan	Konsentrasi Isoflavon <i>µg aglycon ekuivalen/g</i>			
	Total	Daidzein	Genistein	Glycitein
Susu Kedelai	63.9	19.6	22.3	22.0
TVP ( <i>Textured Vegetable Protein</i> )	476.0	163.1	312.9	0
Tempe	234.4	72.4	140.3	21.7

Tabel 2.4 Isoflavon Total, Deidzein dan Genistein Aglycon produk kedelai (Barlow, *et al.*, 2007)

Jenis Makanan	Penyajian	Isoflavon	Daidzein	Genistein
Ekstrak protein kedelai	3.5 oz	102 mg	43 mg	56 mg
Miso	0.5 cup	59 mg	22 mg	34 mg
Kacang kedelai rebus	0.5 cup	47 mg	23 mg	24 mg
Tempeh	3 ounces	37 mg	15 mg	21 mg
Kacang kedelai	1 ounce	37 mg	15 mg	19 mg
Susu kedelai	1 cup	30 mg	12 mg	17 mg
Yoghurt tofu	0.5 cup	21 mg	7 mg	12 mg
Tofu	3 ounces	20 mg	8 mg	12 mg
Kacang kedelai hijau	0.5 cup	12 mg	6 mg	6 mg
Hot dog kedelai	1 hot dog	11 mg	3 mg	6 mg
Sosis kedelai	3 buah	3 mg	0,6 mg	2 mg
Keju kedelai	1 oz	2 mg	0.3 mg	1 mg

Tabel 2.5 Kandungan Isoflavon Total, Daidzein dan Genistein Aglycon susu soya (Barlow, *et al.*, 2007)

Susu soya formula	Penyajian	Isoflavone	Daidzein	Genistein
Mead Johnson Prosoabee	8 fl oz	9.4 mg	4.1 mg	5.3 mg
Ross Isomill	8 fl oz	10.2 mg	4.7 mg	5.5 mg
Wyeth-Ayerst Nursoy	8 fl oz	6.4 mg	1.8 mg	3.9 mg

### 2.1.5 Manfaat Kedelai untuk Kesehatan

Kedelai memiliki beberapa manfaat untuk masalah kesehatan seperti kesehatan jantung karena konsumsi kedelai dapat menurunkan konsentrasi serum total kolesterol, serum LDL dan trigliserida (Arliss and Biermann, 2002 dalam Montgomery, 2003). Kedelai juga bermanfaat untuk obesitas dan pasien



diabetes karena konsumsi kedelai dapat menurunkan hiperglikemia, berat badan, hiperinsulinemia, dan hiperlipidemia (Bhathena and Velasquez, 2002). Arliss and Biermann (2002) menyebutkan konsumsi kedelai dapat mencegah insiden kanker karena genistein mencegah perkembangan kanker dengan cara mencegah pembentukan pembuluh darah pada tumor.

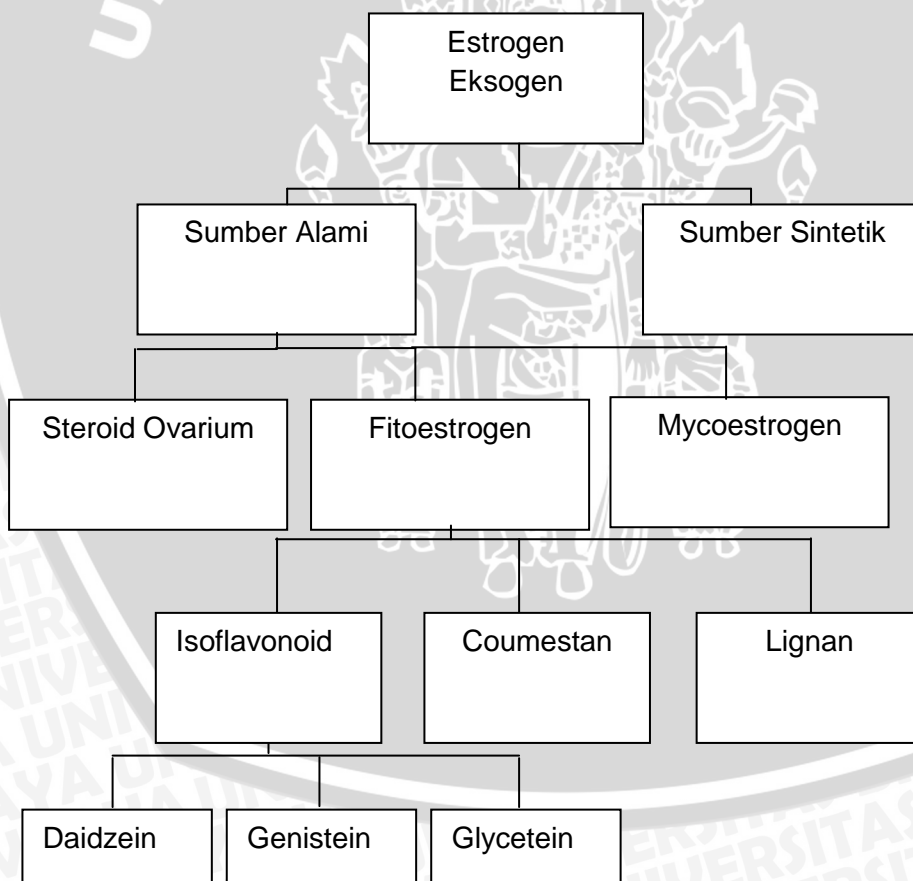
## 2.2 Fitoestrogen

Fitoestrogen adalah substansi tanaman yang memiliki efek estrogenik. Struktur dan fungsi fitoestrogen sebanding dengan 17-beta estradiol. Fitoestrogen memiliki tiga kelas utama yaitu isoflavon, coumestan dan lignan (Murkies, *et al.*, 1998; Rishi, 2002; Carmichael, *et al.*, 2011). Fitoestrogen memiliki efek interaksi agonis, agonis parsial atau antagonis dengan reseptor estrogen (Whitten and Patisaul, 2001).

Fitoestrogen memiliki ikatan yang lemah dengan reseptor estrogen, terutama pada reseptor estrogen  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) afinitas ikatannya 100-1000 kali lebih lemah dibandingkan dengan estradiol. Ikatan fitoestrogen pada ER $\beta$  lebih kuat dibandingkan dengan ER $\alpha$  (Whitten and Patisaul, 2001; Chavarro, *et al.*, 2008). Fitoestrogen juga bisa mengubah ekspresi reseptor hormon selain estrogen, seperti progesteron, oxytocin, dan testosteron (Ososki and Kennelly, 2003). Target utama fitoestrogen pada jaringan tubuh yang pertama adalah sistem reproduksi karena pada organ tersebut jumlah estrogen reseptor cukup tinggi (Whitten and Patisaul, 2001).

### 2.2.1 Sumber dan Klasifikasi Fitoestrogen

Tiga macam kelas utama fitoestrogen adalah isoflavon, coumestan dan lignan (Gambar 2.2). Satu tanaman seringkali memiliki lebih dari satu kelas fitoestrogen. Sebagai contoh kacang kedelai memiliki banyak kandungan isoflavon dan rendah coumestan. Isoflavon banyak terdapat pada kacang kedelai, tofu, tempeh, susu kedelai (Barlow, *et al.*, 2007). Lignan banyak ditemukan pada sereal, buah dan sayuran (Murkies, *et al.*, 1998). Lignan diduga mampu menekan risiko penyakit jantung koroner dan telah terbukti bisa menekan pertumbuhan sel kanker pada hewan percobaan.



Gambar 2.2 Sumber dan Klasifikasi Fitoestrogen. Konsumsi estrogen eksogen dapat berasal dari alami atau sintetik. Sumber estrogen natural dapat dibagi tiga yaitu steroid ovari, fitoestrogen dan mycoestrogen. Fitoestrogen dapat dibagi 3 yaitu isoflavon, coumestan, lignans. Isoflavonoid dapat dibedakan menjadi tiga yaitu daidzein, genistein dan glycetein (Murkies, *et al.*, 1998; Rishi, 2002)

Coumestan banyak ditemukan pada kacang toge, biji bunga matahari dan sedikit pada kedelai (Murkies, *et al.*, 1998). Coumestan banyak digunakan sebagai terapi herbal di beberapa negara. Masyarakat Amerika Utara menggunakan Coumestan sebagai antivenom, sedangkan masyarakat Cina menggunakannya untuk terapi shock septik (Singh, *et al.*, 2001 dalam Kaushik-Basu, *et al.*, 2008).

### 2.2.2 Metabolisme dan Ekskresi Fitoestrogen

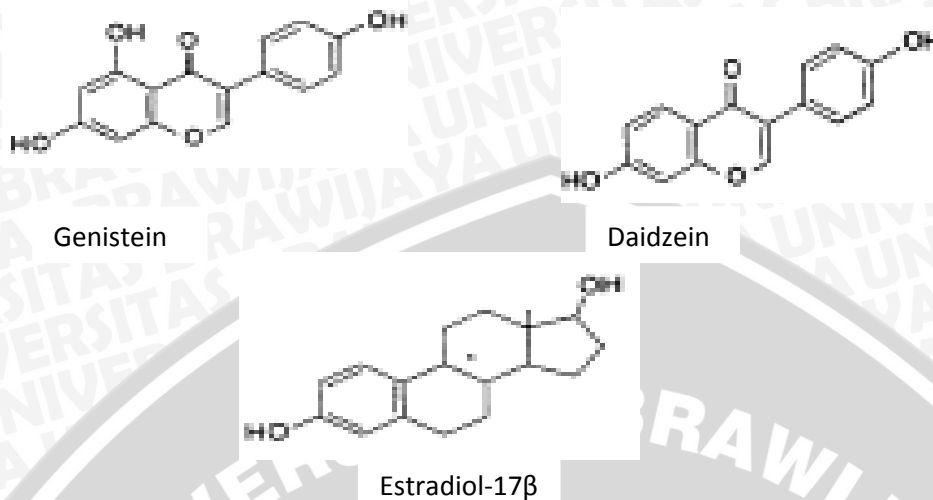
Konsumsi lignan dan isoflavon tanaman pada manusia akan dikonversi oleh enzim metabolik kompleks di traktus gastrointestinal menghasilkan formasi heterocyclic phenol dengan struktur yang sama dengan estrogen (Setchel, *et al.*, 1984 dalam Murkies, *et al.*, 1998). Metabolit fitoestrogen diabsorpsi melalui sirkulasi enterohepatik dan diekskresi melalui empedu, dikonjugasi oleh flora intestinal, direabsorpsi, direkonjugasi oleh hepar dan diekskresi di urin (Adlecreutz, *et al.*, 1986 dalam Murkies, *et al.*, 1998).

Lignan dan isoflavon dapat diukur di urin, plasma, feses, semen, empedu, saliva, dan ASI. Konsentrasi metabolit fitoestrogen sangat bervariasi di antara individu. Hal ini diatur oleh flora gastrointestinal, penggunaan antibiotik, penyakit GIT dan jenis kelamin (Kelly, *et al.*, 1995).

### 2.2.3 Struktur Kimia Fitoestrogen

Fitoestrogen memiliki struktur kimia yang mirip dengan struktur kimia estrogen. Kemiripan ini menyebabkan fitoestrogen dapat berikatan dengan kedua reseptor estrogen (Staar, *et al.*, 2005).





Gambar 2.3 Perbandingan Struktur Fitoestrogen dengan Estradiol. Genistein dengan rumus molekul  $C_{15}H_{10}O_5$  dan nama sistematis 5,7-Dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one. Daidzein dengan rumus molekul  $C_{15}H_{10}O_4$  dan nama sistematis 7-Hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one. Estradiol-17β dengan rumus molekul  $C_{18}H_{24}O_2$  dan nama sistematis (17β)-Estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol (Murkies, *et al.*, 1998)

#### 2.2.4 Genistein

Genistein adalah fitoestrogen yang merupakan derivat prekursor tanaman sebagai hasil metabolisme manusia (Barlow, *et al.*, 2007). Genistein terdapat pada kedelai dalam bentuk aglycone (unconjugated) atau dalam bentuk beta-glycosida (conjugated). Malonyl dan acetyl-glycosida juga ada tetapi karena tidak stabil terhadap panas, maka diubah menjadi beta-glycosida yang lebih stabil (Barnes, *et al.*, 1994; Setchell, 1998). Sumber diet utama genistein adalah glucosida genistein. Fermentasi atau digesti produk kedelai menyebabkan terlepasnya molekul gula dari glikosida isoflavon yaitu genistin menghasilkan isoflavon aglikon yaitu genistein (Rowland, *et al.*, 2003). Terlepasnya molekul gula dari genistin sehingga menjadi genistein secara normal terjadi pada lambung (hidrolisis asam) dan usus (aksi dari enzim bakteri). Absorpsi dan metabolisme genistin sangat bervariasi antar individu (Setchell, 2003; Barlow, *et*

*al.*, 2007). Genistein dimetabolisme menjadi senyawa inaktif p-ethylphenol. Lebih lanjut, metabolisme genistein dilakukan oleh konjugasi aglikon dengan asam glucuronic (Anderson, *et al.*, 1999 dalam Rishi, 2002).

#### 2.2.4.1 Bioaktivitas Genistein

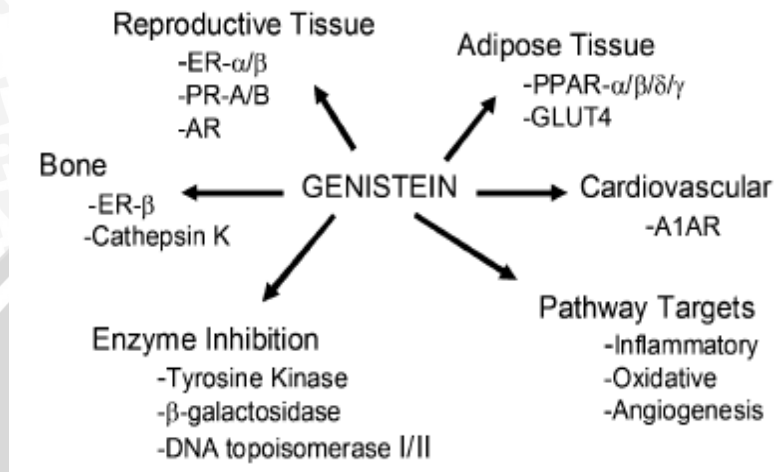
Genistein merupakan senyawa pada tanaman yang bersifat *selective estrogen receptor modulator* (SERM). Genistein dapat bersifat agonis atau anti estrogen. Hal tersebut tergantung dosis dan ada atau tidaknya estradiol. Ketika diberikan bersamaan dengan estradiol maka genistein bersifat sebagai antiestrogen (Murkies, *et al.*, 1998; Hamilton-Reeves, *et al.*, 2009).

Tingginya reseptor ER $\beta$  di prostat menjadikan prostat juga merupakan target dari aksi genistein. Studi yang sudah dilakukan membuktikan bahwa terdapat efek supresif oleh genistein pada hipofise anterior setelah 9 hari terapi dengan genistein 2.5 mg/kg/hari menurunkan testis dan serum testosteron, LH (*Luteinizing Hormone*) dan berat prostat pada mencit jantan dewasa (Strauss, *et al.*, 1998 dalam Whitten and Patisaul, 2001).

#### 2.2.4.2 Target Reseptor Genistein

Genistein mempunyai beberapa target molekular di tubuh, meliputi beberapa macam reseptor dan enzim (Gambar 2.4). Genistein dapat berikatan dengan reseptor estrogen yaitu ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . Afinitas ikatan genistein terhadap ER $\beta$  7-48 lebih kuat dibanding ER $\alpha$ . Sedangkan jika berdasarkan efek estrogen yang dihasilkan, potensi ikatan genistein dengan ER $\beta$  30 kali lebih kuat dibandingkan dengan ER $\alpha$  dan 130 kali lebih lemah jika dibandingkan 17 $\beta$ -

estradiol (Taylor, *et al.*, 2009). Afinitas ikatan genistein terhadap ER sekitar 0,0001 sampai 1% dari level ikatan estradiol (Soto, *et al.*, 1995 dalam Akingbemi, 2005).



Gambar 2.4 Target Molekular Genistein. Genistein memiliki beberapa target molekular di jaringan reproduksi, tulang, jaringan lemak dan kardiovaskular. Genistein juga dapat menghambat enzim dan proses inflamasi, oxidative stress, angiogenesis (Taylor, 2009)

#### 2.2.4.3 Genistein sebagai *Endocrine Disruptor*

*Endocrine Disruptor* menurut definisi dari U.S. *Environmental Protection Agency* (EPA) adalah agen eksogen yang dapat mengganggu sintesis, sekresi, transpor, metabolisme, ikatan dengan protein atau eliminasi dari hormon alami yang ada dalam tubuh dimana hormon tersebut bertanggung jawab terhadap homeostasis, reproduksi dan proses perkembangan (Kandarakis, *et al.*, 2009). Penelitian tentang *endocrine disruptor* mengungkapkan bahwa *endocrine disruptor* dapat menyebabkan masalah infertilitas. Penelitian yang dilakukan Karahalil (2006) menjelaskan bahwa adanya kemungkinan efek yang merugikan dari toksin lingkungan, seperti dari tumbuhan, terhadap fungsi reproduksi.



Genistein juga dapat berperan sebagai *endocrine disruptor*. Hal ini disebabkan genistein dapat berikatan secara lemah dengan reseptor estrogen dan mempengaruhi ikatan estrogen endogen dengan reseptornya. Selain itu, genistein juga mempengaruhi enzim aromatase yang merupakan salah satu enzim yang digunakan untuk biosintesis estrogen (Kandarakis, *et al.*, 2009).

#### **2.2.4.4 Manfaat Genistein pada Kesehatan**

Genistein memiliki efek sebagai antioksidan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sierens, *et al.* (2002), pemberian genistein sebanyak 0,01-100  $\mu\text{mol/l}$  pada tikus yang telah diberi hidrogen peroksida dapat melindungi DNA sperma tikus dari kerusakan yang diakibatkan *oxidative damage*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa genistein merupakan penghambat protein tyrosine kinase. Dikarenakan fungsi tersebut, genistein dapat digunakan untuk pencegahan kanker payudara (Sanderson, *et al.*, 2004).

#### **2.2.4.5 Pengaruh Genistein terhadap Fertilitas Jantan**

Genistein merupakan fitoestrogen yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen. Genistein dapat berikatan dengan ER $\alpha$  dan ER $\beta$  pada hipotalamus, sel sertoli dan sel leydig. Ikatan genistein dengan ER $\alpha$  dan ER $\beta$  pada hipotalamus tikus jantan bersifat antiestrogenik, hal ini ditandai dengan penurunan mRNA di nukleus paraventricular (Patisaul, *et al.*, 2001). Genistein juga dapat berikatan dengan ER $\alpha$  dan ER $\beta$  di sel leydig dan sel sertoli. ikatan genistein tersebut dapat

meningkatkan kadar enzim aromatase yang dapat mengubah hormon testosteron menjadi hormon estrogen (Carreau, *et al.*, 2003).

Penelitian yang dilakukan Atanassova, *et al.* (2000) menunjukkan bahwa pemberian genistein sebanyak 4 mg/kg/hari selama 16 hari pada tikus jantan usia 2 hari dapat meningkatkan apoptosis sel germ dan penurunan kadar FSH. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Glover and Assinder (2006) yang memberi kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kedelai yang mengandung 225 µg/g genistein selama 22 hari pada tikus jantan usia 3 hari dapat menurunkan kualitas sperma.

### 2.2.5 Daidzein

Daidzein merupakan salah satu kelompok isoflavon selain genistein. Daidzein juga memiliki efek estrogen lemah, agonis atau antagonis. Metabolisme daidzein menghasilkan metabolit equol dan O-DMA (O-desmethylangolensin). Setelah mengonsumsi kedelai atau daidzein, sekitar 30-50% populasi memproduksi equol dan sekitar 80-90% memproduksi O-DMA (Barlow, *et al.*, 2007).

Daidzein juga bersifat sebagai *endocrine disrupter*. Daidzein dapat berikatan pada kedua reseptor estrogen yaitu ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . Akan tetapi, ikatannya lebih kuat pada ER $\beta$ . Metabolit daidzein equol lebih kuat ikatannya pada reseptor estrogen dibanding dengan daidzein (Barlow, *et al.*, 2007).

## 2.3 Sistem Reproduksi Jantan

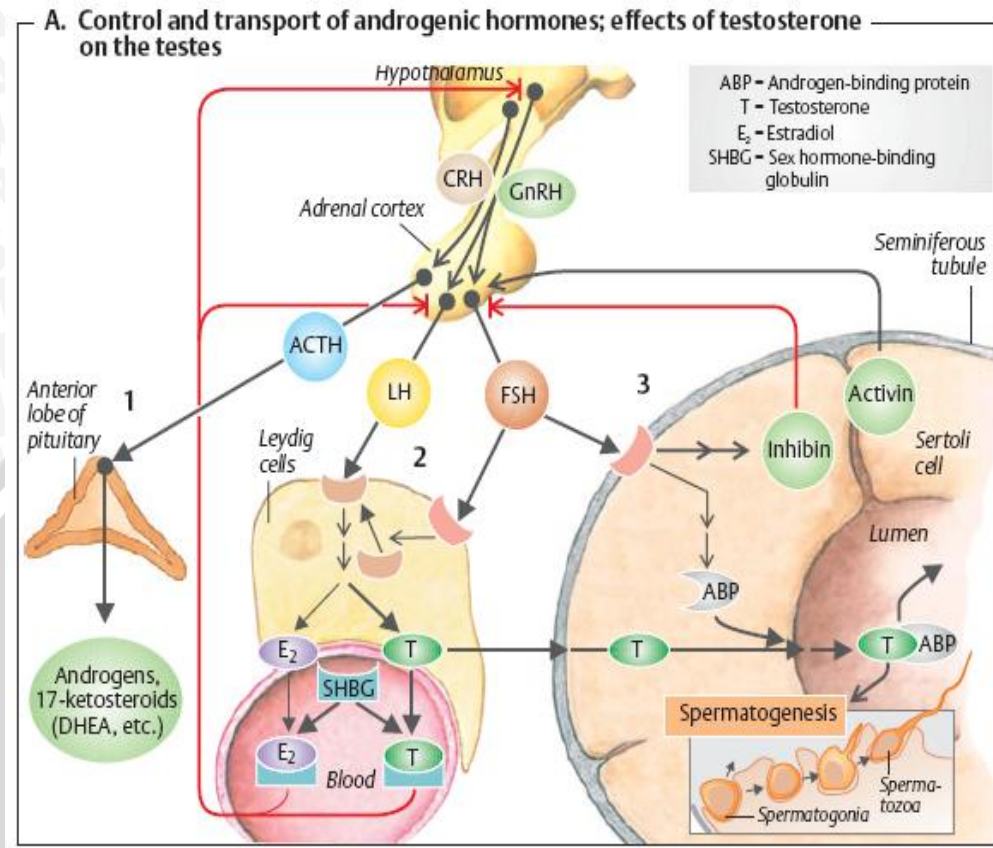
### 2.3.1 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses meiosis yang bertempat di tubulus seminiferus yaitu tempat sperma diproduksi. Di dalam tubulus seminiferus terdapat spermatogonium, yaitu sel germ yang kelak akan menjadi sperma. Spermatogonium akan membelah menjadi dua sel melalui proses mitosis. Sel yang pertama akan kembali ke tempat spermatogonium menjadi sel germ, sedangkan sel yang kedua akan berdiferensiasi menjadi spermatisit primer yang akan mengalami proses meiosis (Scanlon and Sanders, 2007).

Pembentukan sperma diregulasi oleh beberapa hormon. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berperan untuk menginisiasi produksi sperma. *Luteinizing Hormone* (LH) yang juga di sekresi oleh hipofise anterior berperan untuk menstimulasi produksi hormon testosteron oleh testis. Hipotalamus mensekresi GnRH yang berfungsi untuk menstimulus produksi LH dan FSH. FSH menstimulasi sel sertoli untuk mensekresi inhibin dan ABP (*Androgen Binding Protein*). LH menstimulasi sel leydig untuk mensekresi hormon testosteron yang kemudian berikatan dengan ABP untuk masuk kedalam lumen tubulus seminiferus sehingga terjadi proses spermatogenesis (Gambar 2.5) (Despopoulos and Silbernagl, 2003; Guyton and Hall, 2007)

Produksi sperma dimulai saat pubertas (sekitar usia 10-14 tahun) dan jutaan sperma dibentuk setiap hari oleh testis. Walaupun produksi sperma akan berkurang seiring bertambahnya usia, tetapi biasanya sperma tidak akan berhenti diproduksi tidak seperti pada wanita yang akan mengalami masa menopause (Scanlon and Sanders, 2007).





Gambar 2.5 Proses Spermatogenesis dan Hormon yang Berperan. Hipotalamus mensekresi GnRH yang berfungsi untuk menstimulasi produksi FSH dan LH oleh hipofise anterior. FSH berperan untuk menginisiasi spermatogenesis. LH berperan menstimulasi produksi hormon testosteron (Despopoulos and Silbernagl, 2003)

## 2.3.2 Hormon-Hormon Reproduksi Jantan

### 2.3.2.1 Estrogen

Estrogen merupakan hormon steroid dengan 18 atom karbon. Estrogen dapat berasal dari aromatisasi androgen lokal, testis, efek umpan balik neuroendokrin dan aksi parakrin pada testis (Sharpe, 1998). Sekresi estrogen sebagian besar berasal dari aksi aromatisasi testosteron. Sekitar 80% estradiol dan 95% estron berasal dari aromatisasi testosteron dan androstenedion (Ganong, 2005; Gardner and Shoback, 2007).

Estrogen memiliki dua reseptor yaitu ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . ER $\beta$  lebih banyak di epitel tubulus seminiferus meliputi sel germ dan sel sertoli. Sedangkan ER $\alpha$  lebih banyak di sel leydig (Ebling, *et al.*, 2000). Ada beberapa macam jenis estrogen yaitu estradiol (E1), estron (E2), dan estriol (E3). Estradiol merupakan estrogen yang paling poten (Despopoulos and Silbernagl, 2003). Estrogen memiliki efek umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofise anterior. Peningkatan kadar estrogen dapat menurunkan sekresi GnRH dan hormon gonadotropin (Despopoulos and Silbernagl, 2003).

Dosis fisiologi estradiol dapat meningkatkan produksi inhibin B oleh sel sertoli (O'donnel, *et al.*, 2001). Kadar normal estradiol pada pria sekitar 0.05 ng/mL. Kadar ini hampir sama dengan kadar estradiol fase folikuler awal pada wanita (Despopoulos and Silbernagl, 2003). Berbeda dengan estrogen pada wanita, estrogen pada pria meningkat seiring dengan peningkatan usia (Ganong, 2005).

Estradiol mempengaruhi proses spermatogenesis. Berdasarkan penelitian Ebling, *et al.* (2000) induksi spermatogenesis dengan menggunakan estrogen dapat meningkatkan jumlah sel sertoli dengan meningkatkan kadar FSH di sirkulasi pada tikus *hypogonadal*. Akan tetapi pada tikus normal, induksi estrogen dapat menurunkan kadar FSH di sirkulasi. Penurunan kadar FSH menunjukkan bahwa estrogen memiliki aksi langsung pada hipofise pituitari anterior.



### 2.3.2.2 Testosteron

Testosteron diproduksi oleh sel leydig sekitar 95% dan sisanya diproduksi oleh korteks adrenal. Sel leydig juga mensekresi estron, estradiol, pregnenolon dan progesteron dalam jumlah yang sedikit. Testosteron beredar dalam sirkulasi 98% berikatan dengan protein yaitu SHBG (*Sex Hormone Binding Globulin*) (Despopoulos and Silbernagl, 2003; Gardner and Shoback, 2007). Sekresi testosteron diregulasi oleh LH (*Luteinizing Hormone*). Efek testosteron pada diferensiasi seksual jantan antara lain spermatogenesis, perkembangan sperma, perkembangan fungsi genitalia, prostat, vesikula seminalis dan perkembangan sex sekunder (Ganong, 2005).

### 2.3.2.3 FSH (*Follicle Stimulating Hormone*)

FSH merupakan salah satu hormon gonadotropin yang dikeluarkan oleh hipofise pituitari anterior. Sekresi FSH diregulasi oleh peptida hipotalamus, oleh sex steroid atau sex nonsteroid yaitu inhibin B yang disekresi oleh sel sertoli dan stimulasi autokrin atau parakrin di hipofise pituitari anterior oleh aktivin dan folistatin (Hayes, *et al.*, 2001). Inhibin merupakan faktor utama yang dihasilkan oleh sel sertoli untuk menghambat sekresi FSH (Gardner and Shoback, 2007).

Stimulus oleh GnRH menyebabkan FSH disekresikan ke sirkulasi dan berikatan dengan reseptor spesifik pada sel sertoli. Ikatan pada sel sertoli menstimulasi untuk diproduksi ABP (*Androgen Binding Protein*). ABP berfungsi sebagai protein yang membawa testosteron masuk ke tubulus seminiferus dari jaringan interstitial. Selain menghasilkan ABP, sel sertoli juga menghasilkan inhibin. Ada dua jenis inhibin, tetapi jenis inhibin yang ada pada jantan adalah



inhibin B. FSH memberi stimulus secara langsung pada sel sertoli untuk mensekresi inhibin. Serum inhibin merefleksikan jumlah sel sertoli dan produksi sperma. Selain itu, FSH juga menginduksi formasi reseptor LH pada sel leydig (Despopoulos and Silbernagl, 2003; Gardner and Shoback, 2007).

Sel sertoli berfungsi untuk memberi nutrisi pada sel germ sehingga terjadi proses spermatogenesis. Sel germ pada tubulus seminiferus harus selalu berdekatan dengan sel sertoli agar dapat bertahan dan melanjutkan proses spermatogenesis (Ganong, 2005; Guyton and Hall, 2007).

#### 2.3.2.4 LH (*Luteinizing Hormone*)

*Luteinizing Hormone* (LH) merupakan salah satu hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh hipofise anterior. Sekresi LH merupakan suatu siklus. Sekresi LH hampir selalu mengikuti pelepasan bertahap dari GnRH (Guyton and Hall, 2007). LH berperan dalam menstimulus sel leydig untuk memproduksi hormon testosteron. Sehingga, jumlah testosteron meningkat sebanding dengan jumlah LH yang tersedia. Akan tetapi, LH juga memiliki efek umpan balik negatif oleh sekresi testosteron. Testosteron yang sudah memenuhi kadar fisiologis akan merangsang hipofise anterior melalui AR (*Androgen Receptor*) untuk menghambat sekresi LH (Ganong, 2005; Guyton and Hall, 2007).

#### 2.4 Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan

Tikus termasuk hewan mamalia, sehingga dampak terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dengan mamalia lainnya (Smith dan

Mangkoewidjojo, 1988). Tikus merupakan hewan laboratorium yang banyak digunakan sebagai bahan percobaan dan penelitian antara lain untuk mempelajari pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, dan embriologi (Malole dan Pramono, 1989 dalam Putra, 2009).

Tikus putih (*Rattus novergicus*) berasal dari Asia Tengah dan penggunaannya telah menyebar ke seluruh dunia (Malole dan Pramono, 1989 dalam Putra, 2009). Menurut Myers and Armitage (2004), taksonomi tikus adalah sebagai berikut



Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodensia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>

Tikus putih mempunyai beberapa galur. Galur tikus putih yang sering digunakan untuk penelitian ada lima macam yaitu *Long Evans*, *Oeborne Mendel*, *Sherman*, *Sprague Dawley*, dan *Wistar*. Dalam penelitian ini digunakan tikus putih galur wistar yang memiliki kepala besar dan ekornya lebih pendek (Baker, 1979 dalam Putra, 2009). Untuk keperluan penelitian, tikus putih memiliki nilai fisiologis yang telah terdata dengan baik. Informasi nilai fisiologis tersajikan dalam tabel 2.5. Kadar estrogen pada tikus jantan juga pernah diteliti. Kadar estrogen pada tikus jantan sekitar 40 pg/mL (Brewster, 1997 dalam Akingbemi, 2005)

Tabel 2.6 Karakteristik Fisiologi Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan (Waynforth and Flecknell, 1992 dalam Putra, 2009)

Kriteria	Nilai
<b>Lama/panjang siklus:</b>	
Fase 1 diestrusi	60 jam
Fase 2 proestrus (awal)	60 jam
Fase 3 proestrus (akhir)	12 jam
Fase 4 estrus	10-20 jam
Fase 5 metestrus	8 jam
Durasi total siklus	4-5 hari
Lama estrus	9-20 jam
<b>Waktu ovulasi</b>	8-11 jam sesudah estrus
<b>Lama kebuntingan</b>	21-23 hari
<b>Jumlah anak perinduk</b>	6-10 ekor
<b>Usia lepas sapih</b>	21 hari
<b>Usia pubertas</b>	6 - 8 minggu
<b>Berat organ :</b> (berat basah dalam g/100 g bobot badan)	
Testis (single)	0,05
Ovary (single)	0,005
<b>Lain-lain:</b>	
Lama hidup	2-4 tahun
Berat dewasa jantan	300-400 g
Berat dewasa betina	250-300 g
Konsumsi makanan per berat badan, per hari	10 g/100g/hari
Konsumsi minum per berat badan, per hari	10-12/100g/hari

## 2.5 Infertilitas

Infertilitas adalah ketidakmampuan untuk memperoleh anak setelah senggama secara teratur tanpa kontrasepsi selama dua tahun (WHO, 2012). Sedangkan menurut definisi *the American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), infertil adalah suatu penyakit yang didefinisikan oleh kegagalan untuk memperoleh kehamilan setelah 12 bulan atau lebih senggama teratur tanpa proteksi atau donor inseminasi terapeutik.



Infertilitas dibedakan menjadi dua jenis yaitu infertilitas primer dan sekunder. Infertilitas primer adalah infertilitas yang terjadi pada pasangan yang belum pernah mendapat anak atau kehamilan setelah melakukan hubungan seksual secara teratur selama dua tahun. Sedangkan infertilitas sekunder adalah infertilitas yang terjadi pada pasangan yang sebelumnya pernah hamil akan tetapi tidak berhasil hamil lagi setelah berhubungan seksual secara teratur selama dua tahun (WHO, 2012).

Faktor yang menyebabkan infertilitas pada wanita meliputi, faktor hormonal (gangguan pada masa menstruasi atau *ovulatory*), faktor tuba (oklusi, adhesi pelvis dan abnormalitas tuba yang lain), faktor non-tuba yang di dapat (gangguan pada serviks atau uterus), disfungsi seksual dan abnormalitas kongenital. Sedangkan faktor yang menyebabkan infertilitas pada pria meliputi oligozoospermia, yang merupakan hasil dari faktor infeksi, faktor kongenital, gangguan endokrin, faktor imunologi, varikokel atau faktor idiopatik (WHO, 1992 dalam Jejeebhoy, 1998).

Gangguan kesuburan pada pria dapat digolongkan menjadi 3 golongan yakni :

1. Gangguan pretestikuler : merupakan gangguan yang terdapat di luar testis dan berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. Gangguan pretestikuler biasanya berkaitan dengan gangguan hormonal yang mempengaruhi proses spermatogenesis, misalnya menurunnya produksi hormon *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Gangguan ini ditemukan sekitar 2 % pada pria penderita infertilitas yang dapat disebabkan oleh :

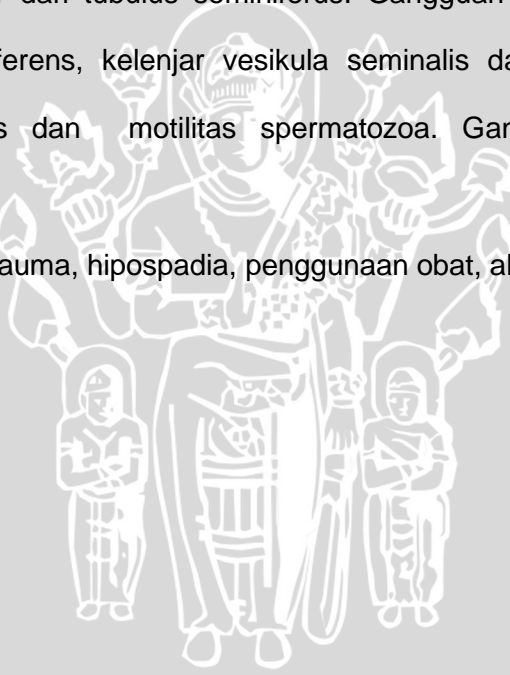
- hipopituitarisme, gangguan kelenjar adrenal, hipotiroidisme, diabetes mellitus

2. Gangguan testikuler : merupakan gangguan yang terjadi pada testis, sehingga proses spermatogenesis akan terganggu. Gangguan testikuler terjadi di dalam tubulus seminiferus akibat berbagai hal seperti :

- arestasi sel spermatogenik, kriptorkhidisme, varikokel, radiasi, sindroma Klinefelter

3. Gangguan postestikuler : gangguan yang terjadi di luar testis setelah spermatozoa keluar dari tubulus seminiferus. Gangguan ini terdapat pada epididimis, vas deferens, kelenjar vesikula seminalis dan prostat seperti gangguan viabilitas dan motilitas spermatozoa. Gangguan ini dapat disebabkan oleh :

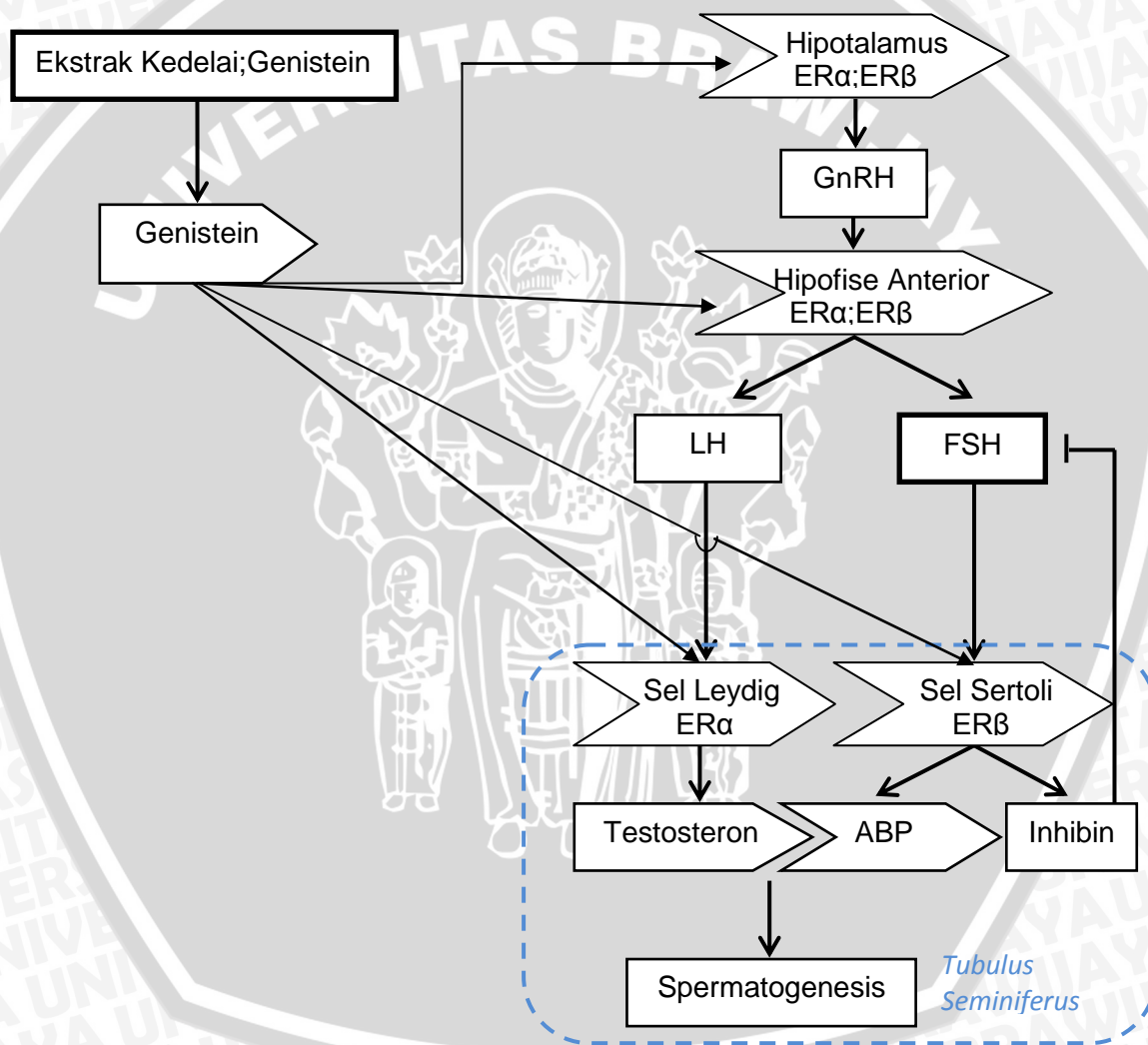
- infeksi, tumor, trauma, hipospadia, penggunaan obat, alkohol, merokok
- (Yurnadi, 2001)



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Efek Pemberian Ekstrak Kedelai terhadap Kadar FSH Tikus Jantan

Keterangan:

- : Berikatan
- : Stimulate
- : Variabel diteliti
- : Inhibit
- : Variabel tidak diteliti





Proses spermatogenesis diatur oleh hormon yang dikeluarkan oleh hipotalamus yaitu GnRH. GnRH menstimulasi hipofise anterior untuk mengeluarkan hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH. FSH merupakan hormon yang menstimulasi sel sertoli yang terdapat di tubulus seminiferus untuk memulai proses spermatogenesis. Dengan adanya stimulus dari FSH, sel sertoli akan menghasilkan inhibin dan ABP. ABP berfungsi sebagai *protein carrier* yang membawa hormon testosteron dari jaringan interstitial ke dalam tubulus seminiferus sehingga terjadi proses spermatogenesis. Sedangkan inhibin memiliki efek menghambat produksi FSH.

Ekstrak kedelai mengandung genistein. Genistein dapat berikatan dengan reseptor estrogen yaitu ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . Ikatan genistein dengan reseptor dapat terjadi di hipotalamus, hipofise anterior maupun sel sertoli dan sel leydig. Ketika konsumsi kedelai dalam jumlah banyak dan waktu lama maka genistein akan berikatan dengan ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . Ikatan genistein dengan reseptor estrogen akan meningkatkan efek estrogenik yang pada akhirnya memberikan efek umpan balik negatif pada hipotalamus dan hipofise anterior. Hal ini mengakibatkan penurunan sekresi GnRH oleh hipotalamus sehingga sekresi FSH dan LH juga terjadi penurunan. Penurunan sekresi FSH dan LH menyebabkan penurunan sekresi hormon testosteron dan ABP yang pada akhirnya mengganggu proses spermatogenesis

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak kedelai selama tiga bulan dapat menurunkan kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen eksperimental di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design* dimana setiap hewan coba memiliki probabilitas yang sama untuk mendapatkan perlakuan.

#### 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

##### 4.2.1 Populasi

Populasi penelitian adalah keseluruhan atau himpunan obyek dengan ciri sama. Adapun populasi dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar jantan. Karakteristik dari populasi adalah sehat, aktif dan tidak cacat.

##### 4.2.2 Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang dijadikan obyek dan sumber data serta informasi dalam penelitian yang dianggap mewakili atau representatif. Sampel dalam penelitian ini diambil dengan menggunakan metode sampel jenuh, yang artinya semua populasi yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi

digunakan sebagai sampel (Sugiyono, 2005). Sampel yang digunakan sebanyak 20 sampel. Sampel ini telah memenuhi beberapa kriteria, diantaranya:

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subjek penelitian dari suatu populasi dan suatu target yang akan diteliti. Adapun kriteria inklusi yang akan diteliti adalah: tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar jantan, usia 30 hari, berat badan 100 gram, sehat yang ditandai dengan gerakan aktif dan tidak cacat.

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah subjek yang tidak memenuhi kriteria inklusi.

Tikus dibagi kedalam empat kelompok perlakuan. Banyaknya anggota pada tiap kelompok perlakuan ditentukan sebagai berikut (Loekito,1998).

$$P(n-1) \geq 15$$

dimana :  $P$  = Jumlah kelompok perlakuan

$n$  = Jumlah perlakuan untuk setiap kelompok

$P$  dan  $n$  harus bilangan bulat

sehingga :  $4(n-1) \geq 15$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi, minimal ada 5 anggota tiap kelompok.

Teknik pengambilan sampel yang dipergunakan adalah *simple random sampling*, yaitu cara pengambilan sampel dengan acak sederhana dimana



pengambilan sampel langsung dilakukan pada unit *sampling* sebagai unit populasi terkecil memiliki peluang yang sama untuk terpilih sebagai sampel.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kedelai dengan berbagai dosis ( $P_1$  0,34  $\mu\text{g}/\text{grBB}$ ,  $P_2$  0,69  $\mu\text{g}/\text{grBB}$ ,  $P_3$  1,38  $\mu\text{g}/\text{grBB}$ )

#### 4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar jantan pada umur 120 hari.

### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 15 Januari – 21 Juli 2012

### 4.5 Bahan dan Alat Penelitian

#### 4.5.1 Bahan dan Alat untuk Pemeliharaan Tikus Wistar

Bahan dan alat yang diperlukan adalah kandang pemeliharaan hewan coba, tutup kandang dari anyaman kawat, sekam, botol minum, tempat makan, dan pakan *comfeed* (makanan standar tikus).

#### 4.5.2 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstrak Kedelai

Bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan ekstrak kedelai adalah biji kedelai, metanol 96% sebagai pelarut dan aquades. Sedangkan alat yang dibutuhkan adalah oven, penggilingan, timbangan, gelas Erlenmeyer, corong gelas, kertas saring, labu evaporator, labu penampung etanol, evaporator, pendingin spiral / *rotator evaporator*, selang *water pump*, *water pump*, *water bath*, *vacum pump* dan botol hasil ekstrak.

#### 4.5.3 Bahan dan Alat untuk Pembedahan Tikus

Bahan yang dibutuhkan untuk pembedahan tikus adalah kloroform 20 mL dan kapas. Sedangkan, alat yang dibutuhkan adalah gunting bedah, *parafin block*, pinset, dan jarum pentul.

#### 4.5.4 Bahan dan Alat untuk Pemisahan Serum pada Sampel Darah Jantung Hewan Coba

Bahan yang dibutuhkan adalah sampel darah jantung sebanyak  $\pm 3$  cc. Sedangkan, alat yang dibutuhkan adalah spuit, tabung reaksi beserta rak, alat sentrifugasi dan eppendorf.

#### 4.5.5 Bahan dan Alat untuk Mengukur Kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dengan Metode ELISA

Alat yang dibutuhkan adalah *microtiter plate reader*, pipet, kertas penghisap, *shaker*, *disposable pipette tips*. Sedangkan, bahan yang dibutuhkan

adalah kit FSH (*antibody coated microtiter plate*, reagen enzyme conjugate, reagen TMB, HCl, dan larutan *standard*), sampel serum, cairan pencuci (buffer).

#### 4.5.6 Alat untuk Pemberian Estrak Kedelai

Alat yang dibutuhkan adalah sonde ukuran 5 mL.

#### 4.6 Definisi Operasional

1. Kedelai yang digunakan adalah jenis kedelai kuning varietas argomulyo yang diproduksi oleh Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian (BLITKABI), Malang.
2. Ekstrak kedelai dalam penelitian ini dibuat dari biji kedelai yang melalui proses maserasi, ekstraksi dengan metanol dan evaporasi.
3. Kadar genistein pada kedelai kuning varietas argomulyo adalah 137,76  $\mu\text{g/mL}$ . Pengukuran kadar genistein kedelai dilakukan dengan metode UHPLC (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*) di Politeknik Kimia Malang pada 15 Februari 2012.
4. Usia lepas sapih pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan adalah usia 30 hari dengan berat badan  $\pm 100$  gr. Pada usia 30 hari tikus sudah mampu makan sendiri tanpa menyusu dari induknya.
5. Usia 120 hari atau 4 bulan pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan adalah usia dewasa tikus. Usia dewasa tikus sekitar 2-4 bulan.
6. Pengukuran kadar FSH menggunakan metode ELISA yang dilakukan di Laboratorium Biokimia MIPA Universitas Brawijaya.



## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Persiapan Hewan Coba

1. Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, tempat makan, pakan *comfeed*, hewan uji tikus wistar, dan seleksi tikus (usia, berat badan, kesehatan).
2. Tikus diadaptasikan di dalam laboratorium farmakologi selama 1 minggu pada temperatur ruangan konstan dan ditempatkan pada kotak plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm, ditutup dengan kawat kasa dan diberi alas sekam yang diganti 2 kali dalam 1 minggu.
3. Tikus dibagi dalam empat kelompok, yaitu K (-) yang merupakan kelompok kontrol, P<sub>1</sub> yang merupakan kelompok perlakuan 1, P<sub>2</sub> yang merupakan kelompok perlakuan 2 dan P<sub>3</sub> yang merupakan kelompok perlakuan 3.

### 4.7.2 Pembuatan ekstrak Kedelai

Ekstrak kedelai dibuat di laboratorium Farmakologi FKUB dengan menggunakan metode ekstrak metanol. Ekstrak kedelai yang telah didapat mengandung 137,76 µg genistein setiap mL. Cara pembuatan ekstrak kedelai melalui tahap sebagai berikut:

1. Proses Pengeringan
  - a. Biji kedelai yang akan dikeringkan dicuci bersih.
  - b. Biji kedelai dipotong kecil-kecil.
  - c. Biji kedelai dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40-60°C atau dengan panas matahari hingga kering.

## 2. Proses Ekstraksi dengan Metode Maserasi

- a. Setelah kering, biji kedelai dihaluskan dengan alat penggilingan.
- b. Kedelai ditimbang sebanyak 100 gram (sampel kering).
- c. 100 gram sampel kering kedelai dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran  $\pm 1$  L.
- d. Sampel kering kedelai direndam dengan metanol sebanyak 1 L.
- e. Dikocok sampai tercampur ( $\pm 30$  menit).
- f. Sampel kedelai didiamkan 1 malam sampai mengendap
- g. Lapisan atas dari campuran metanol dengan zat aktif yang sudah tercampur diambil (bisa dengan cara penyaringan dengan menggunakan kertas saring).
- h. Proses perendaman dilakukan sampai tiga kali

## 3. Proses Evaporasi

- a. Kedelai yang telah dilakukan proses perendaman dimasukkan ke dalam labu evaporasi 1 L.
- b. Labu evaporasi dimasukkan pada evaporator.
- c. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
- d. Semua rangkaian alat termasuk *rotary evaporator* dipasang, pemanas *water bath* (atur sampai  $90^{\circ}\text{C}$  atau sesuai dengan titik didih pelarut), disambungkan dengan aliran listrik.
- e. Larutan metanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi.
- f. Ditunggu sampai aliran metanol berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm 1,5$  sampai 2 jam untuk 1 labu)  $\pm 900$  mL.
- g. Hasil yang diperoleh kira-kira  $\frac{1}{4}$  dari kedelai kering.

- h. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam botol kering atau kaca.
- i. Disimpan dalam freezer.

#### 4.7.3 Penentuan Dosis Genistein dalam Ekstrak Kedelai

Dosis optimum susu kedelai untuk tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar masih belum diketahui. Pada penelitian yang dilakukan Glover and Assinder (2006), diet rendah fitoestrogen adalah 112 µg yang terdiri dari 53,5 µg genistein, 32,5 µg daidzein dan 26 µg glycitein. Sedangkan, diet tinggi fitoestrogen adalah 465 µg yang terdiri dari 225 µg genistein, 180 µg daidzein dan 60 µg glycitein.

Pengukuran yang dilakukan di laboratorium kimia analisis dan instrumentasi Politeknik Negeri Malang menunjukkan bahwa kadar genistein dalam kedelai adalah 137,76 ppm yang artinya dalam 1 mL ekstrak kedelai mengandung 137,76 µg genistein. Pada penelitian ini, kadar genistein digunakan sebagai acuan perhitungan dosis.

Berdasarkan kedua sumber diatas, 137,76 µg/mL disetarakan dengan dosis antara *low genistein* dan *high genistein*, sehingga dosis *high genistein* adalah dua kali dari dosis antara tersebut yaitu 275,52 µg dalam 2 mL ekstrak kedelai yang disetarakan dengan dosis *high* pada penelitian Glover and Assinder. Sedangkan dosis *low genistein* setengah dari dosis antara yaitu 68,88 µg dalam ½ mL ekstrak kedelai. 68,88 µg dijadikan dosis 1; 137,76 µg untuk dosis 2 ; sedangkan 275 µg untuk dosis 3. Ketiga dosis itu diberikan pada tikus dengan berat badan rata-rata 200 gram, sehingga untuk per gram berat badannya didapatkan dosis 1 0,34 µg/grBB; dosis 2 0,69 µg/grBB; dan dosis 3 1,38 µg/grBB (terlampir pada lampiran 4).



#### 4.7.4 Pemberian Ekstrak Kedelai

Ekstrak kedelai diberikan setiap hari pada tikus jantan usia 30 hari sebesar 0,34  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  pada kelompok perlakuan 1, 0,69  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  pada kelompok perlakuan 2 dan 1,38  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  pada kelompok perlakuan 3 secara per oral selama 3 bulan. Cara pemberian dengan memegang tikus pada tangan kiri, kepala berada diantara telunjuk dan jari tengah, dan ibu jari berada di dekat rahang. Tangan kanan memegang sonde yang berisi ekstrak kedelai, kemudian dimasukkan ke dalam mulut.

#### 4.7.5 Pembedahan Hewan Coba

Pembedahan dilakukan dengan memberikan anestesi terlebih dahulu. Anestesi diberikan per inhalasi dengan kloroform dalam suatu wadah tertutup. Tikus yang sudah diberi anestesi diletakkan di atas *parafin block*, difiksasi, lalu dibedah mulai dari abdomen. Darah diambil dari jantungnya sebanyak  $\pm 3$  cc.

#### 4.7.6 Pemisahan Serum pada Sampel Darah Jantung Hewan Coba

Sampel darah disentrifugasi selama  $\pm 10$  menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk diambil serumnya. Serum darah dimasukkan eppendorf dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.7.7 Pengukuran Kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) Serum dengan Metode ELISA

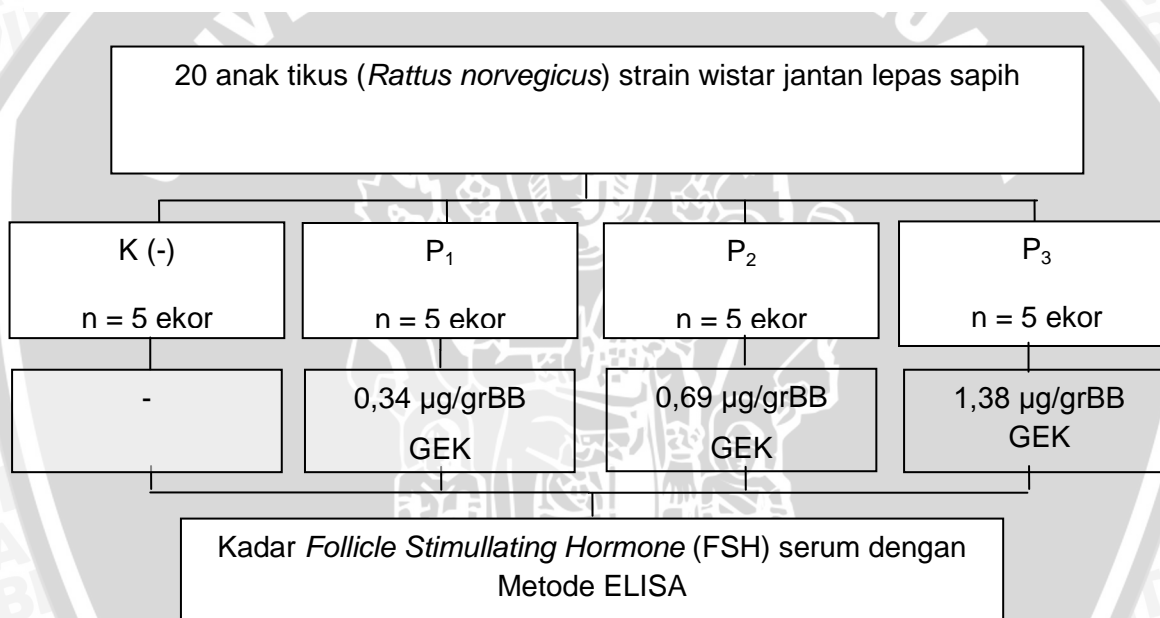
Prosedur pengukuran dilakukan di laboratorium biokimia FMIPA. Prosedur untuk mengukur kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dengan menggunakan metode ELISA adalah sebagai berikut.

1. Suhu sampel dan reagen sekitar 18-25°C.
2. Larutan *standard*, sampel dan kontrol dimasukkan pada *microtiter wells*.
3. *Enzyme conjugate* dimasukkan pada setiap *well*.
4. Dikocok selama 30 detik
5. Diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C
6. Setelah 3 jam, cairan pada *well* dipindahkan.
7. Sampel dicuci dengan buffer sebanyak 5 kali untuk menghilangkan antibody label.
8. Larutan TMB ditambahkan pada setiap *well*. Dikocok selama 10 detik
9. Diinkubasi pada ruangan gelap selama 20 menit.
10. Larutan HCl 2N ditambahkan pada setiap *well* untuk menghentikan reaksi
11. Dikocok selama 30 detik dan dilihat perubahan warna dari kuning ke biru
12. *Well* dibaca pada *microtiter well reader* dengan panjang gelombang 450 nm
13. Konsentrasi FSH berbanding lurus dengan intensitas warna

#### 4.8 Pengolahan Data

Hasil pengukuran kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) kelompok kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik (bantuan software *SPSS for Windows ver 13.00*) dengan menggunakan uji normalitas (uji *Shapiro wilk*), uji homogenitas, uji *One Way ANOVA*, uji *Tukey*, dan uji regresi

#### 4.9 Skema Rancangan penelitian



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

K (-) : Kontrol negatif

P : Perlakuan

GEK : Genistein dalam Ekstrak Kedelai



## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

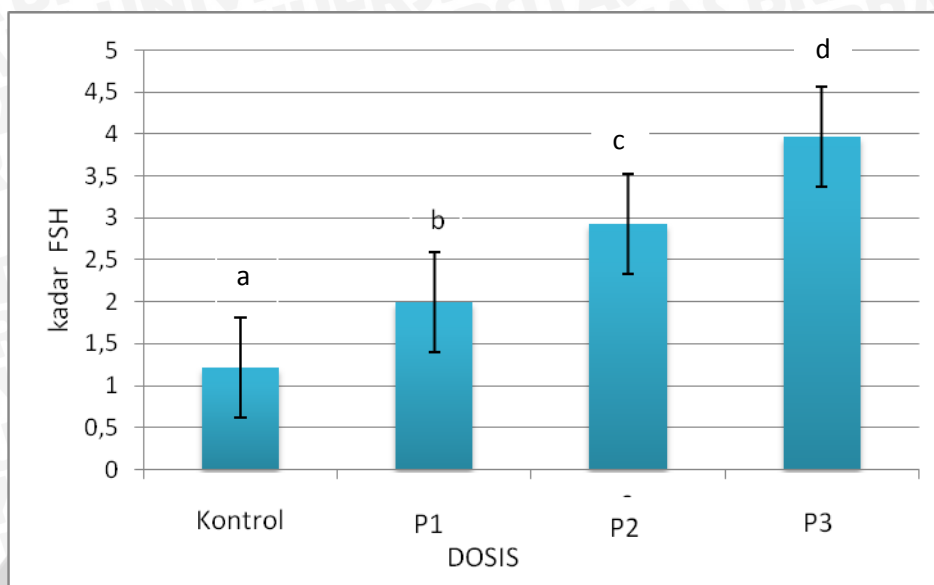
## 5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini diberikan perlakuan pemberian ekstrak kedelai pada 20 tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar jantan berumur 30 hari selama 3 bulan. Tikus dikelompokkan dalam 4 kelompok yang terdiri dari perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3 dan kontrol. Tiga kelompok perlakuan diberi ekstra kedelai dengan dosis  $P_1$  0,34  $\mu\text{g}/\text{grBB}$ ,  $P_2$  0,69  $\mu\text{g}/\text{grBB}$  dan  $P_3$  1,38  $\mu\text{g}/\text{grBB}$ . Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus untuk diamati adanya perubahan kadar FSH. Dari pengamatan tersebut didapatkan hasil sebagai berikut

Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Efek Ekstrak Kedelai terhadap Kadar FSH Tikus Jantan

Tikus ke-	1	2	3	4	5	Rerata $\pm$ SD
Kontrol (ng/mL)	1.16	1.195	1.109	1.28	1.331	1.215 $\pm$ 0.090
P1 (ng/mL)	1.57	1.911	2.133	1.98	2.389	1.996 $\pm$ 0.301
P2 (ng/mL)	2.526	3.038	2.799	3.106	3.157	2.925 $\pm$ 0.262
P3 (ng/mL)	3.652	3.857	4.3	4.061	3.959	3.966 $\pm$ 0.240

Dari tabel hasil pengamatan menunjukkan bahwa kadar FSH pada tikus jantan menunjukkan kenaikan secara bertahap yang dimulai dari kelompok kontrol hingga kelompok perlakuan 3. Kadar FSH terendah adalah kelompok kontrol sedangkan kadar FSH tertinggi adalah kelompok perlakuan 3 yang diberi dosis tertinggi ekstrak kedelai.



\* Keterangan: Notasi berbeda menunjukkan adanya signifikansi

Gambar 5.1 Grafik Hasil Pengamatan Efek Ekstrak Kedelai terhadap kadar FSH Tikus Jantan

## 5.2 Analisa Data

Hasil Penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik *SPSS for Windows ver 13.00*.

### 5.2.1 Uji Homogenitas

Data yang diperoleh untuk setiap perlakuan dianalisa kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* (uji levene) Sebelum dilakukan pengujian dengan menggunakan ANOVA dengan tujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama.

Hasil pengujian menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,337 yang lebih besar dari alpha 0,05. oleh karena nilai  $p > 0,05$ , dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

### 5.2.2 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorov smirnov test*.

Dari hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai dari *kolmogorov smirnov test* dengan nilai signifikansi sebesar 0,950. Oleh karena nilai  $p > 0,05$ , dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal. Dengan demikian pengujian dengan menggunakan ANOVA dapat dilanjutkan karena kedua asumsi sudah terpenuhi.

### 5.2.3 Uji One Way Anova

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Juga untuk menguji apakah ada perbedaan yang bermakna antara perlakuan Dosis satu dengan Dosis yang lain, maka dilakukan analisis dengan menggunakan anova.

Berdasarkan pada hasil analisis ANOVA, didapatkan bahwa nilai signifikansi sebesar  $p=0,000$ . Karena nilai  $p<0,005$  maka terdapat perbedaan perlakuan yang signifikan antara perlakuan pada tingkat kepercayaan 5%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil kadar FSH dapat disebabkan oleh dosis perlakuan ekstrak kedelai.



#### 5.2.4 Uji Tukey

Untuk mengetahui lebih lanjut mengenai perbedaan perlakuan nilai rata – rata kelompok perlakuan dapat dilakukan analisa *Tukey*. Adanya perbedaan nilai rata – rata antara kelompok perlakuan di tunjukkan jika nilai  $p < 0,05$ . Perlakuan dosis III memiliki perbedaan yang signifikan dengan perlakuan dosis I, Dosis II, dan Kontrol karena semua memiliki nilai signifikansi 0,000.

#### 5.2.5 Koefisien Determinasi dan Koefisien Korelasi

Koefisien determinasi digunakan untuk menghitung besarnya pengaruh atau kontribusi variabel bebas terhadap variabel terikat. Dari analisis data, diperoleh hasil  $R^2$  (koefisien determinasi) sebesar 0,895. Hal ini menunjukkan bahwa 89,5% variabel kadar FSH akan dipengaruhi oleh variabel bebasnya, yaitu dosis. Sedangkan sisanya 10,5% variabel kadar FSH akan dipengaruhi oleh variabel-variabel lain yang tidak dibahas dalam penelitian ini.

Koefisien korelasi menunjukkan besarnya hubungan antara variabel bebas yaitu dosis ekstrak kedelai dengan variabel bebas yaitu kadar FSH. Nilai  $R$  (koefisien korelasi) sebesar 0,946, nilai ini menunjukkan bahwa hubungan antar variabel bebas dengan variabel terikat termasuk kategori sangat kuat karena berada pada selang 0,8-1. Hubungan antara dosis ekstrak kedelai dengan kadar FSH bersifat positif artinya jika dosis ekstrak kedelai ditingkatkan maka kadar FSH akan mengalami peningkatan.

## BAB 6

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek ekstrak kedelai yang diberikan berdasarkan kadar genistein pada kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) tikus jantan lepas sapih selama tiga bulan. Tikus jantan berusia 30 hari diberikan ekstrak kedelai sebanyak satu kali sehari selama 3 bulan. Setelah 3 bulan, tikus dibedah dan diambil darahnya untuk dilakukan pengukuran kadar FSH dengan menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

Data hasil pengukuran kadar FSH tikus jantan menunjukkan ekstrak kedelai dapat meningkatkan kadar FSH. Semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan kadar FSH secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p=0,000$ ). Hal ini diperkuat dengan hasil uji korelasi yang menunjukkan hubungan kuat antara dosis ekstrak kedelai dengan kadar FSH (0,946) dan hasil uji regresi yang menunjukkan bahwa 89,5% kadar FSH dipengaruhi oleh dosis ekstrak kedelai.

Hasil penelitian menunjukkan hasil yang berbeda dengan hipotesis penelitian. Hal ini dapat dikarenakan waktu pemberian yang berbeda. Kedelai diberikan pada tikus lepas sapih pada penelitian ini. Sedangkan pada penelitian Attanassova, *et al.* (2000) genistein diberikan pada tikus neonatal. Tikus yang berusia kurang dari 23 hari, reseptor estrogen di testis belum berkembang sehingga genistein lebih berikatan dengan reseptor estrogen di hipotalamus.

Ikatan genistein di hipotalamus akan menurunkan kadar FSH sehingga terjadi penurunan proses spermatogenesis (Bellido, *et al.*, 1990). Sedangkan, pada penelitian ini terjadi peningkatan kadar FSH. Peningkatan kadar FSH dapat dikarenakan terjadi efek umpan balik positif testosteron. Penelitian serupa dilakukan oleh Nugroho (2013) yang mengukur jumlah sperma menunjukkan penurunan jumlah sperma tikus jantan, Hakim (2013) yang mengukur kadar hormon testosteron menunjukkan penurunan kadar hormon testosteron tikus jantan dan Wulandari (2013) menunjukkan peningkatan kadar LH (*Luteinizing Hormone*). Dari beberapa parameter tersebut menunjukkan adanya efek umpan balik dari kadar testosteron yang menurun. Penurunan kadar testosteron tersebut diperkirakan dapat memberikan efek umpan balik pada hipofise anterior untuk meningkatkan kadar hormon gonadotropin.

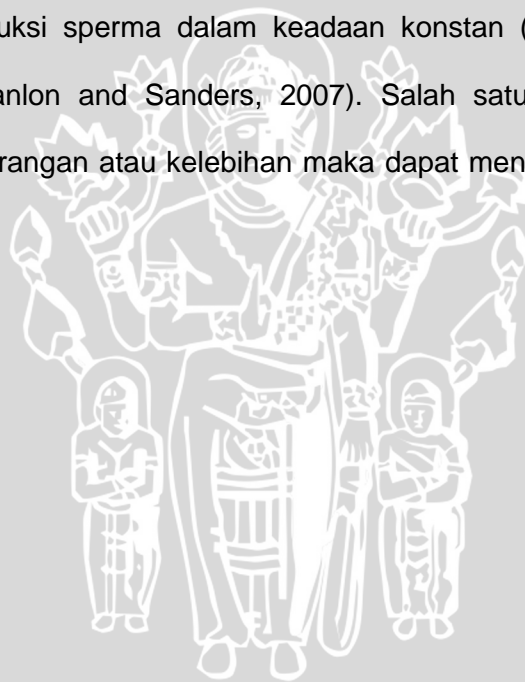
Hormon testosteron dapat memberikan efek umpan balik positif pada hormon gonadotropin. Pada penelitian ini diperkirakan genistein dalam ekstrak kedelai berikatan dengan ER $\beta$  dan ER $\alpha$  pada sel sertoli dan sel leydig yang pada akhirnya akan mensekresi enzim aromatase yang berfungsi untuk mengubah testosteron menjadi estrogen. Peningkatan enzim aromatase menyebabkan banyak hormon testosteron yang diubah menjadi estrogen sehingga terjadi penurunan proses spermatogenesis. Testosteron yang rendah menyebabkan terjadinya efek umpan balik positif pada hipofise anterior untuk meningkatkan sekresi FSH (Carreau, *et al.*, 2003).

Testosteron bersama-sama dengan FSH menstimulasi proses spermatogenesis (Guyton and Hall, 2006). Pada penelitian ini, meskipun FSH pada kadar yang tinggi tetapi ikatan reseptor estrogen dengan genistein menyebabkan peningkatan enzim aroamatase yang mengakibatkan penurunan



jumlah testosteron. Hal ini mengakibatkan terjadinya penurunan jumlah sel sperma pada penelitian Nugroho (2013) meskipun kadar FSH meningkat.

FSH pada dosis fisiologis mengatur proses spermatogenesis pada jantan melalui induksi perkembangan sel sertoli. Sel sertoli akan mengeluarkan inhibin yang merupakan *major negative feedback* untuk produksi FSH oleh hipofise pituitari anterior (Plant and Marshal, 2001; Ganong, 2005). Umpan balik negatif produksi FSH juga dipengaruhi oleh kadar testosteron, DHT (*Dyhidrotestosterone*) dan estradiol. Regulasi FSH, testosteron, estradiol dan inhibin menjaga produksi sperma dalam keadaan konstan (Despopoulos and Silbernagl, 2003; Scanlon and Sanders, 2007). Salah satu hormon regulasi bermasalah baik kekurangan atau kelebihan maka dapat mengacaukan regulasi produksi sperma.



## BAB 7

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kedelai selama tiga bulan dapat meningkatkan kadar FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) Tikus (*Rattus novergicus*) Strain Wistar Jantan. Semakin besar dosis maka semakin tinggi peningkatan kadar FSH (*Follicle Stimulating Hormone*)

## 7.2 Saran

Guna pengembangan lebih lanjut ilmu pengetahuan tentang ekstrak kedelai yang mengandung genistein, disarankan hal berikut:

1. Perlu dilakukan pengukuran terhadap kadar estrogen dalam tikus untuk mengetahui batas umpan balik dari ekstrak kedelai
2. Perlu dilakukan pengukuran kadar FSH berkala setiap bulan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak kedelai secara akut dan kronis
3. Perlu dilakukan pengukuran enzim aromatase

## DAFTAR PUSTAKA

Akingbemi, B.T., 2005. Estrogen Regulation of Testicular Function. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3: 51-65.

Arliss, R.M., and Biermann, C.A., 2002. Do Soy Isoflavone Lower Cholesterol, Inhibit Atherosclerosis, and Play a Role in Cancer Prevention? *Holistic Nurse Practitioner*, 16(5): 40-48.

ASRM. 2012. *Definition of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion.* *Fertility and Sterility*, 90: 125-137.

Atanassova, N., *et al.*, 2000. Comparative Effects of Neonatal Exposure of Male Rats to Potent and Weak (Environmental) Estrogens on Spermatogenesis at Puberty and The Relationship to Adult Testis Size and Fertility: Evidence for Stimulatory Effects of Low Estrogen Levels. *Endocrinology*, 141 (10): 3898-3907).

Barlow, J., Johnson, J. A. P., Scofield, Lacie. 2007. Early Life Exposure to The Phytoestrogen Genistein and Breast Cancer Risk in Later Years. In: Lamartiniere, Coral A., Sathyamoorthy, Neeraja., (Eds), *Breast Cancer & The Environment Research Centers Fact Sheet on the Phytoestrogen Genistein*. University of California San Francisco, p. 47-55.

Barnes, S., Kirk, M., and Coward, L., 1994. Isoflavones and their Conjugates in Soy Foods: Extraction Conditions and Analysis by HPLC-Mass Spectrometry. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 42(11): 2466-2474.

Bellido, C., Pinilla, L., Aguilar, R., Gaytan, F., and Aguilar, E., 1990. Possible Role of Changes in Post-Natal Gonadotrophin Concentration on Permanent Impairment of The Reproductive System in Neonatally Oestrogenized Male Rats. *Journal Reproduction*, 90: 369-374.

Bhathena, S.J., and Velasquez, M.T., 2002. Beneficial Role of Dietary Phytoestrogens in Obesity and Diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76: 1191-1201.

BPKKN., 2007. *Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia*. Badan Pusat Statistik, Jakarta.



Carmichael, S.L., Amparo, G.G.F., Chen, M., Gary, M.S., and Mary, E.C., 2011. Estimated Dietary Phytoestrogen Intake and Major Food Sources among Women during The Year before Pregnancy. *Nutrition Journal*, 10: 105-112.

Carreau, S., Sophie, L., Christelle, D., Isabelle, D.G., Barbara, B., and Sonia, B., 2003. Aromatase Expression and Role of Estrogens in Male Gonad: a Review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1:35-41.

Cassidy, A., *et al.*, 2006. Factors Affecting the Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans after Ingestion of Physiologically Relevant Levels from Different Soy Foods. *The Journal of Nutrition*, 136: 45-51.

Chavaro, J.E., Thomas, L.T., Sonita, M.S., and Russ, H., 2008. Soy Food and Isoflavone Intake in Relation to Semen Quality Parameters among Men from an Infertility Clinic. *Human Reproduction*, 23 (11): 2584-2590.

CMS Biomedical. *Alergi Susu Sapi*, (Online), (<http://cms-biomedical.com/makanan-sehat/alerji-susu-sapi>, diakses 9 Oktober 2012).

Darmadjati, D.S., Marwoto, D., Swastika, D., Arsyad, M., dan Hilman, Y., 2005. *Prospek dan Pengembangan Agribisnis Kedelai*. Badan Litbang Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta.

Depkes., 2005. *Piranti Lunak Nutriclin versi 2.0 Edisi Kedua*. Subdit Gizi Klinisi Departemen Kesehatan Indonesia, Jakarta.

Despopoulos, A., and Silbernagl, S., 2003. *Color Atlas of Physiology*, 5<sup>th</sup> Ed. Stuttgart, New York, p.306-307.

Ebling, F.J.P., Nigel, B., Anna, S.C., Hazel, F., and Jeffrey, B.K., 2000. Estrogenic Induction of Spermatogenesis in The Hypogonadal Mouse. *Endocrinology*, 141: 2861-2869.

Ganong, W.F., 2005. *Review of Medical Physiology*, 22<sup>nd</sup> Ed. McGraw-Hills Companies, United States of America.

Gardner, D.G., and Shoback, D., 2007. *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, Ed 8<sup>th</sup>. McGraw-Hill Companies, United States of America.

Ginting, E., Antarlina, S.S., dan Widowati, S., 2009. Varietas Unggul Kedelai untuk Bahan Baku Industri Pangan. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28 (3): 79-87.

Glover, A., and Assinder, S.J., 2006. Acute Exposure of Adult Male Rats to Dietary Phytoestrogens Reduces Fecundity and Alters Epididymal Steroid Hormone Receptor Expression. *Journal of Endocrinology*, 189: 565-573.

Guyton, A.C., and Hall, J.E., 2006. Textbook of Medical Physiology, 11<sup>th</sup> Ed, Rachman, Luqman Y., Hartanto, Novrianti, A., Wulandari, Nanda (Eds), 2007. *Fisiologi Kedokteran*, 11<sup>th</sup> ed, Irawati, Dian, Ramadhani., Indriyani, Fara., dkk (penterjemah), 2007, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia, hal. 1059-1060.

Hakim, A.L., 2013. Efek Pemberian Ekstrak Kedelai Selama 3 Bulan pada Tikus Strain Wistar Jantan Lepas Sapih terhadap Kadar Testosteron. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Hamilton-Reeves, J.M., Gabriela, V., Sue, J.D., William, R.P., Mindy, S.K., and Mark, J.M., 2009. Clinical Studies Show no Effect of Soy Protein or Isoflavone on Reproductive Hormones in Men: Results of a Meta-Analysis. *American Journal for Reproductive Medicine*, 134: 45-57.

Haryanti, S., dan Tetrinica, M., 2009. Optimalisasi Pembukaan Porus Stomata Daun Kedelai (*Glycine max* (L) merril) pada Pagi Hari dan Sore. *Bioma*, 11 (1): 18-23.

Hayes, F.J., Nelly, P., Suzzune, D.C., William, F.C., and Paul, A.B., 2001. Importance of Inhibin B in the Regulation of FSH Secretion in the Human Male. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*, 86(11): 5541-5546.

Irwan, A.W., 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merill)*. Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Jejeebhoy, S.J., 1998. Infertility in India – levels, patterns and consequences: Priorities for social science research. *Journal of Family Welfare*, 44(2): 15-24.

Kandarakis, E.D., et al., 2009. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews*, 30 (4): 293-342.



Karahalil, B., 2006. Benefit and Risks of Phytoestrogen. In: Yildiz F, editor. *Phytoestrogens in Functional Foods*. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor & Francis Group LLC, p.210-233.

Kaushik-Basu, *et al.*, 2008. Identification and Characterization of Coumestans as Novel HCV NS5B Polymerase Inhibitors. *Nucleic Acids Research*, 36(5): 1482-1496.

Kelly, G.E., Joannou, G.E., Reeder, A.Y., Nelson, C., and Waring, M.A., 1995. The Variable Metabolic Response to Dietary Isoflavones in Humans. *Proc Soc Exp Biol Med*, 208(1): 40-43.

Loekito, M., 1998. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: Bina rupa Aksara.

Montgomery, K.S., 2003. Soy Protein. *The Journal of Perinatal Education*, 12 (3): 42-43.

Murkies, A.L., Gisela, W., and Susan, R.D., 1998. Clinical Review 92-Phytoestrogen. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83: 297-303.

Myers, P., and Armitage, D., 2004. *Rattus Norvegicus*,(Online), ([http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Rattus\\_norvegicus/](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Rattus_norvegicus/), diakses tanggal 12 Desember 2012).

Nugroho, V.A., 2013. *Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (Glycine max ( L.) Merrill) Selama 3 Bulan terhadap Jumlah Sperma Tikus (Rattus norvegicus) Strain Wistar Jantan*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

O'Donnel, L., Kristen, M.R., Margaret, E.J., and Evan, R.S., 2000. Estrogen and Spermatogenesis. *Endocrine Reviews*, 22 (3): 289-318.

Osocki, A.L., and Kennely, E.J., 2003. Phytoestrogens: a Review of the Present State of Research. *Phytotherapy Research*, 17: 845-869.

Plant, T.M., and Marshall, G.R., 2001. The Functional Significance of FSH in Spermatogenesis and the Control of Its Secretion in Male Primates. *Endocrine Reviews*, 22(6): 764-786.



PUSLITTAN., 2010. *Deskripsi Kedelai Varietas Argo Mulyo*, (Online), ([http://puslittan.bogor.net/index.php?bawaan=varietas/varietas\\_detail&komoditas=05025&id=Argo%20Mulyo&pg=1&varietas=1](http://puslittan.bogor.net/index.php?bawaan=varietas/varietas_detail&komoditas=05025&id=Argo%20Mulyo&pg=1&varietas=1)), diakses 20 Februari 2012).

Putra, A.P., 2009. *Efektifitas Pemberian Kedelai pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Bunting dan Menyusui terhadap Pertumbuhan dan Kinerja Reproduksi Anak Tikus Betina*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Patisaul, H.B., Marietta, D., Patricia, L.W., and Larry, J.Y., 2001. Soy Isoflavone Supplements Antagonize Reproductive Behavior and Estrogen Receptor a- and b-Dependent Gene Expression in the Brain. *Endocrinology*, 142: 2946-2952.

Rishi, R.K., 2002. Phytoestrogen in Health and Illness. *Indian Journal of Pharmacology*, 34: 311-320.

Rowland, I., Faugnan, M., Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G., and Cassidy, A., 2003. Bioavailability of Phyto-oestrogens. *The British Journal of Nutrition*, 89: 45-58.

Scanlon, V.C., and Sanders, T., 2007. *Essentials of Anatomy and Physiology*, 5<sup>th</sup> Ed. E.A. Davis Company, Philadelphia, p.456-462.

Setchell, K.D.R., Linda, Z.N., Jinnan, C., and James, E.H., 1998. Isoflavone Content of Infant Formulas and The Metabolic Fate of these Phytoestrogens in Early Life. *American Journal for Clinical Nutrition*, 68 (14):53-61.

Sanderson, J.T., Joost, H., Michael, S.D., Mark, F.S., Michael, H.N., and Martin, V.D.B., 2004. Induction and Inhibition of Aromatase (CYP19) Activity by Natural and Synthetic Flavonoid Compounds in H295R Human Adrenocortical Carcinoma Cells. *Toxicological Sciences*, 82: 70-79.

Sharpe, R.M., 1998. The Roles of Oestrogen in the Male. *Trends Endocrinology Metabolism*, 9:371-377.

Sierens, J., Hartley, J.A., Marion, C., Claire, L., and Jayne, W., 2002. In Vitro Isoflavone Supplementation Reduces Hydrogen Peroxide-Induced DNA

Damage in Sperm. *Journal Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 22: 227-234.

Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S., 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. U-I Press, Jakarta.

Staar, S., Dagmar, U.R., Josef, M., Volker, B., and Claudia, B., 2005. Stimulation of Endometrial Glandular Cells with Genistein and Daidzein and their Effects on ER- and ER-mRNA and Protein Expression. *Anticancer Research*, 25: 1713-1718.

Sugiyono. 2005. *Metode Penelitian Kualitatif*. Bandung: Alfabeta.

Suhaidi, I., 2003. *Pengaruh Lama Perendaman Kedelai dan Jenis Zat Penggumpal Terhadap Mutu Tahu*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Pertanian Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Sumatera Utara, Sumatera.

Suprpti, L., 2005. *Kembang dan Tahu Susu Kedelai*. Kanisius, Yogyakarta, Indonesia, hal.16-18.

Suryandari, D.A., Nukman, M., Mila, C., Puji, S., dan Yurnadi., 2006. Analisis Mikrodelesi Kromosom Y pada Pria Azoospermia di Indonesia. *Makara Kesehatan*, 10 (1):41-46.

Sutrisno, A., 2012. *Uji Kandungan Senyawa Isoflavon dan Morfologi Kalus Kedelai (Glycine max (L) Merr) dengan Penambahan Zpt 2,4 D pada Media MS*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Taylor, C.K., Robert, M.L., Jay, C.E., and Bruce, P.B., 2009. The Effect of Genistein Aglycone on Cancer and Cancer Risk: a Review of in Vitro, Preclinical, and Clinical Studies. *Nutrition in Clinical Care*, 67 (7): 398-415.

USDA., 2011. *Plants Profile*, (Online), (<http://plants.usda.gov/java/>, diakses 18 Desember 2011).

WBTi., 2010. *The State of Breastfeeding in 33 Countries*. IBFAN, Asia.



Whitten, P.L., and Heather, B.P., 2001. Cross-Species and Interassay Comparisons of Phytoestrogen Action. *Environmental Health Perspectives*, 109: 5-20.

World Health Organization., *Infertility*, (Online), (<http://www.who.int/topics/infertility/en/>, diakses 3 Desember 2012).

Wulandari, W., 2013. Efek Pemberian Ekstrak Kedelai Selama 3 Bulan pada Tikus Strain Wistar Jantan Lepas Sapih terhadap Kadar LH. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Yurnadi., 2001. *Pengaruh Pemberian Kombinasi Muira Puama (Ptychopetalum uncinatum L.), Damiana (Turnera aphrodisiaca L.), dan Siberian Ginseng (Eleutherococcus senticosus L.) (Triplete®) Terhadap Infertilitas Pada Pria*. Disertasi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.





Lampiran 1. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan One- Way Anova

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		FSH
N		20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	2.5257
	Std. Deviation	1.07745
Most Extreme Differences	Absolute	.116
	Positive	.116
	Negative	-.102
Kolmogorov-Smirnov Z		.520
Asymp. Sig. (2-tailed)		.950

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar FSH

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
1.213	3	16	.337

Analisis ragam

ANOVA

Kadar FSH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21.157	3	7.052	125.367	.000
Within Groups	.900	16	.056		
Total	22.057	19			

## Lampiran 2. Hasil Uji Tukey HSD

### Kadar FSH

Tukey HSD<sup>a</sup>

Dosis	N	Subset f or alpha = .05			
		1	2	3	4
Kontrol	5	1.2150			
Dosis I	5		1.9966		
Dosis II	5			2.9252	
Dosis III	5				3.9658
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



**Lampiran 3.** Hasil Analisis Regresi, Uji Koefisien Determinasi dan Korelasi

Analisis Regresi dengan SPSS for Windows ver 13.00

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.993	.178		5.593	.000
	X	.599	.050	.958	11.980	.000

a. Dependent Variable: Y

**Koefisien Determinasi dan Koefisien Korelasi**

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.958 <sup>a</sup>	.917	.911	.25989

a. Predictors: (Constant), X

**Koefisien Korelasi**

Korelasi	Kadar FSH	P Value	Keterangan
Dosis	0.958	0.000	Signifikan

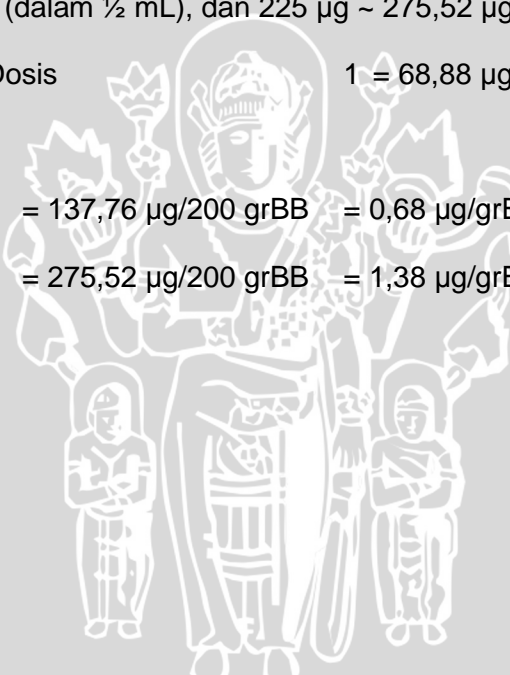


#### Lampiran 4. Perhitungan Dosis Genistein Ekstrak Kedelai

Untuk mendapatkan dosis genistein ekstrak kedelai dengan cara:

- a. 1 gr kedelai = 137,76 µg/mL genistein
- b. Dosis low genistein pada penelitian Glover *and* Assinder (2006) adalah 53,5 µg, sedangkan dosis high genistein adalah 225 µg genistein.
- c. Dari penentuan dosis genistein pada bab 4 didapatkan 53,5 µg ~ 68,88 µg (dalam ½ mL), dan 225 µg ~ 275,52 µg (dalam 2 mL).
- d. 

Dosis	1	=	68,88 µg/200 grBB	=	0,34 µg/grBB
Dosis	2	=	137,76 µg/200 grBB	=	0,68 µg/grBB
Dosis	3	=	275,52 µg/200 grBB	=	1,38 µg/grBB



### Lampiran 5. Dokumentasi



Serbuk Kedelai



Ekstrak Kedelai



Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan



Penyondean Tikus

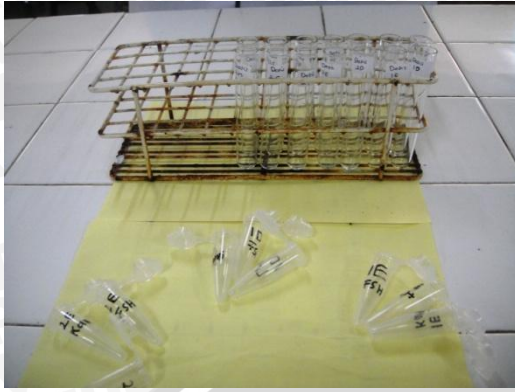


Anestesi Tikus dengan Chloroform



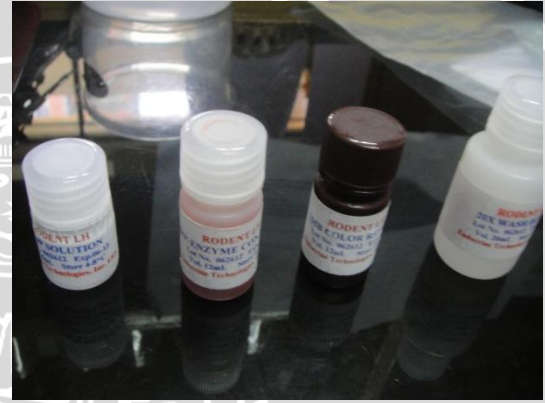
Pengambilan Darah Tikus





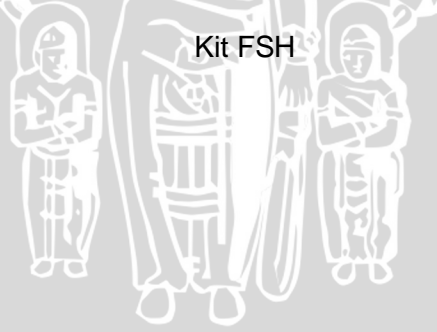
Alat dan Bahan Sentrifugasi Darah

Alat Sentrifugasi



Pemeriksaan kadar FSH

Kit FSH





Lampiran 6. Ethical Clearance



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
THE MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MEDICAL FACULTY BRAWIJAYA UNIVERSITY  
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
THE ETHICAL COMMITTEE MEDICAL RESEARCH  
Jalan Veteran Malang – 65145

Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 047 / EC / KEPK / 02 / 2013

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Efek Pemberian Susu Kedelai Sejak Fetus Hingga Dewasa Terhadap Fungsi Sistem Reproduksi (Fertilitas) Tikus Jantan Berdasarkan Hormon, Testosteron, FSH, LH, Jumlah Sperma dan Histo PA

Peneliti Utama	: Dr.dr.Nurdiana, M.Kes	NIP. 1955101598603 2 001
Anggota	: dr. Elly Mayangsari	NIP. 19840516200912 2 005
	dr. Bayu Lestari	NIP. 19860201201112 1 004
	Virginia A Nugroho	NIM. 0910710130
	Hanim Isyfi Fahmi	NIM. 0910711007
	Wahyu Wulandari	NIM. 0910711020
	Arif Luqman Hakim	NIM. 0910714028

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farkamakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK

Malang,

11 FEB 2013

Ketua,

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjud ES, SpS, SpBS, M.Hum

**Lampiran 7. Pernyataan Keaslian Tulisan**

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hanim Isyfi Fahmi  
NIM : 0910711007  
Program Studi : Program Studi Kedokteran Umum  
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Malang, Januari 2013

Yang membuat pernyataan,

(Hanim Isyfi Fahmi)  
NIM. 0910711007