

Pengaruh Pemberian Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn) dan Vitamin E terhadap Kadar Hormon Testosteron Serum dan Jumlah Sel Spermatogenik pada Tubuli Seminiferi Testis Tikus Jantan

S. ASTUTI¹, D. MUCHTADI², M. ASTAWAN², B. PURWANTARA³ dan T. WRESDIYATI⁴

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian,
Universitas Lampung. Jl. Prof Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35144

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
PO Box 220, Kampus IPB Darmaga Bogor 16002

³Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

⁴Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

(Diterima Dewan Redaksi 31 Oktober 2008)

ABSTRACT

ASTUTI, S., D. MUCHTADI, M. ASTAWAN, B. PURWANTARA and T. WRESDIYATI. 2008. Effect of isoflavone-enriched soybean flour, zinc (Zn) and vitamin E in the ration on testosterone level and total spermatogenic cell in seminiferous tubules of rat. *JITV* 13(4): 288-293.

The objective of this experiment are to evaluate the effects of isoflavone-enriched soybean flour, zinc (Zn) and vitamin E on testosterone level of male rats and total spermatogenic cells in the seminiferous tubules of rat testes as animal model. Diet was given as isonitrogen and isocaloric with 15% of dietary protein. Thirty male Sprague Dawley rats were divided into six groups and treated with isoflavone-enriched soybean flour, Zn and vitamin E in different combination. Isoflavone-enriched soybean flour (3mg/day) was given by oral administration, whereas Zn and vitamin E were mixed with the basic diet. The treatment was done for 2 month. Results indicated that complete treatment of isoflavone-enriched soybean flour, Zn and vitamin E on male rats increased testosterone level and total spermatogenic cells in comparison with single treatment and the other combination. The best results showed in the group that given isoflavone-enriched soybean flour with diet containing both Zn and vitamin E i.e; testosterone level 3.49 ± 0.31 ng/ml; while the number of spermatogonia, spermatocytes, early spermatids, late spermatids, and total spermatogenic cells were 37.56 ± 4.48 , 67 ± 4.72 , 287.11 ± 31.75 , 227.22 ± 29.78 , and 618.89 ± 47.38 , respectively. It was concluded that synergic interaction between isoflavone-enriched soybean flour, Zn and vitamin E increased testosterone level and total spermatogenic cells of rat testes.

Key Words: Isoflavone-Riched Soybean Flour, Zn, Vitamin E, Testosterone, Spermatogenic Cells

ABSTRAK

ASTUTI, S., D. MUCHTADI, M. ASTAWAN, B. PURWANTARA dan T. WRESDIYATI. 2008. Pengaruh pemberian tepung kedelai kaya isoflavon, seng (Zn) dan vitamin E terhadap kadar hormon testosteron serum dan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis tikus jantan. *JITV* 13(4): 288-293.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh tepung kedelai kaya isoflavon, seng (Zn) dan vitamin E terhadap kadar hormon testosteron serum dan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis tikus jantan. Ransum basal kasein diberikan secara isonitrogen dan isokalori dengan sumber protein ransum sebesar 15%. Tiga puluh ekor tikus jantan strain *Sprague Dawley* dibagi dalam enam kelompok dan mendapat perlakuan tepung kedelai kaya isoflavon, seng dan vitamin E dengan kombinasi yang berbeda. Tepung kedelai kaya isoflavon dengan dosis isoflavon 3 mg/ekor/hari diberikan secara oral, sedangkan Zn 6,14 mg/kg ransum dan vitamin E 100 mg/kg ransum dicampur dalam ransum standar kasein. Perlakuan diberikan selama dua bulan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian tepung kedelai kaya isoflavon, Zn dan vitamin E pada tikus jantan secara lengkap menghasilkan kadar hormon testosteron serum dan total sel spermatogenik lebih tinggi dibanding pemberian tunggal atau dua kombinasi diantaranya. Perlakuan terbaik adalah pemberian secara lengkap tepung kedelai kaya isoflavon dengan dosis isoflavon 3 mg/ekor/hari, Zn 6,14 mg/kg ransum, dan vitamin E 100 mg/kg ransum, yang menghasilkan kadar hormon testosteron serum $3,49 \pm 0,31$ ng/ml, serta jumlah sel spermatogonia, spermatosit, spermatid awal, spermatid akhir dan total sel spermatogenik masing-masing sebesar $37,56 \pm 4,48$; $67 \pm 4,72$; $287,11 \pm 31,75$; $227,22 \pm 29,78$; dan $618,89 \pm 47,38$. Disimpulkan bahwa interaksi secara sinergis antara tepung kedelai kaya isoflavon, seng (Zn) dan vitamin E mengakibatkan peningkatan kadar hormon testosteron serum dan total sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis.

Kata Kunci: Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn), Vitamin E, Testosteron, Sel Spermatogenik

PENDAHULUAN

Jumlah sel spermatogenik sangat tergantung pada aktivitas tubuli seminiferi yang dipengaruhi oleh sistem hormon, sehingga faktor endokrin mempunyai efek paling penting terhadap spermatogenesis. Testosteron yang disintesis sel *Leydig* diperlukan untuk berlangsungnya proses spermatogenesis pada tubuli seminiferi (JUNQUEIRA *et al.*, 1998). Apabila metabolisme sel *Leydig* terganggu atau sel *Leydig* tidak dapat memproduksi hormon testosteron secara optimal, maka kadar testosteron akan menurun. Gangguan spermatogenesis akibat kadar testosteron yang rendah menyebabkan peningkatan resiko terhadap rendahnya mutu spermatozoa yang dihasilkan, yaitu penurunan konsentrasi spermatozoa.

Testis sebagai tempat berlangsungnya spermatogenesis bersifat sangat rentan terhadap proses oksidasi oleh radikal bebas. Terdapatnya radikal bebas pada testis dapat mengubah kestabilan dan fungsi membran, akibat berlanjutnya peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid dilaporkan SANOCKA dan KURPIZS (2004) mengakibatkan gangguan spermatogenesis. Menurut SIKKA (2004), *radical scavenger* akan membersihkan radikal bebas pada jaringan-jaringan yang memproduksi spermatozoa. Sistem pertahanan tubuh yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas dipengaruhi oleh tersedianya zat-zat gizi yang berasal dari bahan pangan yang memiliki potensi sebagai antioksidan.

Kedelai dilaporkan memiliki sifat antioksidan. Isoflavon merupakan senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan dalam kedelai (TODA dan SIRATAKI, 1999). Struktur molekul isoflavon kedelai mirip dengan struktur molekul estrogen, sehingga kedelai dikenal sebagai fitoestrogen. Pengaruh konsumsi isoflavon terhadap hormon steroid telah diteliti MITCHELL *et al.* (2001). Dilaporkan bahwa pada pria umur 18-46 tahun, konsumsi produk olahan kedelai yang mengandung isoflavon pada dosis rendah (40-70 mg/h) tidak mempengaruhi hormon steroid. Sementara itu, FRITZ *et al.* (2003) menyatakan bahwa pemberian genistein (isolat isoflavon murni) pada dosis 5 mg/ekor/hari mengakibatkan terjadi penurunan aktivitas aromatase testis tikus.

Zn dan vitamin E juga berperan penting terhadap organ reproduksi pria. Zn diperlukan untuk perkembangan organ reproduksi pria dan proses spermatogenesis (TANEJA *et al.*, 1995). Sedangkan CORAH (1996) melaporkan peran Zn pada proses produksi, penyimpanan dan sekresi hormon testosteron. TAYLOR *et al.* (1988) menyatakan bahwa Zn juga berperan dalam mempertahankan integritas sel dan memainkan peran penting dalam stabilisasi biomembran. Di samping Zn, vitamin E dilaporkan juga mempengaruhi kualitas spermatozoa. Menurut LINDER

(2006), vitamin E merupakan agen pendorong/pemacu fertilitas, yaitu untuk menormalkan epitel pada tubuli seminiferi. Degenerasi epitel tubuli seminiferi akibat defisiensi vitamin E pada tikus jantan menyebabkan penghambatan spermatogenesis, menghentikan produksi sperma, dan degenerasi sel benih (BENSOUSSAN *et al.*, 1998; REGINA dan TRABER, 1999).

Tujuan penelitian adalah untuk mengevaluasi ada tidaknya efek sinergi antara tepung kedelai kaya isoflavon, Zn dan vitamin E terhadap kadar hormon testosteron dan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis tikus.

MATERI DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah tepung kedelai kaya isoflavon (TKI) dari perusahaan SoyLife Extra ORFFA BELGIUM NV, Ambachtsstraat 6-B-1840 LONDERZEEL; seng sulfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), dan dl- α -tokoferol asetat (Merck). Heksan digunakan untuk mengurangi lemak pada TKI sehingga diperoleh TKI rendah lemak (TKI-RL) (ASTUTI *et al.*, 2008).

Untuk studi *in vivo*, digunakan tikus strain *Sprague Dawley* (SD) jantan dan betina umur 21 hari dari PT Indoanilab Bogor. Bahan penyusun ransum adalah kasein, mineral mix, vitamin mix, minyak jagung, selulosa, air dan pati jagung/maizena. Pengukuran kadar hormon testosteron serum menggunakan KIT Testosteron. Bahan kimia untuk pembuatan preparat jaringan testis dan proses pewarnaan Hematoksin Eosin/HE antara lain NaCl, larutan fiksatif bouin, alkohol, xylol, parafin, hematoxylin, eosin, dan entellan.

Perlakuan hewan percobaan (*in vivo*) dan sampling

Percobaan menggunakan tikus putih jantan dan betina strain *Sprague Dawley* umur sapih (21 hari), masing-masing sebanyak 30 ekor. Setelah masa adaptasi di lingkungan laboratorium tempat percobaan selama satu minggu, tikus jantan dibagi dalam 6 kelompok perlakuan pakan, yaitu: (1) ransum basal kasein, cekok aquades (Kontrol/K), (2) ransum basal kasein; tanpa cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E (N-IZE), (3) ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL; tanpa Zn dan vitamin E (I-NZE), (4) ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan Zn; tanpa vitamin E (IZ), (5) ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan vitamin E; tanpa Zn (IE), dan (6) ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E (IZE).

Ransum basal kasein untuk tikus jantan dan betina disusun isonitrogen dan isokalori, kadar protein 15% modifikasi AOAC (1990) dan diberikan secara *ad libitum*. TKI-RL dengan dosis 3 mg ekor⁻¹ hari⁻¹ diberikan pada tikus jantan dengan cara dicekok menggunakan sonde

lambung, dengan melarutkan TKI-RL dalam 1 ml aquades. Pemberian TKI-RL pada tikus jantan secara *in vivo* dilakukan berdasarkan pengukuran kandungan total senyawa isoflavon TKI-RL. Hasil analisis dengan HPLC menunjukkan terdapat tiga komponen senyawa isoflavon yaitu daidzein, genistein, dan glisitein dengan kandungan total senyawa isoflavon sebesar 2,22 g/100 g bb (ASTUTI *et al.*, 2008). Pemberian Zn dan vitamin E dilakukan dengan mencampur Zn dan vitamin E ke dalam ransum. Pemberian Zn (elemental) sebesar 6,14 mg/kg ransum dihitung dari ZnSO₄·7H₂O sebesar 27 mg/kg ransum, sedangkan vitamin E yang ditambahkan adalah 100 mg/kg ransum. Perlakuan diberikan selama 2 bulan.

Pada akhir perlakuan, tikus jantan dikorbankan dengan dipatahkan tulang leher (*dislocasio cervicalis*). Kadar hormon testosteron serum diamati dari darah yang diambil pada bagian jantung. Bagian testis dikoleksi dan dilakukan pengamatan terhadap morfologi testis.

Analisis kadar hormon testosteron serum

Pengukuran konsentrasi hormon testosteron serum dilakukan dengan metode ¹²⁵I Radioimmunoassay (RIA) teknik fase padat menggunakan kit Coat A-Count Total Testosterone (Diagnostic Products Inc.). Prinsip kerja berdasarkan pada kompetisi antara testosteron serum dan testosteron berlabel ¹²⁵I untuk terikat pada antibodi yang spesifik terhadap hormon testosteron.

Untuk pengamatan terhadap kadar testosteron serum tikus jantan, darah diambil dari jantung pada pagi hari dengan menggunakan syringe steril sekali pakai, disimpan pada 5°C selama 2 jam, kemudian dilakukan pemisahan serum dengan menggunakan sentrifuge pada 5.000 rpm selama 15 menit. Serum dimasukkan tabung eppendorf dan disimpan -20°C sampai siap dianalisis.

Penghitungan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis (HE)

Organ testis dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9%, difiksasi dalam larutan Bouin selama 24 jam. Jaringan testis kemudian diproses dengan metode standar menggunakan parafin. Blok jaringan yang didapat dipotong ± 4 µm dan dilekatkan pada obyek glass, sehingga diperoleh potongan jaringan (sediaan). Selanjutnya dilakukan proses pewarnaan Hematoksin Eosin/HE menggunakan metode KIERNAN (1990). Jumlah sel spermatogenik pada tiap tahap perkembangan spermatogenesis dihitung pada sembilan tubuli seminiferi untuk tiap perlakuan.

Analisis data

Data diolah dengan sidik ragam menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk mengetahui

pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diuji. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, data yang menunjukkan pengaruh nyata selanjutnya diuji dengan Duncan Multiple Range Test (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar hormon testosteron serum dan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis

Rataan kadar hormon testosteron tikus setelah 2 bulan perlakuan disajikan pada Tabel 1, sedangkan rata-rata jumlah sel-sel spermatogenik tubuli seminiferi pada jaringan testis tikus perlakuan disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok IZE menghasilkan kadar hormon testosteron serum dan total sel spermatogenik paling tinggi secara nyata ($P < 0,05$) dibanding kelompok lain, sedangkan kadar hormon testosteron serum dan total sel spermatogenik terendah dihasilkan kelompok N-IZE. Tidak terlihat adanya perbedaan kadar hormon testosteron serum antara kelompok I-NZE, IZ, dan IE, dan tidak terlihat adanya perbedaan total sel spermatogenik antar kelompok K, I-NZE dan IZ. Total sel spermatogenik kelompok IE lebih rendah dibandingkan dengan IZE. Gambaran histologis sel spermatogonia, spermatosit, spermatid awal dan spermatid akhir pada tubuli seminiferi testis setiap perlakuan tersaji pada Gambar 1.

Kelompok N-IZE menghasilkan kadar hormon testosteron serum dan total sel spermatogenik paling rendah dan berbeda dibanding kelima kelompok perlakuan yang lain. Rendahnya kadar hormon testosteron pada kelompok N-IZE (Tabel 1) diduga menyebabkan gangguan terhadap proses spermatogenesis sehingga mengakibatkan rendahnya total sel spermatogenik (Tabel 2). Menurut HIDIROGLOU dan KNIPFEL (1984), defisiensi Zn mengakibatkan rendahnya produksi androgen. Dilaporkan bahwa pengaturan metabolik spermatozoa diperantarai oleh Zn sebagai regulator aktivitas enzim dalam semen. Defisiensi Zn juga mempengaruhi produksi dan sekresi testosteron (CORAH 1996); serta menyebabkan penurunan konversi testosteron ke dehidrotestosteron (DHT) (OTEIZA *et al.*, 1995). OM dan CHUNG (1996) menyatakan bahwa pengikatan Zn ke reseptor androgen seperti testosteron dan dehidrotestosteron terjadi melalui afinitas tinggi. Pada organ reproduksi tikus yang defisien Zn, proses pengikatan Zn ke reseptor androgen menjadi lebih rendah. Studi yang dilakukan HUNT *et al.* (1992) memperlihatkan bahwa defisiensi Zn secara langsung menurunkan jumlah sel *Leydig*, dan menghentikan proses spermatogenesis karena terjadinya penyusutan tubuli seminiferi dan reduksi sel *Leydig* (CHESTERS, 1997). Hasil tersebut sejalan dengan pendapat TANEJA *et al.* (1995), bahwa Zn diperlukan untuk proses

Tabel 1. Rataan kadar hormon testosteron tikus setelah 2 bulan perlakuan

| Ransum perlakuan | Kadar hormon testosteron (ng/ml) |
|---|----------------------------------|
| Ransum basal kasein, cekok aquadest (Kontrol/K) | 1,62 ± 0,14 ^b |
| Ransum basal kasein; tanpa cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E (N-IZE) | 1,00 ± 0,56 ^a |
| Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL; tanpa Zn dan vitamin E (I-NZE) | 2,40 ± 0,24 ^c |
| Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan Zn; tanpa vitamin E (IZ) | 2,61 ± 0,51 ^c |
| Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan Vitamin E; tanpa Zn (IE) | 2,81 ± 0,35 ^c |
| Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E (IZE) | 3,49 ± 0,31 ^d |

Keterangan : Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata (P<0,05)

Tabel 2. Rataan jumlah sel-sel spermatogenik tubuli seminiferi pada jaringan testis tikus perlakuan

| Perlakuan | Jumlah sel kelamin jantan | | | | |
|-----------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | Spermato-gonia | Spermatosit | Spermatid awal | Spermatid akhir | Total sel spermatogenik |
| K | 29,33 ± 7,11 ^b | 51,44 ± 6,41 ^b | 234,00 ± 23,14 ^b | 184,67 ± 22,42 ^{bc} | 499,44 ± 46,55 ^b |
| N-IZE | 19,33 ± 5,12 ^a | 43,44 ± 6,82 ^a | 201,78 ± 18,90 ^a | 134,56 ± 32,57 ^a | 399,11 ± 39,70 ^a |
| I-NZE | 31,11 ± 7,52 ^b | 54,22 ± 6,70 ^{bc} | 234,33 ± 26,69 ^b | 179,22 ± 47,35 ^{bc} | 498,89 ± 58,48 ^b |
| IZ | 31,89 ± 4,01 ^b | 54,78 ± 6,04 ^{bc} | 245,22 ± 28,36 ^b | 172,67 ± 40,50 ^b | 504,56 ± 27,90 ^b |
| IE | 32,67 ± 3,43 ^{bc} | 58,78 ± 7,14 ^c | 257,67 ± 32,62 ^b | 214,00 ± 32,82 ^{cd} | 563,11 ± 36,92 ^c |
| IZE | 37,56 ± 4,48 ^c | 67,00 ± 4,72 ^d | 287,11 ± 31,75 ^c | 227,22 ± 9,78 ^d | 618,89 ± 47,38 ^d |

Keterangan: Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata (P<0,05)

K = Ransum basal kasein, cekok aquadest (kontrol)

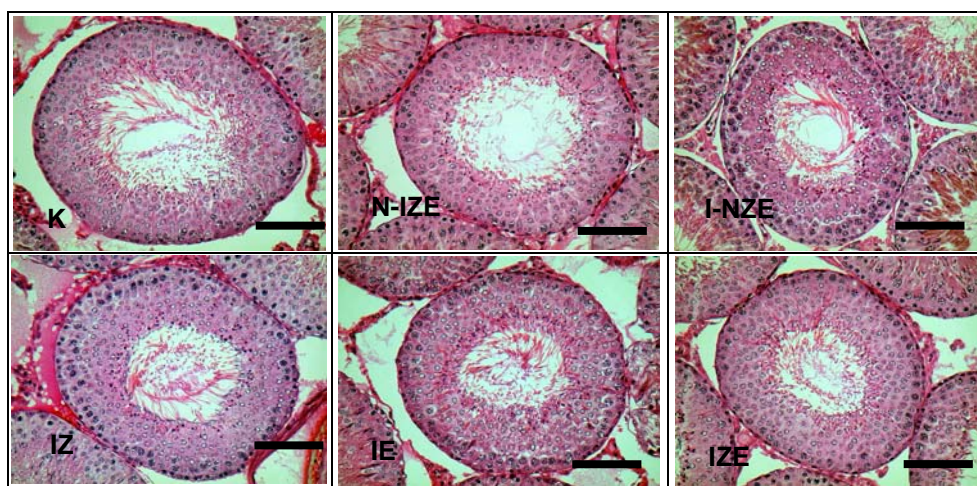
N-IZE= Ransum basal kasein tanpa cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E

I-NZE= Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL, tanpa Zn dan vitamin E

IZ = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan Zn, tanpa vitamin E

IE = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan vitamin E; tanpa Zn

IZE = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E



K = Ransum basal kasein, cekok aquadest (kontrol)

N-IZE = Ransum basal kasein; tanpa cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E

I-NZE = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL; tanpa Zn dan vitamin E

IZ = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan Zn; tanpa vitamin E

IE = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL dan vitamin E; tanpa Zn

IZE = Ransum basal kasein dengan cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E

Gambar 1. Fotomikrograf tubuli seminiferi pada testis tikus perlakuan (pewarnaan HE), skala = 50 µm

spermatogenesis. LEI *et al.* (1976) dalam OM dan CHUNG (1996) menyatakan bahwa pada tikus jantan umur 12 minggu yang diberi ransum defisien Zn selama 6 minggu, level FSH meningkat dan LH menurun. Penurunan LH menyebabkan sekresi testosteron terganggu sehingga mengakibatkan rendahnya kadar hormon testosteron. Lebih lanjut dilaporkan bahwa jika pakan defisien Zn, sel testis mampu mengangkut kolesterol yang merupakan prekursor hormon steroid, namun tidak mampu mengkonversinya menjadi hormon steroid sehingga menyebabkan tertahannya proses spermatogenesis.

Defisiensi vitamin E dilaporkan juga mampu menghambat proses spermatogenesis dan menyebabkan degenerasi sel benih (BENSOUSSAN *et al.*, 1998), serta mengakibatkan degenerasi epitel tubuli seminiferi dan menghentikan produksi spermatozoa sehingga menurunkan konsentrasi spermatozoa (REGINA dan TRABER, 1999). Secara bersama-sama, kurangnya asupan Zn dan vitamin E dalam ransum, dan tanpa perlakuan cekok TKI-RL pada kelompok N-IZE mengakibatkan penurunan kadar hormon testosteron sehingga diduga menyebabkan gangguan proses spermatogenesis dan berakibat pada penurunan total sel spermatogenik.

Secara umum, terlihat bahwa keempat kelompok tikus yang mendapat cekok TKI-RL (I-NZE, IZ, IE, IZE) menghasilkan kadar hormon testosteron lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan kelompok kontrol (hanya mendapat vitamin E dan Zn saja) maupun N-IZE (tidak mendapat TKI-RL, Zn maupun vitamin E). Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat FRITZ *et al.* (2003), yang menyatakan bahwa pemberian genistein (salah satu komponen senyawa isoflavon) dalam diet melalui jalur konsumsi secara normal sebesar 250 mg genistein/kg diet ($5 \text{ mg genistein e}^{-1} \text{ h}^{-1}$) menyebabkan penurunan aktivitas aromatase testis dan meningkatkan kadar hormon testosteron. Pengukuran terhadap aktivitas sitokrom P450 aromatase testis ditujukan untuk mengetahui kemampuan testis dalam mengkonversi androgen menjadi estrogen (HESS, 2003). Kelompok I-NZE, IZ, IE, dan IZE mendapat cekok TKI-RL pada dosis isoflavon 3 mg ekor¹ hari¹ (dihitung sebagai total isoflavon yang terdiri dari tiga komponen isoflavon yaitu genistein, daidzein dan glisitein). Walaupun FRITZ *et al.* (2003) melaporkan terjadi penurunan aktivitas aromatase testis tikus akibat pemberian genistein pada dosis 5 mg ekor¹ hari¹, namun mengingat dalam penelitian ini dosis isoflavon yang diberikan masih tergolong pada kategori rendah (3 mg ekor¹ hari¹), diduga pemberian TKI-RL pada dosis tersebut belum memperlihatkan gangguan terhadap perkembangan morfologi maupun proses spermatogenesis. Hal ini didukung oleh data jumlah sel spermatogenik kelompok I-NZE dan IZ yang tidak

berbeda nyata dengan kontrol, bahkan kelompok IZE menghasilkan jumlah sel spermatogenik tertinggi.

Pemberian tepung kedelai kaya isoflavon secara tunggal (I-NZE), isoflavon dengan Zn (IZ), Zn dan vitamin E saja (kontrol), atau isoflavon dengan vitamin E (IE) menghasilkan total sel spermatogenik yang lebih rendah dibanding kelompok tikus yang mendapat kombinasi ketiganya (IZE). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian tepung kedelai kaya isoflavon secara tunggal (I-NZE), isoflavon dengan Zn (IZ), Zn dan vitamin E saja (kontrol), atau isoflavon dengan vitamin E (IE) belum mampu mencegah oksidasi bagian sel yang penting, atau mencegah terbentuknya hasil peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh pada jaringan yang memproduksi spermatozoa, sehingga menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis. Proses peroksidasi lipid dilaporkan SANOCKA dan KURPIZS (2004) mengakibatkan gangguan spermatogenesis. Hal ini berakibat pada lebih rendahnya total sel spermatogenik keempat kelompok tersebut dibanding kelompok tikus yang mendapat kombinasi ketiganya (IZE).

Kelompok IZE yang mendapat kombinasi cekok TKI-RL, Zn dan vitamin E menghasilkan jumlah sel spermatogenik tertinggi sehingga memberikan pengaruh yang paling berarti terhadap perkembangan sel-sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis. Diduga, hal ini terjadi akibat tingginya kadar hormon testosteron kelompok IZE sehingga mendukung berlangsungnya proses spermatogenesis pada tubuli seminiferi (Tabel 1). Vitamin E diperlukan pada proses spermatogenesis untuk produksi spermatozoa (MACHLIN, 1991), serta menormalkan epitel pada tubuli seminiferi, tempat berlangsungnya proses spermatogenesis (LINDER, 2006). Proses spermatogenesis dapat terganggu apabila peroksidasi lipid terus berlanjut (SANOCKA dan KURPIZS, 2004). Vitamin E berperan memperlambat berlangsungnya reaksi peroksidasi karena mampu menangkap radikal bebas dan memutus rantai proses peroksidasi lipid di dalam membran dengan menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak (ALMATSIER, 2002; LANDVIK *et al.*, 2002).

Sebagai salah satu golongan flavonoid, isoflavon dilaporkan juga mempunyai kemampuan sebagai antioksidan dan mencegah peroksidasi lipid dengan cara menghentikan reaksi rantai radikal bebas pada oksidasi lipid. Aktivitas antioksidan flavonoid ditentukan oleh grup hidroksil dari masing-masing molekul yang mampu mendonorkan ion hidrogen (TODA dan SIRATAKI, 1999). Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan dan mencegah terjadinya kerusakan akibat radikal bebas, melalui mekanisme flavonoid untuk bertindak sebagai penangkap (*scavenger*) radikal bebas secara langsung (NIJVELDT *et*

al., 2001). Menurut SIKKA (2004), terdapatnya *radical scavenger* akan membersihkan radikal bebas pada jaringan-jaringan yang memproduksi spermatozoa. Peran isoflavon sebagai penangkap (*scavenger*) radikal bebas secara langsung, diduga mampu mencegah oksidasi sel testis atau mencegah terbentuknya hasil peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh pada jaringan yang memproduksi spermatozoa.

Terdapatnya efek sinergi antara vitamin E dan isoflavon diduga memperkuat kerja keduanya sebagai antioksidan fenolik sehingga mampu menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh pada fosfolipid membran sel testis, membantu mencegah akumulasi radikal bebas pada jaringan-jaringan yang memproduksi spermatozoa, serta melindungi fungsi spermatozoa. Hal ini juga didukung oleh peran Zn dalam mempertahankan integritas membran sel (CORAH, 1996) dan stabilisasi membran sel (TAYLOR *et al.*, 1988). Dengan terlindungnya sel testis dari proses oksidasi, maka diduga proses spermatogenesis menjadi tidak terhambat atau terganggu. Secara bersama-sama, kombinasi tepung kedelai kaya isoflavon, Zn dan vitamin E (IZE) memberikan efek sinergi yang lebih baik sehingga mampu meningkatkan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis.

KESIMPULAN

Terjadi interaksi secara sinergis antara tepung kedelai kaya isoflavon, Zn dan vitamin E pada tikus jantan yang mengakibatkan meningkatnya kadar hormon testosteron serum, serta jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis.

Pemberian tepung kedelai kaya isoflavon, Zn dan vitamin E pada tikus jantan secara lengkap menghasilkan kadar hormon testosteron serum dan total sel spermatogenik lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian tunggal atau dua kombinasi diantaranya. Perlakuan terbaik adalah pemberian secara lengkap: tepung kedelai kaya isoflavon dengan dosis isoflavon 3 mg e¹ h¹, Zn 6,14 mg/kg ransum, dan vitamin E 100 mg/kg ransum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Program Hibah Bersaing XIV DIKTI, Departemen Pendidikan Nasional RI.

DAFTAR PUSTAKA

ALMATSIER, S. 2002. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the AOAC. AOAC, Inc, Arlington, Virginia.

ASTUTI, S., D. MUCHTADI, M. ASTAWAN, B. PURWANTARA dan T. WRESDIYATI. 2008. Kadar peroksida lipid dan aktivitas superoksida dismutase (SOD) testis tikus yang diberi tepung kedelai kaya isoflavon, seng (Zn), dan vitamin E. *Majalah Kedokteran Bandung in press*.

BENSOUSSAN, K., C.R. MORALES and L. HERMO. 1998. Vitamin E deficiency causes incomplete spermatogenesis and affects the structural differentiation of epithelial cells of the epididymis in the rat. *J. Androl.* 19: 266-288.

CORAH L. 1996. Trace mineral requirement of grazing cattle. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 59: 61-70.

CHESTERS, J.K. 1997. Zinc. Di dalam B.L. O'DELL and R.A. SUNDE (Eds). *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 185-214.

FRITZ, W.A., M.S. COTRONEO, J. WANG, I.E. ELTOUM and C.A. LAMARTINIERE. 2003. Dietary diethylstilbestrol but not genistein adversely affects rat testicular development. *J. Nutr.* 133: 2287-2293.

HESS, R.A. 2003. Estrogen in the adult male reproductive tract: A review. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1: 52-53.

HIDROGLOU, M. and J.E. KNIPFEL. 1984. Zinc in mammalian sperm: A review. *J. Dairy. Sci.* 67: 1147-1156.

HUNT, C.D., P.E. JOHNSON, J.L. HERBEL and L.K. MULLEN. 1992. Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum testosterone concentrations, and sperm morphology in young men. *Am. J. Clin. Nutr.* 56:148-157.

JUNQUEIRA L.C., J. CARNEIRO and O.K. ROBERT. 1998. Histologi Dasar. Ed ke-8. Diterjemahkan Tambayong. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

KIERNAN, J.A. 1990. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. Pergamon Press. Oxford-England.

LANDVIK, S.V., A.T. DIPLOCK and L. PACKER. 2002. Efficacy of Vitamin E in Human Health and Disease. In: E. CADENAS and L. PACKER (Eds). *Handbook of Antioxidants*. Marcel Dekker, Inc. New York. p.75-90.

LINDER, M.C. 2006. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme. Diterjemahkan oleh A. Parakkasi. UI Press, Jakarta.

MACHLIN, L.J. 1991. Hand Book of Vitamin. Second Edition. Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc, New York.

MITCHELL, J.H., C. ELIZABETH, D. KINNIBOURGH, A. PROVAN, A.R. COLLINS and D.S. IRVINE. 2001. Effect of a phytoestrogen food supplement on reproductive health in normal males. *Clin. Sci.* 100: 613-618.

NIJVELDT, R.J., E. VAN NOOD, D.E.C. VAN HOORN, P.G. BOELEN, K. VAN NORREN and P.A.M. VAN LEEUWEN. 2001. Flavonoids: A review of probable mechanism of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 418-425.

- OTEIZA, P.I., K.L. OLIN, C.G. FRAGA and C.L. KEEN. 1995. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J. Nutr.* 125: 823-929.
- OM-AE-SON and K.W. CHUNG. 1996. Dietary zinc deficiency alters 5 α - reduction and aromatization of testosterone and androgen and estrogen receptors in rat liver. *J. Nutr.* 126: 842-848.
- REGINA, B.F. and M.G. TRABER. 1999. Vitamin E: Function and metabolism. *Faseb. J.* 13: 1145-1155.
- SANOCKA, D. and M. KURPISZ. 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2: 12.
- SIKKA, S.C. 2004. Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J. Androl.* 25: 5-18.
- TANEJA, S.K., S. CHADHA and P. ARYA. 1995. Lipid-zinc interaction: Its effect on the testes of mice. *Br. J. Nutr.* 73: 723-731.
- TAYLOR, C.G., W.J. BETTGER and T.M. BRAY. 1988. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *J. Nutr.* 118: 613-621.
- TODA, S. and Y. SHIRATAKI. 1999. Inhibitory effect of isoflavones on lipid peroxidation by reactive oxygen species. *Phytother. Res.* 13: 163-165.