

Abdul Gofur | Sri Rahayu Lestari | Agung Witjoro

PERAN TEMPE KEDELAI HITAM DAN UBI JALAR UNGU PADA KARAKTER FISIOLOGI REPRODUKSI PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2



Monograf

**PERAN TEMPE KEDELAI HITAM DAN UBI JALAR UNGU
PADA KARAKTER FISILOGI REPRODUKSI PENDERITA
DIABETES MELITUS TIPE 2**

Penyusun :

Dr. Abdul Gofur, M.Si

Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si

Agung Witjoro, S.Pd, M.Kes

Staf Pengajar Jurusan Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Malang

Editor :

Dr. Umie Lestari, M.Si

Desain Cover dan Layout:

Melati Insani Putri, S.Pd

Mochammad Fitri Atho'illah, S.Si, M.Si

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena dengan rahmat-Nya penulis mampu menyelesaikan monograf yang berjudul ***Peran Kedelai Hitam Dan Ubi Jalar Ungu Pada Karakter Fisiologi Reproduksi Penderita Diabetes Melitus Tipe 2***. Penulisan monograf ini bertujuan untuk memberikan informasi bagi peneliti dan masyarakat yang ingin memanfaatkan tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu sebagai menu alternatif bagi penderita diabetes.

Monograf disusun berdasarkan karya-karya hasil penelitian eksperimental penulis di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Manusia, FMIPA Universitas Negeri Malang. Isi monograf dilengkapi dengan data yang didapatkan dari hasil penelitian dan gambar mekanisme regulasi yang terjadi pada tubuh sehingga dapat meningkatkan pemahaman tentang regulasi penyakit diabetes dan penanganannya.

Ucapan terima kasih penulis tujukan pada Dr. Umie Lestari, M.Si selaku editor monograf, Mochammad Fitri Atho'illah, S.Si, M.Si dan Eka Pratama Putri, S.Si. yang membantu persiapan penyusunan monograf. Semoga monograf ini bermanfaat bagi para pembacanya.

Malang, Mei 2019

Dr. Abdul Gofur, M.Si

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Metode Pemecahan Masalah	7
BAB II TEMPE KEDELAI HITAM DAN UBI JALAR UNGU SEBAGAI KANDIDAT PANGAN FUNGSIONAL	9
A. Kedelai Hitam (<i>Glycine max</i> (L.) Merril.)	9
B. Kedelai Hitam Sebagai Bahan Baku Tempe	12
C. Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.)	14
D. Kombinasi Tempe Kedelai Hitam dan Ubi Jalar Ungu Sebagai Pangan Fungsional.....	17
D. Nutrigenomik dan Prospeknya Dimasa Depan.....	24
BAB III SISTEM REPRODUKSI TIKUS.....	27
A. Tikus Putih Jantan (<i>Rattus Novregicus</i>).....	27
B. Regulasi Hormon Testosteron	28
C. Spermatogenesis	32
D. Kualitas Sperma	33

BAB IV PERAN KEDELAI HITAM DAN UBI JALAR UNGU DALAM PERBAIKAN KARAKTER FISILOGI REPRODUKSI DAN STATUS ANTIOKSIDAN PADA TIKUS MODEL DMT2	35
A. Peningkatan Berat Testis dan Indeks Testis Tikus DMT2 ...	35
B. Perbaikan Karakter Fisiologi Reproduksi	36
C. Pengukuran Kadar Testosteron.....	40
D. Status Radikal Bebas Testis Pada Tikus Model DMT2	43
 BAB V PENUTUP	 46
 DAFTAR RUJUKAN	 48
GLOSSARIUM.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Perbandingan kadungan senyawa kimia kedelai hitam dengan kedelai varietas kuning	10
2.2	Kandungan gizi tempe	13
2.3	Kandungan ubi jalar ungu	16

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Kedelai Hitam	9
2.2 Struktur Daidzen dan Genistein	11
2.3 Tempe Kedelai Hitam	12
2.4 Struktur senyawa turunan Daidzein dan Genistein	13
2.5 Ubi jalar ungu	14
2.6 Struktur Antosianin	16
2.7 Mekanisme scavenging radikal bebas oleh Antosianin ..	17
2.8 Tempe Kedelai Hitam	18
2.9 Tempe Kedelai Hitam dengan variasi rempah	21
2.10 Kandungan isoflavon	23
2.11 Kandungan antosianin	23
3.1 Morfologi tikus putih	26
3.2 Jalur signaling Testosteron	28
3.3 Hubungan antara sel sertoli dengan sel germ	31
3.4 Faktor ferilitas sperma	32
3.5 Hubungan nutrisi, kesehatan dan penyakit	33
4.1 Kadar glukosa darah tikus	36
4.2 Rerata berat badan tikus	38
5.1 Berat testis dan indeks testis	40
5.2 Kualitas spermatozoa tikus DMT2	44
5.3 Kadar testosteron	46
5.4 Mekanisme intervensi isoflavon dalam sintesis testosteron	47
5.5 Intensitas AGE-RAGE	48

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemik (Ozougwu dkk., 2013). Hiperglikemik merupakan kondisi tingginya kadar glukosa dalam darah. Hiperglikemik dapat disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, kinerja insulin, atau keduanya. Hormon insulin diketahui berfungsi menjaga homeostasis glukosa darah dalam tubuh (Tokarz dkk., 2018). Terdapat dua tipe penyakit diabetes yaitu DM tipe 1 (DMT1) yang diakibatkan oleh kurangnya sekresi insulin dan DM tipe 2 (DMT2) yang diakibatkan oleh kelainan respon tubuh pada insulin (Takada, 2008). Penyebab utama penyakit DM adalah kelainan metabolisme lipid, protein dan karbohidrat. Penyakit DMT1 merupakan penyakit autoimun sedangkan DMT2 dipengaruhi oleh kebiasaan hidup yang tidak sehat, seperti mengonsumsi makanan tinggi lemak dan karbohidrat, merokok, kurangnya aktivitas fisik, konsumsi alkohol (Wu dkk., 2014), usia, obesitas dan genetik (Prabhu, 2013).

Prevalensi DM sangat cepat meningkat diseluruh dunia, diperkirakan antara tahun 1980 sampai 2014 terjadi kenaikan dari 108 juta menjadi 422 juta pada penderita diabetes (WHO, 2017). Diabetes melitus umumnya terjadi pada negara yang berpendapatan rendah dan menengah. 1.6 juta jiwa meninggal dikarenakan penyakit diabetes pada tahun 2015 (WHO, 2017). Prevalensi penyakit diabetes di Indonesia

sangat tinggi, mencapai 10.276.100 jiwa pada tahun 2017, dan jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat (IDF,2017). Kasus penyakit DM di Indonesia meningkat dua kali lipat terhitung antara tahun 1995 hingga 2000 dari 4.5 juta jiwa menjadi 8.4 juta jiwa. Fatimah (2015) menyatakan bahwa 95% penyakit DM di Indonesia adalah DMT2, sehingga perlu adanya upaya preventif dan penerapan diet sehat untuk mencegah progresifitas DMT2 dan komplikasinya. Peningkatan prevalensi DM diakibatkan kurangnya kesadaran masyarakat Indonesia terhadap gaya hidup sehat.

Hiperglikemia dapat memicu peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas yang berlebih akan bersifat toksik dan mengakibatkan stress oksidatif. (Chaiyasut dkk., 2011). Stres oksidatif adalah peningkatan kecepatan kerusakan sel akibat dari ketidakseimbangan antara radikal bebas yang dihasilkan dengan sistem penangkapan radikal (antioksidan endogen). Stres oksidatif ditandai peningkatan aktivitas peroksidasi lipid (malondialdehid) dan *Reactive oxygen species* (ROS). Kerusakan oksidatif dapat menyebabkan komplikasi pada penderita diabetes karena radikal bebas dapat menginisiasi perusakan jaringan tubuh.

Konsumsi makanan tinggi lemak dan karbohidrat menyebabkan sel β pankreas mensekresi insulin lebih banyak, sehingga kadar insulin darah meningkat (hiperinsulinemia). Hipersinsulinemia mengakibatkan sel target insulin akan menurunkan ekspresi reseptor insulin (*insulin receptor*/IR) sehingga terjadi resistensi insulin. Keberlanjutan hal tersebut mengakibatkan *down regulation* protein *glucose transporter 4*

(GLUT-4) dan penurunan aktivitas enzim glikogen sintase sehingga kadar glukosa darah meningkat (Nugroho, 2006).

Hiperglikemia yang diakibatkan oleh resistensi insulin menyebabkan glukosa membentuk suatu ikatan kovalen dengan protein plasma. Ikatan tersebut melalui proses non-enzimatik dalam reaksi Maillard yang menghasilkan suatu produk yang disebut *Advanced Glycation End-products* (AGE) (Singh dkk., 2014). Interaksi antara AGE dan reseptornya, yaitu *receptor for AGE* (RAGE) dapat memicu perubahan signaling intraseluler, ekspresi gen, dan berbagai komplikasi diabetes (Ahmed, 2005; Singh dkk., 2014). Interaksi AGE-RAGE mengaktifkan berbagai transduksi signal dan *downstream pathway* yang mencakup pembentukan *reactive oxygen spesies* (ROS) (Tan dkk., 2007)

Kadar glukosa darah yang tinggi pada penderita DMT2 juga dapat disebabkan oleh semakin mundurnya fungsi sel β pankreas. Penurunan jumlah sel β pankreas dikaitkan dengan adanya apoptosis. Penderita obesitas dengan glukosa puasa terganggu dan DMT 2 mengalami penurunan jumlah massa sel β sekitar 50-63% dibandingkan dengan orang yang tidak mengalami diabetes. Temuan mengenai pengurangan massa sel β pada DMT 2 akibat karena adanya apoptosis yang berlebihan. Fungsi sel β pankreas yang menurun secara bertahap memengaruhi massa sel menuju keadaan diabetes dan memperburuk kontrol glikemik secara progresif. Keadaan tersebut terjadi karena

ketidakseimbangan antara replikasi dan apoptosis pada sel β pankreas (Lupi and Prato, 2008).

DM dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada berbagai aspek, salah satunya mempengaruhi fungsi reproduksi jantan. Dampak yang merugikan dapat terjadi pada kontrol endokrin spermatogenesis dengan menurunkan ereksi dan mempercepat ejakulasi. Ricc dkk., (2009) menyatakan diabetes dapat mengurangi volume air mani, penurunan vitalitas dan motilitas spermatozoa, tetapi tidak perubahan viskositas seminal. Kadar glukosa yang tinggi mempengaruhi kualitas sperma dan menurunkan potensi kesuburan laki-laki (Agbaje dkk., 2007). Menurut Giribabu dkk, 2014 menyatakan diabetes menurunkan aktivitas enzim antioksidan dan fruktosa dalam semen mempengaruhi aksis hipotalamus-hipofisis-gonad (Akram dkk., 2015) sehingga terjadi penurunan kadar *luteinizing hormone* (LH), *follicle stimulating hormone* (FSH) dan testosteron Pada tikus yang diinduksi diabetes juga menunjukkan adanya produk akhir glikosilasi non enzimatik berupa *N ϵ -carboxymethyl-lysine* (CML). CML ditemukan pada testis, epididimis, dan sperma dan memicu terjadinya stress oksidatif, disfungsi seluler dan kerusakan organ sehingga menimbulkan gangguan reproduksi.

Antioksidan dapat digunakan sebagai terapi penyakit DM. Menurut Nurmamulyosari dkk., (2013) antioksidan dapat meningkatkan produksi *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) sehingga mengurangi kadar gula darah. Antioksidan bekerja dengan cara melindungi sel dari ROS yang telah terbentuk di mitokondria. Senyawa antioksidan berpotensi untuk menanggulangi proses oksidasi sehingga

dapat digunakan untuk mengurangi dampak negatif radikal bebas. Penelitian yang dilakukan oleh Sabuluntika dan Ayustaningwarno (2013) menyatakan bahwa pada tikus yang dibuat DM aktivitas antioksidan endogen berupa *superoxide dismutase* (SOD) sangat rendah jika dibandingkan dengan tikus normal. Oleh karena itu diperlukan antioksidan tambahan dari luar (*eksogen*). Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari bahan makanan yang dikonsumsi. Bahan yang mengandung antioksidan tinggi adalah kedelai hitam dan ubi jalar ungu. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Ariani dkk., (2013) antioksidan dapat meningkatkan kadar SOD tikus DM yang diinduksi dengan streptozotocin.

Antioksidan yang terkandung dalam kedelai hitam adalah isoflavon sedangkan pada ubi jalar ungu adalah antosianin. Menurut Gofur dkk., (2018) antioksidan pada kedelai hitam dapat menurunkan kadar glukosa darah sekaligus mempunyai kemampuan memperbaiki kualitas spermatozoa pada mamalia. Pada 100 gram ubi jalar ungu aktivitas antioksidan sebesar 52, 25% (Husna dkk., 2013). Antosianin memiliki keterserapan yang baik didalam tubuh. Senyawa antioksidan pada kedelai dan tempe memiliki perbedaan karena pengaruh fermentasi pada kedelai oleh mikroorganisme.

Senyawa yang terisolasi dari kedelai yang difermentasi oleh jamur berfilamen menunjukkan beberapa fungsi bioaktif. Esaki dkk., (1996) melaporkan bahwa asam 3-hydroxyanthranilic (HAA) memiliki

kemampuan antioksidan lebih tinggi dari vitamin E pada konsentrasi yang sama. Beberapa antioksidan, seperti 6-hydroxydaidzein (6-OHD), asam 2,3-Dihydroxybenzoic (2,3-DHBA), 8-hydroxydaidzein (8-OHD), dan 8-hydroxygenistein (8-OHG) merupakan turunan dari daidzein dan genistein yang berasal dari fermentasi kedelai. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sabuluntika dan Ayustaningwarno (2013) kandungan antosianin pada ubi jalar ungu mampu menurunkan aktivitas glukosa darah. Penurunan glukosa darah tersebut dengan cara meningkatkan kerja reseptor insulin, memperbaiki status antioksidan dengan menekan produksi MDA sebagai penanda stres oksidatif, serta memperbaiki level superoksida dismutase (SOD) dan katalase sebagai enzim antioksidan pada tikus diabetes.

Dengan demikian kedelai hitam dan ubi jalar ungu sangat cocok untuk dijadikan menu diet sehat bagi penderita DM karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan kadar glikemik rendah.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah yang akan diangkat pada tulisan ini adalah Bagaimana peran kombinasi ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine max* (L.) Merril) dan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) terhadap perbaikan karakter fisiologi reproduksi pada tikus model DMT2.

Tujuan dari penulisan ini adalah mengkaji peran kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu sebagai prototip kandidat pangan sehat berbasis nutrigenomik bagi penderita DMT2

C. Metode Pemecahan Masalah

Metode pemecahan masalah pada tulisan ini adalah melalui penelitian eksperimental. Hasil penelitian kemudian dikaitkan dengan beberapa hasil penelitian dari artikel dengan topik yang terkait. Beberapa artikel hasil penelitian tentang kedelai hitam dan ubi jalar ungu serta pengaruhnya terhadap diabetes dan fisiologi reproduksi dikumpulkan dari penerbit publikasi untuk dijadikan sumber rujukan.

Pada penulisan ini akan mengkaji beberapa hal mengenai karakteristik reproduksi dan perbaikan sistem reproduksi berdasarkan dengan hasil penelitian dan didukung dengan teori dari beberapa hasil penelitian lain yang berhubungan. Hal-hal yang akan dikaji untuk melihat karakteristik reproduksi dan perbaikan sistem reproduksi adalah 1) menganalisis karakteristik dan morfologi sperma; 2) pengukuran kadar testosteron, 3) membuat preparat testis dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin; dan 4) membuat preparat IHK untuk menganalisis ekspresi AGE dan RAGE testis.

Penulisan ini diharapkan dapat menambah atau melengkapi informasi tentang potensi kedelai hitam dan ubi jalar ungu untuk terapi DM khususnya pada sistem reproduksi mamalia bahwa kedua bahan alam tersebut dapat dijadikan sebagai agen protektif sistem reproduksi. Informasi ini nantinya diharapkan banyak digunakan oleh pemerintah dan masyarakat bahwa tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dapat dijadikan menu alternatif diet sehat bagi penderita DM.

BAB II

TEMPE KEDELAI HITAM DAN UBI JALAR UNGU SEBAGAI KANDIDAT PANGAN FUNGSIONAL

A. Kedelai Hitam (*Glycine max* (L.) Merril.)



Gambar 2.1 Kedelai Hitam

Kedelai hitam merupakan salah satu varietas kedelai asli Asia Tenggara dan tergolong dalam famili *Leguminosae*. Klasifikasi kedelai hitam adalah sebagai berikut (Backer & van den Brink).

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Genus : *Glycine*
Spesies : *Glycine max* (L.) Merril.

Kedelai hitam kembali mendapatkan popularitasnya secara lokal. Kedelai hitam memiliki keunggulan yaitu kandungan protein tinggi dan berdaya hasil tinggi. Dengan demikian akan memiliki kemampuan adaptasi yang baik (Adie, 2009). Warna hitam tersebut

disebabkan adanya kandungan antosianin yang memiliki beberapa manfaat terapi. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Xu dan Chang (2007) menunjukkan bahwa kedelai hitam mengandung zat fenolik, tanin, isoflavon yang lebih tinggi dari pada kedelai varietas lain. Perbandingan kandungan senyawa kimia pada kedelai hitam dan kedelai varietas lain dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Perbandingan kandungan senyawa kimia pada kedelai hitam dan kedelai varietas kuning.

No	Komposisi	Kadar		
		Mallika	Grobogan	Impor
1	Kadar air (%)	10,57 ± 0,17	11,30 ± 0,37	11,09 ± 0,11
2	Kadar protein (%)	39,09 ± 0,11	42,32 ± 0,77	37,84 ± 0,35
3	Kadar lemak (%)	14,47 ± 0,22	16,2 ± 0,78	19,31 ± 0,17
4	Kadar abu (%)	4,12 ± 0,05	4,06 ± 0,14	4,46 ± 0,14
5	Kadar antosianin (mg/100 g)	222,49 ± 22,62	Tt	tt
6	Asam lemak (mg/100 g):			
	a. Asam palmitat	2,77 ± 0,18	3,85 ± 0,33	4,07 ± 0,32
	b. Asam stearat	509,67 ± 15,52	523,6 ± 16,52	472,86 ± 31,71
	c. Asam oleat	1586,85 ± 35,68	1273,72 ± 37,20	1278,13 ± 41,52
	d. Asam linoleat	1984,92 ± 60,62	1792,39 ± 57,84	1824,62 ± 67,93
	e. Asam linolenat	238,67 ± 14,56	327,58 ± 10,03	258,88 ± 10,99
7	Kadar isoflavon:			
	a. Genistein (mg/g)	0,65 ± 0,07	0,40 ± 0,01	0,89 ± 0,06
	b. Daidzein (mg/g)	3,67 ± 0,41	2,27 ± 0,21	2,40 ± 0,08

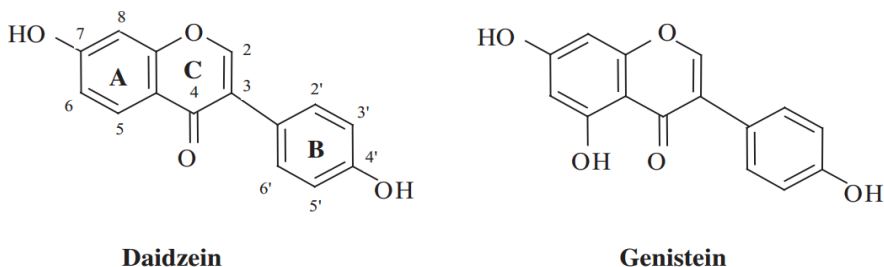
Sumber: Nurrahman, 2015

Berdasarkan Tabel 2.1 dapat diketahui bahwa kedelai varietas Grobogan merupakan kedelai kuning lokal mempunyai kandungan protein dan asam linolenat paling tinggi dibandingkan varietas lain. Kedelai hitam varietas Mallika memiliki kandungan isoflavon, asam oleat, dan linoleat paling tinggi dibandingkan varietas yang lain. Kelebihan dari kedelai hitam mengandung antosianin, senyawa ini tidak dimiliki oleh kedelai kuning baik varietas Grobogan maupun impor (Nurrahman, 2015). Kadungan antioksidan pada kedelai hitam

dapat menurunkan kadar glukosa darah, memperbaiki kualitas sperma mamalia, dan menekan ROS (Gofur dkk., 2018).

Isoflavon pada kedelai hitam umumnya berupa daidzein dan genistein. Daidzein dan genistein merupakan antioksidan kuat yang dapat meredam aktivitas radikal bebas didalam tubuh. Isoflavon selain dapat menurunkan glukosa juga memiliki efek biologis lain yaitu memperbaiki sistem reproduksi jantan model hiperkolesterolemia (Gofur dan Lestari, 2006). Isoflavone dalam kedelai terkonjugasi dengan glukosa menjadi glikosida. Struktur utama dari isoflavon adanya 2 cincin aromatik yaitu cincin A dan B yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik yaitu cincin C (Gilbert dan Liu, 2012). Struktur daidzein dan genistein dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa genistein mampu mengurangi resistensi insulin dengan cara memperbaiki kinerja dari sel β pankreas pada penderita diabetes, meningkatkan enzim antioksidan, menurunkan kadar ROS dan lipoperoksida, mengembalikan kadar iNOS dan eNOS, (Kim & Lim, 2013; Wang dkk., 2013) dan mampu meredam AGE pada tikus hipertensi (Wu dkk., 2011).



Gambar 2.2. Struktur Daidzein dan Genistein

B. Kedelai Hitam Sebagai Bahan Baku Tempe



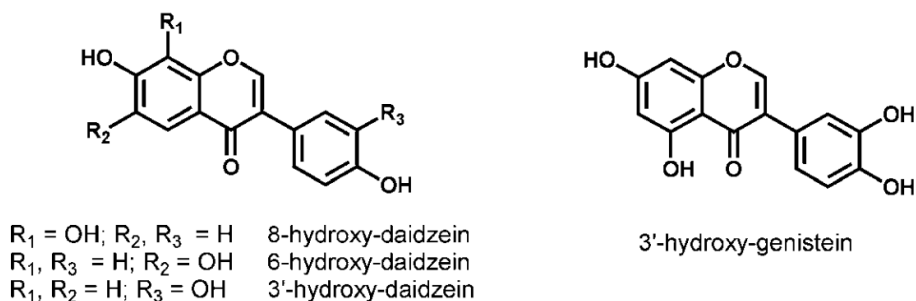
Kedelai dapat dijadikan sebagai bahan olahan makanan contohnya adalah tempe. Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang dibuat dengan cara fermentasi menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus* maupun *Rhizopus*

Gambar 2.3 Tempe kedelai hitam *oryzae*.

Tempe yang dikonsumsi masyarakat berbahan baku dari kedelai kuning. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa kedelai hitam memiliki kandungan antioksidan lebih tinggi dari kedelai dengan varietas kuning, oleh karena itu kedelai hitam sangat baik jika digunakan sebagai bahan baku tempe. Tempe mengandung protein yang relatif tinggi. Protein yang terkandung pada tempe mencapai 40% dari masa kering. Tempe dapat digunakan sebagai pengganti daging pada orang vegetarian.

Kedelai hitam yang diolah menjadi tempe tidak mengurangi kandungan antioksidan didalamnya, menurut penelitian yang dilakukan oleh Nakajima dkk., (2005) kandungan antioksidan pada tempe lebih tinggi dan lebih banyak jenisnya. Hal tersebut dikarenakan aktivitas organisme pada saat fermentasi tempe. Beberapa jenis antioksidan turunan isoflavin yang ditemukan dalam tempe adalah 3-hydroxyanthranilic (HAA) (Esaki dkk., 1996), 6-hydroxydaidzein (6-

OHD), asam 2,3-Dihydroxybenzoic (2,3-DHBA), 8-hydroxydaidzein (8-OHD), dan 8-hydroxygenistein (8-OHG) (Cheng dkk., 2011). Struktur senyawa turunan daidzein dan genistein dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur kimia beberapa senyawa turunan daidzein dan genistein.
 Sumber: Rufer & Kulling, 2006.

Proses fermentasi pada tempe menyebabkan beberapa keunggulan dibandingkan kedelai, misalnya adalah zat gizi, daya cerna protein, kandungan asam amino esensial yang lebih tinggi, zat anti gizi rendah, dan asam fitat yang rendah dibandingkan kedelai (Nurrahman dan Nurhidajah, 2015). Kandungan gizi antara kedelai dan tempe tertera pada Tabel 2.2. enzim yang dihasilkan oleh kapang selama proses fermentasi tempe akan mengubah lemak, protein dan zait gizi lainnya menjadi molekul yang lebih sederhana, sehingga dapat dengan mudah dicerna dan diserap oleh tubuh (Astawan, 2004).

Tabel 2.2. Kandungan gizi tempe

Kandungan gizi	Kedelai	Tempe
Air (g)	12,7	55,3
Abu (g)	5,3	1,6
Protein (g)	40,3	20,7

Kandungan gizi	Kedelai	Tempe
Lemak (g)	16,7	8,8
Karbohidrat (g)	24,9	13,5
Serat (g)	3,2	3,2

Sumber: Sapuan dan Soetrisno, 1996

C. Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.)



Gambar 2.5 Ubi jalar ungu

Ubi jalar ungu termasuk tanaman herba yang berasal dari amerika selatan, akan tetapi ubi jalar juga dapat tumbuh di Asia dan Australia. Menurut Backer & van den Brink (1963) klasifikasi tanaman ubi jalar ungu adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
 Divisi : Sagnoliopsida
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Solanales
 Famili : Convolvulaceae
 Genus : Ipomea
 Spesies : *Ipomoea batatas* (L.)

Ubi jalar ungu adalah salah satu varietas ubi jalar yang banyak ditanam di Indonesia. Ubi jalar ungu mengandung vitamin B, C, dan E

yang cukup tinggi, tidak hanya itu ubi jalar ungu juga mengandung serat dan berbagai mineral yaitu Ca, Mg, K dan Zn. Ubi jalar ungu memiliki indeks glikemik yang rendah yakni sebesar 44. Sehingga apabila dikonsumsi tidak menaikkan kadar gula darah secara signifikan. Oleh karena itu ubi jalar ungu dapat dikatakan aman apabila dikonsumsi oleh penderita DM. Umbi ketela ungu mengandung antosianin 110-210 mg per 100 gram basah (Jawi dkk., 2008). Antosianin adalah suatu jenis polifenol grup flavonoid yang dikenal sebagai antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa selain sebagai antioksidan, antosianin juga mempunyai efek antidiabetik, anti-kanker dan anti-inflamasi (Shipp, 2010; Wrolstad, 2001).

Kandungan antioksidan tertinggi pada ubi jalar ungu adalah antosianin. struktur antosianin dapat dilihat pada gambar 2.5. Antosianin merupakan pigmen yang membuat ubi jalar menjadi berwarna ungu. Semakin pekat warna ubi jalar ungu maka semakin banyak pula kandungan antosianin. Antosianin adalah kelompok pigmen yang menyebabkan warna kemerah-merahan, letaknya didalam cairan sel yang bersifat larut dalam air (Nollet, 1996). Antosianin termasuk antioksidan kuat. Kandungan ubi jalar ungu disajikan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kandungan ubi jalar ungu

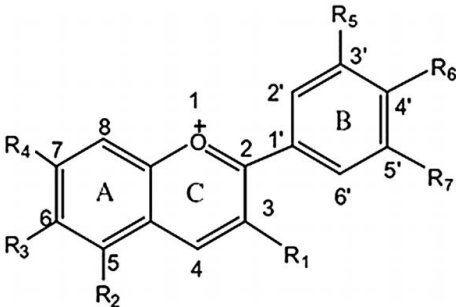
No	Komposisi	Jenis ubi jalar	
		Ungu pekat	Ungu muda
1	Kadar air (%)	64,5	55,23
2	pH	6,69	7,00
3	Padatan terlarut (%)	4,00	5,00
4	Aktivitas antosianin (mg)/100 g	3,51	61,85
5	Aktivitas antioksidan (%)	56,64	59,25

(Sumber : Husna dkk., 2013)

Kandunga antosianin pada ubi jalar ungu sangat menarik untuk dikaji mengingat manfaatnya yang begitu besar. Masyarakat sudah menyadari bahwa bahan pangan selain memiliki cita rasa menarik juga harus memiliki fungsi fisiologis. Antosianin adalah kelompok pigmen yang menyebabkan warna kemerah-merahan, letaknya didalam cairan sel yang bersifat larut dalam air (Nollet, 1996) Antosianin dapat menstabilkan radikal bebas dan menjadikannya inaktif dengan cara mendonorkan ion H⁺ yang berasal dari gugus hidroksil pada cincin fenoliknya (Gambar 2.6) (Nimse & Pal, 2015) dengan persamaan sebagai berikut:

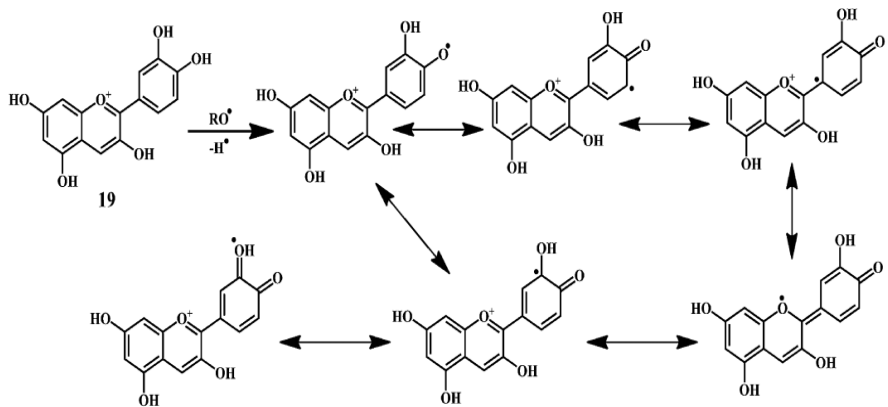


(Nijveltd, et al., 2001).



Gambar 2.6. Struktur kimia antosianin.

Sumber: Nimse & Pal, (2015).



Gambar 2.7 Mekanisme *scavenging* radikal bebas oleh antosianin.
 Sumber: Nimse & Pal, 2015.

D. Kombinasi Tempe Kedelai Hitam dan Ubi Jalar Ungu Sebagai Pangan Fungsional

Bahan pangan yang hendak dikonsumsi harus memenuhi kriteria mutu, baik secara fisik maupun kimiawi. Kriteria mutu secara fisik dapat diamati dengan menggunakan organoleptik, sedangkan kriteria mutu kimiawi dapat diuji dengan mengukur kandungan proksimat sesuai standarisasi oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN) 3144:2009. Mutu tempe kedelai hitam secara kimiawi dapat diketahui melalui analisis proksimat yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar serat kasar.

Perbedaan kandungan proksimat pada tempe yang diolah tanpa kulit biji dan berkulit biji. Penampakan tempe kedelai hitam tanpa kulit biji dan berkulit biji dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Penampakan tempe kedelai hitam. a) Tempe Kedelai Hitam Tanpa Kulit Biji, b) Tempe Kedelai Hitam Berkulit Biji (Sumber : Mutaslimah dkk.,2017)

Kadar air tempe kedelai hitam tanpa kulit biji yaitu 57,62% dan tempe kedelai hitam berkulit biji 58,61%. Tempe kedelai hitam yang berkulit biji memiliki kadar air lebih tinggi karena kulit biji mengakibatkan air tidak dapat menguap secara optimal ketika proses pengeringan. Menurut Mayasari (2010), kedelai hitam dengan kulit biji lebih menyerap air saat perebusan, dikarenakan daya ikat air pada kulit biji kedelai hitam lebih tinggi. Tempe kedelai hitam tanpa kulit biji memiliki kadar air yang lebih rendah karena kedelai hitam tanpa kulit biji daya ikat terhadap air rendah, sehingga pada saat proses pengeringan biji kedelai hitam tanpa kulit lebih cepat kering. Kadar air maksimum yang ditetapkan dengan ketentuan BSN 3144:2009 yaitu maksimal 65%. Penambahan rempah dapat meningkatkan daya terima dari tempe kedelai hitam (Jannah, dkk., 2017).

Tempe kedelai hitam tanpa kulit biji dan tempe kedelai hitam berkulit biji memiliki kadar abu 1,55%. Kadar abu suatu bahan pangan menggambarkan kadar mineral pada bahan tersebut. Bahan makanan terdiri atas 96% bahan organik dan air, sisanya terdiri dari unsur-unsur

mineral yang dikenal juga sebagai senyawa anorganik yang disebut mineral atau abu (Winarno, 2004). Kadar abu tempe kedelai hitam tersebut sesuai dengan ketentuan BSN 3144:2009 yaitu maksimal 1,5%.

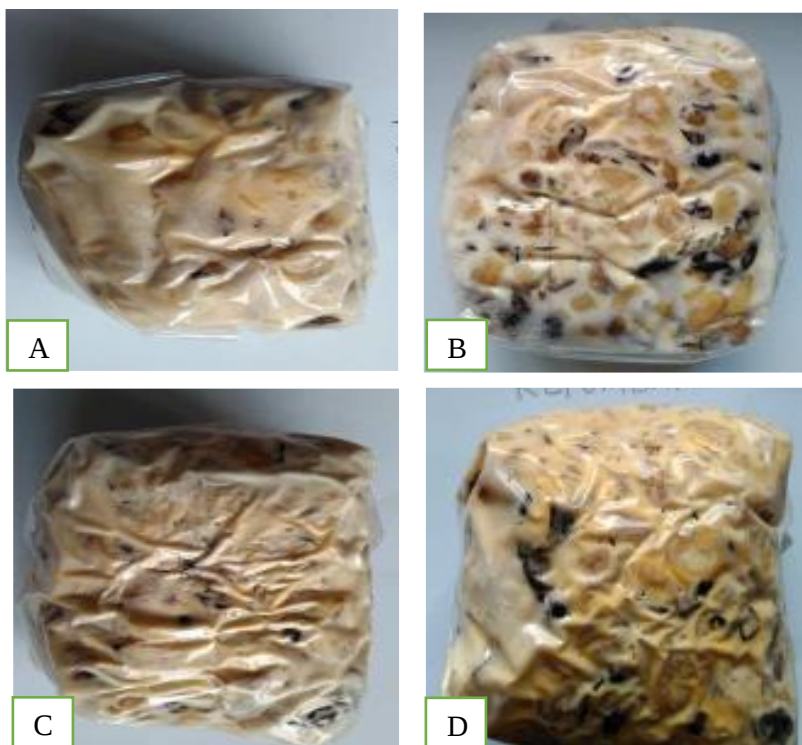
Kadar protein pada kedelai hitam varietas Detam 1 adalah 45,40% (Ginting dkk, 2009). Kadar protein pada tempe kedelai hitam sebesar hitam tanpa kulit biji yaitu 21,78%. Tempe kedelai hitam berkulit biji memiliki kadar protein 22,18%. Kadar protein tersebut sesuai ketentuan BSN 3144:2009 yaitu minimal 16%. Kadar protein pada tempe kedelai hitam mengalami penurunan dikarenakan proses fermentasi bakteri. Protein terhidrolisis oleh enzim proteolitik.

Kadar lemak tempe kedelai hitam tanpa kulit biji yaitu 6,03% dan tempe kedelai hitam berkulit biji 4,98%. Kadar lemak pada kedelai hitam varietas Detam 1 adalah 13,10% (Ginting dkk, 2009). Kadar lemak kedelai hitam mengalami penurunan saat mengalami fermentasi menjadi tempe, setelah mengalami fermentasi kadar lemaknya menjadi sekitar 4,03-6,03% (Sapuan dan Soetrisno, 1996). Kadar karbohidrat tempe kedelai hitam tanpa kulit biji yaitu 13,03% dan tempe kedelai hitam berkulit biji 12,69%. Kadar karbohidrat kedelai hitam mengalami penurunan saat mengalami fermentasi menjadi tempe. Pada saat proses fermentasi tempe periode pemeraman 0-12 jam, aktivitas tertinggi enzim amilase oleh *Ryzopus sp* (Sapuan dan Soetrisno, 1996).

Kadar serat kasar tempe kedelai hitam tanpa kulit biji yaitu 4,38% dan tempe kedelai hitam berkulit biji 4,28%. Kadar serat kasar tempe

kedelai hitam tersebut lebih besar dibandingkan dengan kadar serat kasar tempe yang ditentukan oleh BSN 3144:2009 yaitu maksimal 2,5%. Hal tersebut dikarenakan bahan baku kedelai yang digunakan berbeda. Kadar BETN tempe kedelai hitam tanpa kulit biji yaitu 8,65% dan tempe kedelai hitam berkulit biji 8,41%. Kadar BETN tempe kedelai hitam tanpa kulit biji yaitu 8,65% dan tempe kedelai hitam berkulit biji 8,41%. Kadar BETN tempe kedelai tanpa kulit biji lebih tinggi, hal tersebut dikarenakan penentuan kadar BETN berdasarkan perhitungan $100\% - (\% \text{air} + \% \text{abu} + \% \text{protein} + \% \text{lemak} + \% \text{serat kasar})$. Berdasarkan pengujian kandungan proksimat bahwa tempe kedelai hitam memenuhi kriteria mutu kimiawi seperti yang ditetapkan oleh BSN 3144:2009 dan layak dikonsumsi.

Penambahan rempah pada proses pembuatan tempe dapat meningkatkan kadar protein tempe. Penelitian ini menggunakan beberapa variasi rempah diantaranya bawang putih, kemiri dan ketumbar. Kadar protein pada perlakuan kontrol yaitu tempe kedelai hitam tanpa adanya penambahan rempah sebesar 19,59%, tempe kedelai hitam dengan penambahan bawang putih sebesar 22,05%, kemiri 19,61% dan ketumbar 19,83%. Menurut Standar Nasional Indonesia No. 01-3144-1992 kadar protein minimal pada tempe 15-20%. Dari hal tersebut tempe kedelai hitam dengan penambahan variasi rempah telah memenuhi Standar Nasional Indonesia No. 01-3144-1992. Penampakan tempe kedelai hitam dengan variasi rempah dapat dilihat pada gambar 2.9.



Gambar 2.9 Penampakan tempe kedelai hitam dengan variasi rempah.

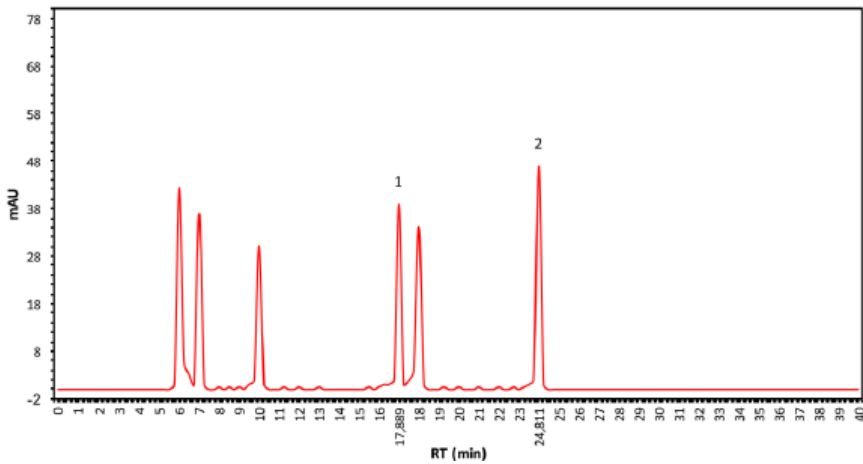
Keterangan : A = kontrol, B= penambahan rempah bawang putih, C = penambahan rempah dengan kemiri, D =penambahan rempah dengan ketumbar. (Sumber : Mutaslimah dkk.,2017)

Kedelai hitam memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi yakni isoflavon yang berupa daidzein dan genistein. Kandungan antioksidan pada tempe jauh lebih tinggi dari pada kedelai biasa, meskipun tempe terbuat dari kedelai namun kandungan antioksidanya berbeda. Ubi jalar ungu memiliki antioksidan kuat berupa antosianin. Kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu akan memperkuat kinerja antioksidan. Antioksidan seperti isoflavon dan antosianin

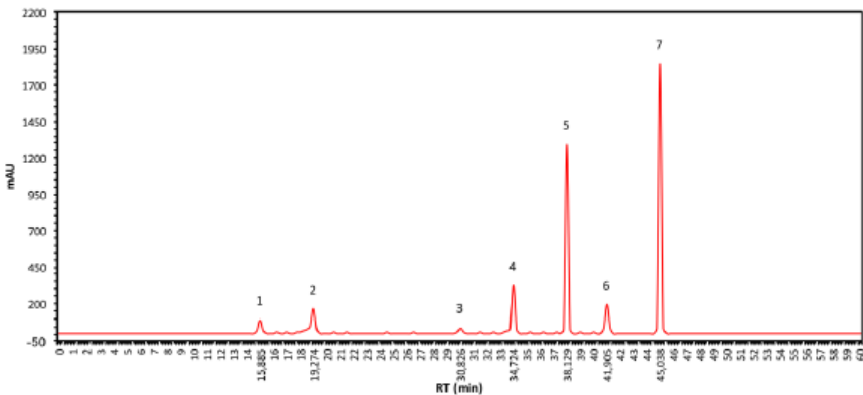
memiliki tingkat keterserapan yang baik didalam tubuh. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bilah dkk., (2017) Bahwa tingkat keterserapan isoflavon, antosianin dan kombinasinya pada tikus diabetes melitus (DM) mencapai 99,99%. Hal ini menunjukkan bahwa tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu sangat cocok untuk dijadikan terapi pada penderita penyakit diabetes melitus tipe 2 (DMT2).

Antioksidan kuat seperti isoflavon dan antosianin memiliki beberapa efek biologis diantaranya adalah memperbaiki karakter fisiologi reproduksi pada tikus DM (Gofur dkk., 2018), menurunkan kadar MDA (Desminarti dkk., 2012; Suhartini dkk., 2017 ; Setyowati dkk., 2017), meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (Nurrahman dkk, 2013; Aminatul dkk.,2017) , antiinflamasi, menurunkan kadar glukosa darah, memperbaiki indeks testis, diameter tubulus seminiferous, dan hormon testosteron (Gofur dkk, 2018).

Antioksidan bekerja dengan meredam radikal bebas yang berpotensi merusak jaringan. Antioksidan akan mendonorkan elektronnya agar radikal bebas lebih stabil. Antioksidan juga dapat menjadi scavenger dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Widyaningtyas dkk.,2017). Keterserapan isoflavon dan antosianin didalam tubuh mencapai 99% (Bilah dkk.,2017). Hasil HPLC kandungan isoflavon dari tempe kedelai hitam dan antosianin dari ubi jalar ungu ditunjukkan pada Gambar 2.10 dan 2.11.



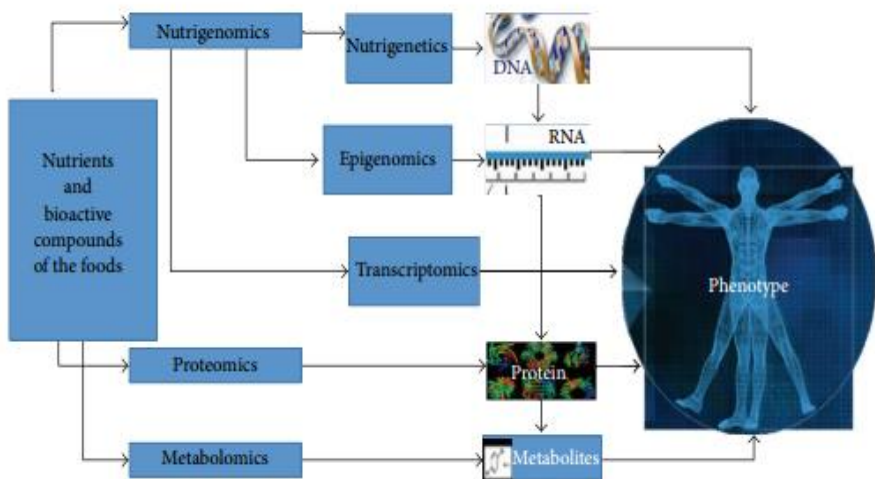
Gambar 2.10 Kandungan Isoflavon pada tempe kedelai hitam. 1 = Daidzein dan 2 = genistein. (Sumber: Gofur dkk., 2018)



Gambar 2.11. Kandungan Antosianin pada Ubi Jalar Ungu varietas gunung kawi. 1 = Cyanidin 3 sophorose 5 glucoside, 2 = Peonidin 3 sophorose 5 glucoside, 3 = Cyanidin 3 (6''feruloylsophorose) 5 glucoside, 4 = Cyanidin 3 caffeoylsophorose 5 glucoside, 5 = Peonidin 3-caffeoylsophorose-5-glucoside, 6 = Peonidin dicaffeoylsophorose 5 glucoside, 7 = Peonidin caffeoyl feruloylsophorose 5 glucoside (Sumber: Gofur dkk., 2018)

D. Nutrigenomik dan Prospeknya Dimasa Depan

Asupan makanan dan lingkungan merupakan dua faktor utama yang mempengaruhi kesehatan individu. Pengetahuan tentang nutrisi telah meningkatkan pemahaman tentang menjaga kesehatan melalui kontrol asupan nutrisi. Studi tentang nutrigenomik difokuskan pada efek dari nutrisi pada genom, proteom, dan metabolisme, seperti diilustrasikan pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11. Hubungan antara nutrisi, kesehatan dan penyakit. (Sumber: Thomas, 2013)

Nutrigenomik menjelaskan mengenai bagaimana komponen dari diet tertentu (senyawa bioaktif) dapat mempengaruhi ekspresi gen. Diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit yang berhubungan dengan pola hidup, sehingga diet sehat akan dapat mengontrol kadar glukosa darah. Kesadaran tentang nutrigenomik berasal dari meningkatnya kesadaran akan potensi dari modifikasi makanan atau diet untuk mendukung kesehatan dan mengurangi risiko penyakit yang

berhubungan dengan diet (Liu & Qian, 2011). Pemahaman bagaimana interaksi nutrisi dari makanan dengan genom dan ekspresi gen diharapkan mampu menghasilkan formula atau terapi berbasis diet untuk penderita sindrom metabolik seperti DM (Liu & Qian, 2011).

Polifenol dari tumbuhan dapat mengurangi stres oksidatif dan mencegah penyakit kronis (Konstantinidou, 2013). Hampir semua polifenol menunjukkan potensi antioksidan yang kemungkinan besar berkontribusi terhadap efek kesehatan misalnya kanker, diabetes, hipertensi, kardiovaskular penyakit neurodegeneratif, dan penuaan. Polifenol makanan dianggap sebagai alternatif yang layak untuk obat konvensional untuk berbagai penyakit kronis (Mladnka, 2010). Pemanfaatan polifenol makanan serta hasil klinis yang diperoleh untuk penderita diabetes dapat digunakan untuk memahami cara menggunakan polifenol makanan untuk pencegahan penyakit yang terkait dengan diabetes tipe 2.

Ubi jalar ungu memiliki indeks glikemik yang rendah sehingga jika dikonsumsi tidak akan menaikkan kadar glukosa darah secara drastis. Ubi jalar ungu memiliki kandungan antioksidan yang tinggi berupa antosianin. ubi jalar ungu memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ubi jalar varietas lain seperti ubi jalar varietas kuning. Kadar serat ubi jalar ungu yaitu 2,3-3,9 g/100 g. zat mikro lain yang diperlukan tubuh seperti β -karoten, antosianin, dan vitamin C yang dapat berperan sebagai antioksidan. Ubi jalar ungu

memiliki kadar β -karoten 28,13 $\mu\text{g/g}$ - 99,00 $\mu\text{g/g}$ dan mengandung antosianin 110,5 mg/100 g (Ginting dkk. 2011).

Kedelai hitam memiliki kandungan antioksidan berupa isoflavon yaitu daidzein dan genistein. Pada penelitian terdahulu genistein dinyatakan dapat memperbaiki kinerja sel β pankreas, menurunkan ROS, memperbaiki kinerja antioksidan dan mengembalikan kadar iNOS dan eNOS, meningkatkan kadar SOD (Kim & Lim, 2013; Wang dkk. 2013) dan mampu meredam AGE pada tikus hipertensi (Wu dkk., 2011).

BAB III

SISTEM REPRODUKSI TIKUS

A. Tikus Putih Jantan (*Rattus Novregicus*)

Tikus putih (*Rattus novregicus*) sering digunakan sebagai hewan coba dalam sebuah penelitian. Tikus yang digunakan tentu saja bukan tikus liar yang hidup dialam bebas, akan tetapi tikus yang sengaja dibiakkan dan tersertifikasi. Tikus tersertifikasi diharapkan mampu mempermudah peneliti untuk mendapatkan model hewan yang diperlukan sesuai dengan kriteria. Kriteria yang dibutuhkan oleh peneliti dalam menentukan tikus putih sebagai hewan percobaan, antara lain: kontrol pakan, kontrol kesehatan, kontrol perkawinan, jenis (strain), umur, bobot badan, jenis kelamin, silsilah genetic (Widiartini dkk., tanpa tahun).

Morfologi tikus putih galur wistar diantaranya memiliki bulu berwarna putih, warna mata merah, bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4 – 5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267 – 500 gram dan betina 225 – 325 gram. Galur ini berasal dari peternakan Institut *Wistar* pada tahun 1906 (Sirois, 2005).



Gambar 3.1 Morfologi *Rattus norvegicus* Galur Wistar

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar menurut Myres & Armitage (2004) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Sciurognathi</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Sub-Famili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur/Strain	: <i>Wistar</i>

Morfologi tikus galur wistar dapat dilihat pada gambar 3.1. Tikus putih memiliki struktur tubuh yang hampir menyerupai manusia. Struktur anatomi tikus yang hampir mirip dengan manusia yaitu sistem sirkulasi, musculus dan struktur tulang (John, 2009). Digunakan tikus putih galur wistar diharapkan dapat memberi gambaran respon tubuh terhadap zat yang diberikan.

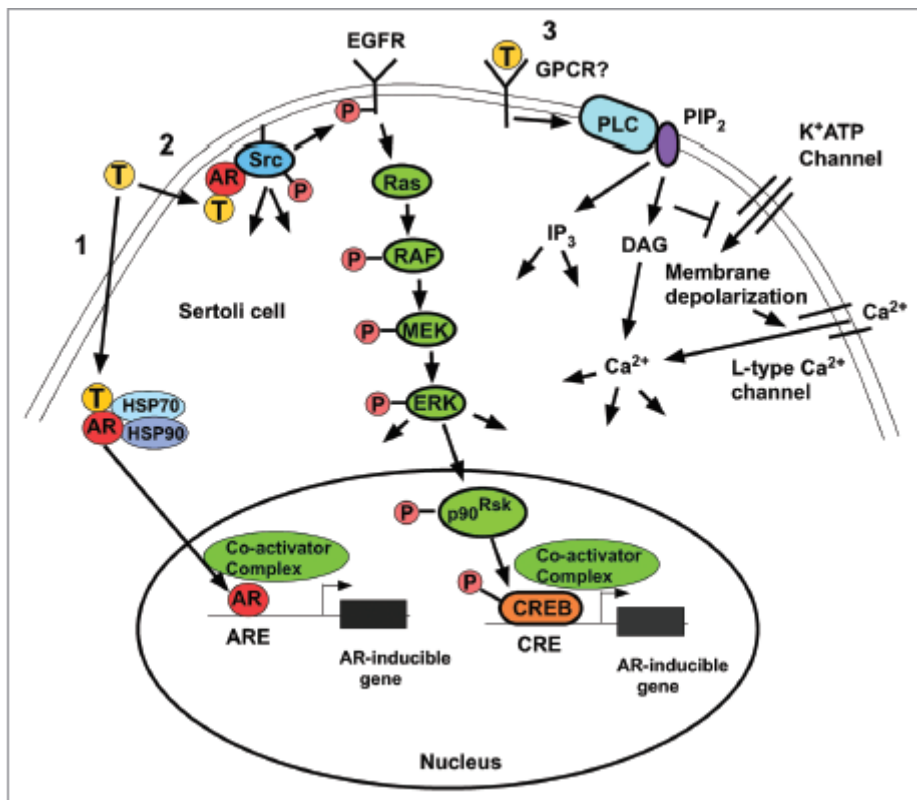
B. Regulasi Hormon Testosteron

Testosteron merupakan salah satu hormon yang disekresikan oleh testis bersama hormon androgen lain. Pria mensekresikan 3 jenis androgen utama yaitu dihidroepiandrosteron (DHEA), androstenedion, dan testosteron. Testosteron disekresikan paling banyak dan paling kuat daripada hormon androgen lain, sehingga dianggap yang paling

bertanggungjawab akan efek hormonal pria. Sekresi testosteron diketahui berperan terhadap diferensiasi duktus internal dan genitalia eksternal dan menstimulasi penurunan testis ke dalam skrotum selama dua bulan terakhir gestasi pada janin. Pada saat perkembangan selanjutnya testosteron berperan dalam pemeliharaan karakteristik seks sekunder laki-laki antara lain seperti meningkatnya pertumbuhan dan perkembangan genitalia laki-laki, bertanggung jawab atas pendistribusian rambut yang menjadi ciri khas laki-laki, meningkatkan massa otot dan meningkatkan kapasitas pengikatan oksigen pada laki-laki.

Produksi testosteron oleh sel Leydig diregulasi oleh sel neuroendokrin. Sistem neuroendokrin ini dikenal juga sebagai pengontrol homeostasis termasuk didalamnya circadian rhythmicity (siklus ritme tubuh) dan siklus tidur bangun. Sistem ini juga dilibatkan di dalam perubahan keadaan fisiologik yang nyata misalnya temperatur, tekanan darah serta pelepasan hormon pituitari pada otak. Produksi hormone androgen dikendalikan oleh Hormon hipotalamus dan hipofisis. Hormon *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) memiliki reseptor pada permukaan sel tubulus seminiferous yang diperlukan dalam spermatogenesis. Testosteron diproduksi oleh sel leydig didaerah interstisial testis. Sel Sertoli dianggap sebagai target seluler utama untuk pensinyalan testosteron yang diperlukan untuk mendukung perkembangan sel germinal laki-laki. Tingkat ekspresi androgen receptor (AR) naik turun dalam sel Sertoli dewasa menyesuaikan dengan

siklus tahapan epitelium seminiferus. Di dalam tikus, ekspres protein AR rendah dan sulit dideteksi. Hormone lain yang berperan dalam sekresi testosteron adalah *Luteinizing Hormone* (LH). Mekanisme signling hormone testosteron akan dijelaskan sebagai berikut.



Gambar 3.2. Jalur signaling testosteron. (Sumber: Walker,2011)

Testosteron memiliki beberapa jalur signaling. (1) Jalur klasik signaling testosteron Testosteron berdifusi melalui membran plasma dan berikatan dengan AR. AR mengalami perubahan dalam konformasi yang memungkinkan untuk dilepaskan dari protein *heat-shock* di sitoplasma. AR dapat bertranstolasi ke inti dimana ia berikatan dengan

urutan DNA spesifik yang disebut *androgen respon elemen* (ARE). Pengikatan AR ke ARE memungkinkan perekrutan protein ko-aktivator dan ko-represor yang mengubah ekspresi gen untuk mengubah fungsi sel. (2) jalur Aktivasi kinase non-klasik: testosteron berinteraksi dengan AR yang kemudian dapat merekrut dan mengaktifkan Src, yang menyebabkan aktivasi reseptor EGF melalui jalur intraseluler. Reseptor EGF kemudian mengaktifkan cascade MAP kinase melalui Ras dan menghasilkan aktivasi RAF dan MEK kemudian ERK secara berurutan, selanjutnya mengaktifkan p90Rsk-kinase, yang diketahui memfosforilasi CREB pada serine 133. Akibatnya, gen-gen yang diatur-CREB seperti laktat dehidrogenase A (LDH-A) dan CREB dapat diinduksi oleh testosteron, (3) jalur Masuknya Ca^{2+} non-klasik, Testosteron berinteraksi dengan reseptor dalam membran plasma seperti GPCR. Phospholipase C (PLC) diaktifkan untuk membelah PIP₂ mejadi IP₃ dan DAG. Konsentrasi PIP₂ yang rendah akan menghambat saluran $\text{K}^{+}_{\text{ATP}}$ menyebabkan depolarisasi membrane dan Ca^{2+} masuk melalui saluran L-type Ca^{2+} (Gambar 3.1)

Spermatogenesis dan kesuburan pria tergantung pada ada tidaknya testosteron di testis. Ketika testosteron atau reseptor androgen tidak disintesis, spermatogenesis tidak berlanjut sampai ke tahap meiosis. Target seluler utama dan penerjemah sinyal testosteron untuk mengembangkan sel germinal adalah sel Sertoli. Di sel Sertoli, sinyal testosteron bisa diterjemahkan secara langsung ke perubahan ekspresi gen (jalur klasik) atau testosteron dapat mengaktifkan kinase yang

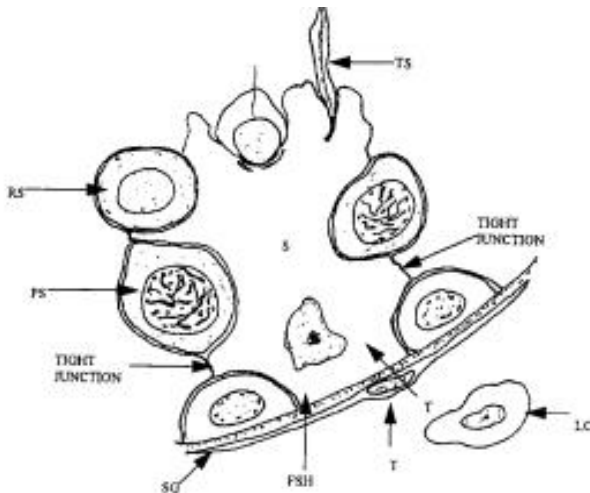
mungkin mengatur proses yang diperlukan untuk mempertahankan spermatogenesis (jalur non-klasik).

C. Spermatogenesis

Salah satu aspek kesuburan dapat dilihat pada produksi spermatozoa normal dalam jumlah besar melalui proses kompleks yang dikenal sebagai spermatogenesis. Spermatogenesis terjadi didalam testis. Ketika hipofisis mensekresikan hormon FSH maka akan terjadi peningkatan ukuran testis, dengan demikian sel leydig mensekresikan androgen dan sel germa mengalami inisiasi mitosis. Hormon FSH data dikatakan sebagai starter dari proses spermatogenesis. Penampang melintang tubulus seminiferus memperlihatkan bahwa pembuluh ini memiliki epitel germinal yang terdiri atas dua macam sel, yaitu sel spermatogenik (sel germa) dan sel sertoli.

Proses spermatogenesis dibagi menjadi tiga langkah. Spermatogenesis berlangsung dari dasar menuju ke lumen tubulus seminiferus. Spermatogonium, yaitu sel germa yang berada di lapisan paling dasar dari tubulus seminiferous. (1) perbanyakkan spermatogonia melalui proses mitosis; (2) meiosis, pengurangan Jumlah kromosom dari diploid ke haploid dan dimulai dengan masuknya spermatogonia tipe B ke dalam profase dari pembelahan meiosis pertama yang disebut spermatosit primer, Kemudian membelah membentuk spermatosit sekunder, dan selanjutnya membelah lagi untuk membentuk spermatid (3) transformasi dari spermatid yang tadinya berbentuk bulat ke dalam struktur permatozoa kompleks, fase ini disebut spermiogenesis. Setiap langkah ini mewakili elemen kunci dalam proses spermatogenik. Cacat

yang terjadi pada satu dari tahap dapat menyebabkan kegagalan keseluruhan proses dan mengarah pada hasil produksi spermatozoa.

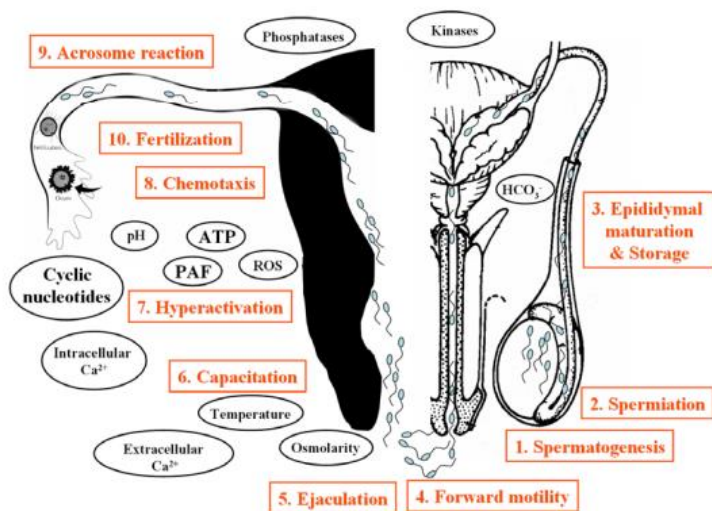


Gambar 3.3. Hubungan antara sel Sertoli (S) dan sel germinal: spermatogonia (SG), Spermatosit primer (PS), spermatid (RS). Testosteron (T), diproduksi oleh sel Leydig (LC) di bawah stimulasi hormon luteinizing, bertindak melalui reseptor pada sel Sertoli untuk memodulasi spermatogenesis. Follicle stimulating hormone (FSH) bekerja pada sel-sel Sertoli dan mungkin langsung pada spermatogonium. (Sumber: Kretser dkk., 1998)

D. Kualitas Sperma

Kualitas sperma dapat ditinjau dari beberapa aspek diantaranya kualitas spermatozoa, motilitas spermatozoa dan morfologi spermatozoa. Jumlah spermatozoa dikatakan normal apabila per ejakulat menghasilkan 40 juta atau lebih. Fertilisasi dapat terjadi apabila konsentrasi spermatozoa dalam semen cukup. Seorang pria dianggap memiliki semen yang normal jika konsentrasi spermatozoa lebih dari 20 juta per ml dan apabila kurang dari 20 juta per ml maka

dikatakan infertil atau oligozoospermia. Spermatozoa mamalia memiliki kemampuan untuk berenang dari testis ke saluran telur dipengaruhi oleh beberapa faktor eksternal dan intraseluler. Faktor-faktor ini juga memainkan peran penting dalam mengatur motilitas dan selama proses kemotaksi (Gambar 3.4).



Gambar 3.4. Faktor yang mempengaruhi motilitas sperma selama "Sperma Journey" dari testis (kanan) ke ovarium (kiri). Faktor Eksternal dan faktor intraseluler yang mempengaruhi motilitas sperma ditunjukkan dengan warna (hitam) bersamaan dengan proses aktivasi (merah) spermatozoa yakni "perjalanan" dari testis ke ovarium. (Sumber: Kretser dkk.,1998)

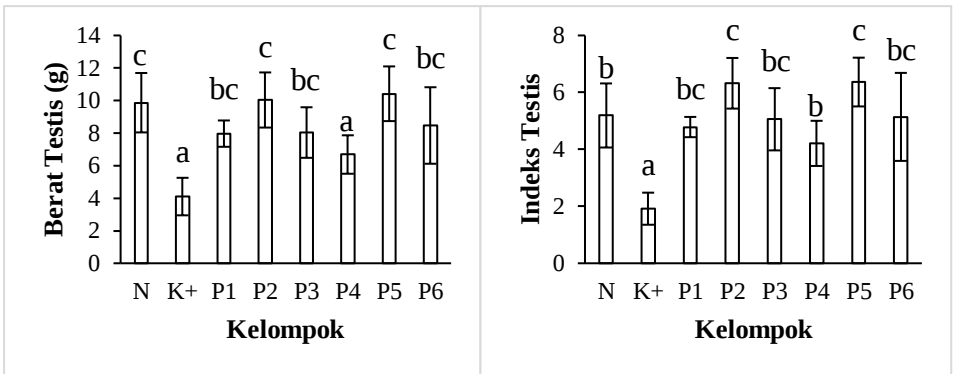
Dalam kondisi fisiologis, kalsium adalah salah satunya ion paling penting yang mengatur motilitas sperma, namun peran kalsium dalam mengaktivasi spermatozoa masih belum jelas. Selain kondisi intraseluler, motilitas sperma juga dapat dipengaruhi oleh bentuk morfologi yang abnormal. Sperma dikatakan normal apabila lebih dari 50% yang motil. Perhitungan dapat dilakukan dengan cara menghitung 100 spermatozoa yang motil pada setiap ulangan.

BAB IV

PERAN KEDELAI HITAM DAN UBI JALAR UNGU DALAM PERBAIKAN KARAKTER FISILOGI REPRODUKSI DAN STATUS ANTIOKSIDAN PADA TIKUS MODEL DMT2

A. Peningkatan Berat Testis dan Indeks Testis Tikus DMT2

Perlakuan tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu memberikan efek yang cukup baik pada berat dan indeks testis. Pada Gambar 5.1. menunjukkan berat testis pada kelompok tikus DMT2 mengalami penurunan apabila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dengan rasio perbandingan 2:2 meningkatkan berat testis pada tikus model DMT2, bahkan lebih tinggi dari kelompok N.



Gambar 5.1 Berat testis dan indeks testis. Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan. Ket: N = tikus normal, K+ = tikus DMT2, P1 tikus DMT2 + *Glibenclamide*, P2 = tikus DMT2 + tempe kedelai hitam, P3 = tikus DMT2 + ubi jalar ungu, P4 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (1:3), P5 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (2:2), P6 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (3:1). Nilai ditunjukkan sebagai rerata ±

standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Sumber: Gofur dkk., 2018).

Berat testis dipengaruhi oleh besar kecilya testis, hal ini terkait dengan proses pembelahan dari sel leydig itu sendiri. Kadar glukosa yang terlalu tinggi pada tikus DMT2 menyebabkan penghambatan proliferasi sel. Jumlah sel Leydig di testis tergantung pada aktivitas proliferasi yang terjadi selama periode prapubertas. Genistein bertindak sebagai mitogen pada sel Leydig. Aksi mitogenik genistein menambah jumlah sel Leydig yang melibatkan ESR sehingga bertindak sesuai dengan jalur yang dimediasi oleh *protein kinase B* (AKT) dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Dengan demikian, isoflavin berpengaruh terhadap perkembangan sel Leydig, sehingga mempengaruhi sekresi androgen dan berat pada testis dewasa.

B. Perbaikan Karakter Fisiologi Reproduksi

Ekstrak tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu yang diberikan secara tunggal maupun kombinasi dapat memperbaiki karakter fisiologi reproduksi tikus diabetes melitus tipe 2. Karakter fisiologi reproduksi yang dimaksud adalah pengukuran kualitas spermatozoa terdiri dari pengukuran konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa pada semen tikus (Gambar 5.2).

Diabetes melitus tipe 2 memiliki kaitan erat dengan infertilitas. Sebanyak 35% penderita DMT2 dilaporkan mandul (Vignera dkk., 2012). Selain itu, DMT2 mempengaruhi kesuburan pria dalam beberapa cara, yaitu mengganggu dalam kontrol endokrin

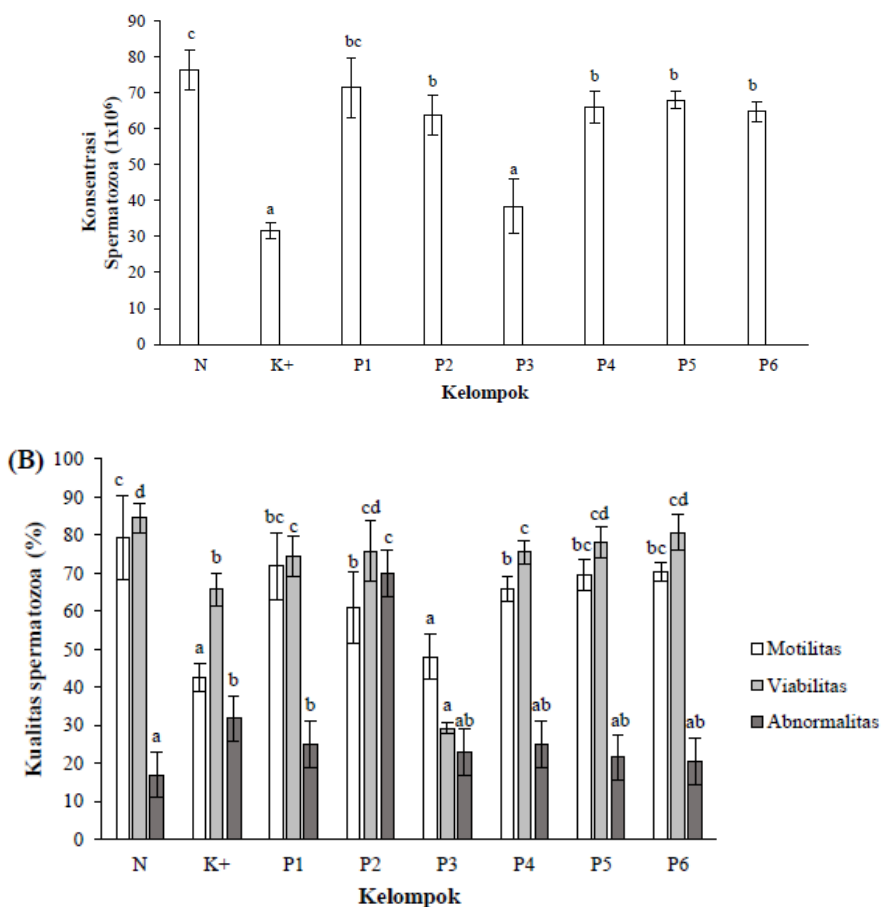
spermatogenesis dan didalam proses spermatogenesis itu sendiri (Rato dkk., 2013), mengganggu proses ereksi dan ejakulasi (Scarano dkk., 2006). Diabetes melitus juga dapat menyebabkan penurunan kualitas sperma. Penurunan kualitas spermatozoa berhubungan dengan peningkatan stres oksidatif (OS) (Lanzafame dkk., 2009). Selama proses metabolisme spermatozoa ditestis, beberapa sumber seluler seperti mitokondria menghasilkan ROS dalam jumlah besar (Starkov, 2008).

Sel sperma sangat rentan terhadap ROS karena ROS akan menyerang PUFA membran sel yang kemudian menginisiasi reaksi peroksidasi lipid yang menghasilkan malondialdehyde (MDA). Malondialdehyde sangat berbahaya untuk viabilitas sel (Mylonas dan Kouretas, 1999). Kerusakan sperma juga dapat diakibatkan oleh gangguan sistem endokrin yaitu sirkulasi *Luteinizing Hormon* (LH). Hormon LH dan reseptor insulin keduanya dimodulasi oleh hipofisis LH. Adanya penurunan konsentrasi sperma dikarenakan adanya disfungsi sel Leydig yang merupakan gangguan sekunder yang terkait dengan kondisi metabolisme yang kompleks (Tremblay dkk., 1985)

Konsentrasi spermatozoa pada tikus model DMT2 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok normal. Perlakuan kombinasi P5 memberikan efek paling baik dengan menghasilkan konsentrasi sperma yang paling tinggi (kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dengan perbandingan 2:2), yakni sebesar 68×10^6 , akan tetapi konsentrasi spermatozoa kelompok P5 tidak berbeda nyata dengan

kelompok P2, P6, dan P4 secara berurutan $63,7 \times 10^6$, $64,82 \times 10^6$, dan $65,87 \times 10^6$.

Data motilitas dan viabilitas pada tikus model DMT2 sejalan dengan konsentrasi sperma yang mengalami penurunan secara signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok normal. Motilitas dan viabilitas tertinggi terdapat pada kelompok P6 (kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dengan perbandingan 3:1), yakni sebesar 70,41% dan 80,79%. Motilitas spermatozoa kelompok P6 tidak berbeda nyata dengan kelompok P2, P4, dan P5 secara berurutan 61,01, 65,85, dan 69,64%. Viabilitas spermatozoa kelompok P6 tidak berbeda nyata dengan kelompok P4, P2, dan P5 secara berurutan 75,54, 75,85, dan 78,01%. Abnormalitas terendah ditunjukkan oleh kelompok P6, yakni sebesar 20,53%. Abnormalitas spermatozoa kelompok P6 tidak berbeda nyata dengan kelompok P5, P2, dan P4 secara berurutan 21,58, 22,82, dan 24,98%. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi tempe kedelai hitam dengan ubi jalar ungu mampu memperbaiki kualitas spermatozoa yang rendah pada tikus model DMT2.

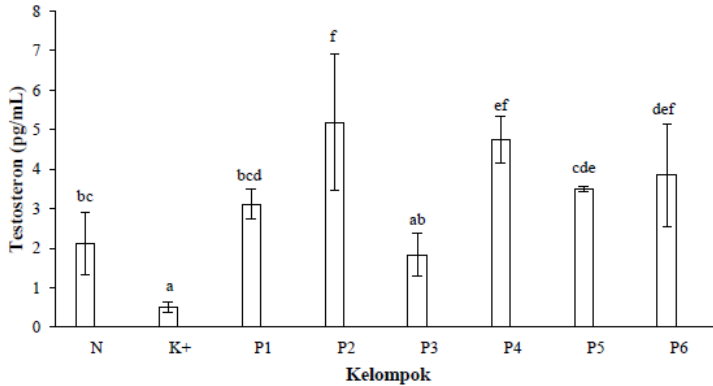


Gambar 5.2. Kualitas spermatozoa tikus model DMT2 setelah perlakuan tempe kedelai hitam, ubi jalar ungu, maupun kombinasi keduanya. (A) = Konsentrasi spermatozoa, dan (B) Motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Ket: N = tikus normal, K+ = tikus DMT2, P1 = tikus DMT2 + *Glibenclamide*, P2 = tikus DMT2 + tempe kedelai hitam, P3 = tikus DMT2 + ubi jalar ungu, P4 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (1:3), P5 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (2:2), P6 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (3:1). Nilai ditunjukkan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT. (Sumber: Gofur dkk., 2018).

Tempe kedelai hitam memiliki senyawa bioaktif turunan dari daidzein dan genistein, sedangkan ubi jalar ungu memiliki antosianin yang merupakan antioksidan kuat. Antioksidan dapat menurunkan radikal bebas sehingga diikuti oleh perbaikan kualitas sperma. Antioksidan bekerja dengan cara melindungi DNA spermatozoa dari reaksi oksidasi dan meningkatkan stabilitas testis (Jedlinska dkk., 2009). Selain itu tempe kedelai hitam menyediakan protein yang tinggi (Mustaslimah dkk., 2017). Protein berperan menyediakan energi untuk sel sperma, pemulihan, meningkatkan densitas spermaozoa, dan melindungi sperma dari peroksidasi lipid.

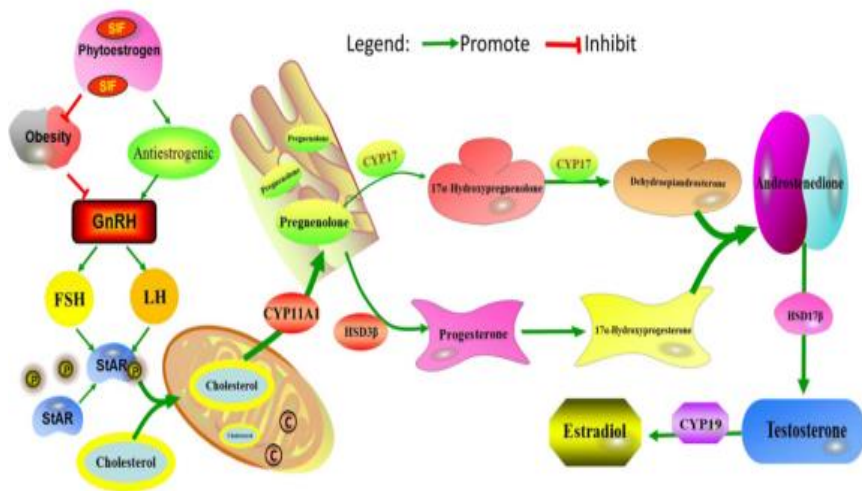
C. Pengukuran Kadar Testosteron

Pengukuran kadar testosteron menggunakan metode elisa pada organ testis. Kadar testosteron pada tikus model DMT2 mengalami penurunan secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok normal. Kadar testosteron paling tinggi ditemukan pada kelompok tikus yang diberi perlakuan tempe kedelai hitam saja. Secara berurutan kadar testosteron dari tinggi ke rendah adalah 1:3, 3:1 dan 2:2. Berdasarkan data kadar testosteron, diketahui tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu yang diberikan secara sendiri maupun kombinasi memiliki efek meningkatkan kadar testosteron pada tikus DMT2 (Gambar 5.3)



Gambar 5.3. Kadar Testosteron setelah perlakuan tempe kedelai hitam, ubi jalar ungu, maupun kombinasi keduanya. Ket: N = tikus normal, K+ = tikus DMT 2, P1 = tikus DMT 2 + Glibenclamide, P2 = tikus DMT 2 + tempe kedelai hitam, P3 = tikus DMT 2 + ubi jalar ungu, P4 = tikus DMT 2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (1:3), P5 = tikus DMT 2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (2:2), P6 = tikus DMT 2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (3:1). Nilai ditunjukkan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT. (Sumber: Gofur dkk., 2018).

Daidzen dalam kedelai hitam memodulasi ekspresi gen steroidogenik untuk meningkatkan sintesis testosteron (Zhang & Cui, 2009). Testosteron berfungsi untuk mengatur pematangan sperma. Namun, hal yang perlu digarisbawahi pada penelitian ini adalah perlakuan ubi jalar saja tidak mampu memperbaiki kualitas spermatozoa. Hasil penelitian Uno dkk. (2017) menunjukkan tidak ada perubahan parameter sperma pada tikus yang diberi perlakuan ubi jalar.



Gambar 5.4. Mekanisme intervensi isoflavon dalam sintesis testosteron.

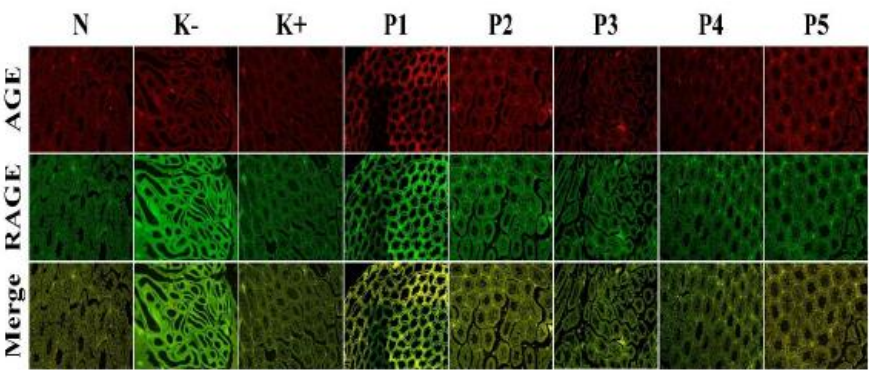
Soybean isoflavon (SIF) dapat digunakan sebagai anti-estrogenik efek pada tikus obesitas yang menyebabkan peningkatan sekresi hormon *luteinizing hormon* (LH) dan *follicle-stimulating hormone* (FSH) . Peningkatan kedua hormone akan meningkatkan testosterone. Peningkatan Level LH dan FSH telah dikaitkan dengan peningkatan ketersediaan dan pemanfaatan kolesterol (Napier dkk., 2014). Selain itu, SIF dapat meningkatkan sirkulasi kadar leptin pada tikus HFD dengan meningkatkan efisiensi menerjemahkan leptin mRNA menjadi leptin protein (Zhang dkk., 2018) yang merangsang sekresi GnRH dan LH (Smith dkk., 2002).

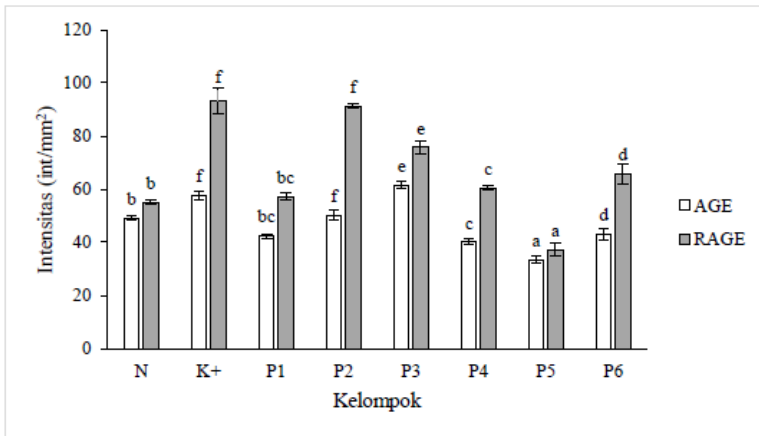
Pada spesies mamalia, perkembangan sel Leydig diatur oleh pituitary gonadotropin LH dan hormon steroid. LH dapat merangsang fosforilasi protein StAR, yang sangat penting untuk translokasi kolesterol sitosolik ke dalam mitokondria, selanjutnya kolesterol dikonversi menjadi DHEAS oleh CYP11A1, dan pregnenolon keluar

dari mitokondria menuju retikulum endoplasma halus, kemudian berturut-turut oleh CYP17 membentuk progesteron, HSD3 β membentuk androstenedion dan HSD17 β membentuk testosteron. Oleh karena itu jumlah dan Aktivitas enzim ini berhubungan dengan jumlah testosteron yang dihasilkan.

D. Status Radikal Bebas Testis Pada Tikus Model DMT2

Antioksidan yang terkandung dalam tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dapat memperbaiki status antioksidan dengan menurunkan intensitas AGE-RAGE pada tikus DMT2. Tikus dengan DMT2 memiliki AGE-RAGE yang sangat tinggi. Tikus yang diberi perlakuan dengan ekstrak menunjukkan adanya penurunan kadar AGE-RAGE. AGE-RAGE merupakan indikator dari radikal bebas. Ekspresi AGE terendah pada kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P5 (kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dengan perbandingan 2:2), yakni sebesar 33,37 int/mm² (Gambar 5.5).





Gambar 5.5. Intensitas AGE-RAGE tikus model DMT2 setelah perlakuan tempe kedelai hitam, ubi jalar ungu, maupun kombinasi keduanya. (A) = intensitas AGE-RAGE yang diperoleh dari pengamatan mikroskop fluoresen pada perbesaran 100x, dan (B) Histogram intensitas AGE-RAGE. Ket: N = tikus normal, K+ = tikus DMT2, P1= tikus DMT2 + Glibenclamide, P2 = tikus DMT2 + tempe kedelai hitam, P3 = tikus DMT2 + ubi jalar ungu, P4 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (1:3), P5 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (2:2), P6 = tikus DMT2 + kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu (3:1). Nilai ditunjukkan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT. (Sumber: Gofur dkk., 2018).

Ekspresi RAGE pada tikus model DMT2 sejalan dengan AGE-RAGE yaitu tinggi bila dibandingkan dengan kelompok normal. RAGE merupakan reseptor dari AGE. Ekspresi RAGE terendah pada kelompok perlakuan terdapat pada kelompok P5 (kombinasi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dengan perbandingan 2:2), yakni sebesar 37,20 int/mm². Penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Anam dkk., 2017 bahwa antioksidan dalam tempe maupun ubi jalar dapat menurunkan ekspresi AGE-RAGE. Penurunan stress

oksidatif pada tikus model DMT2 diikuti dengan meningkatnya toleransi osmotik darah pada tikus model DMT2 yang diberi kombinasi tempe kedela hitam dan ubi jalar ungu (Wulansari dkk., 2018).

Mekanisme *scavenging* radikal bebas oleh daidzen, genistein, dan derivatnya secara umum sama dengan mekanisme yang terjadi pada antosianin, yaitu melalui mekanisme transfer atom H. Transfer atom merupakan mekanisme utama isoflavon dalam mengikat radikal bebas (Zhang, dkk., 2010). Kedelai yang di buat tempe mempunyai kandungan isoflavon berupa genestein dan daidzein yang bersifat antioksidan (Yuan, dkk., 2008). Beberapa antioksidan yang telah dilaporkan terkandung dalam kedelai hitam yang difermentasi adalah asam 3-hidroksiantranilat (HAA), 6-hidroksidaidzein (6-OHD), asam 2,3-dihidroksibenzoat (2,3-DHBA), 8-hidroksidaidzein (8-OHD), dan 8-hidroksigenistein (8-OHG). Semua antioksidan tersebut adalah derivat daidzein dan genistein dari kedelai hitam yang difermentasi (Cheng, dkk., 2011).

Genistein memiliki nilai *bond dissociation enthalpy* (BDE) pada ikatan O-H yang lebih rendah (81,10 kkal/mol) dibandingkan daidzein (81,24 kkal/mol), sehingga mejadikan genistein bersifat lebih kuat dari daidzein. Genistein memiliki ikatan O-H yang lemah menyebabkan reaksi yang lebih cepat dan meningkatkan aktivitasnya sebagai antioksidan (Zhang, dkk., 2010).

BAB V

PENUTUP

Konsumsi tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu bagi penderita DMT2 memberikan dampak yang positif bagi kesehatan. Berdasarkan penelitian dan kajian literatur yang telah dilakukan dapat disimpulkan tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu maupun kombinasi keduanya dapat menjadi agen protektif reproduksi jantan dan mungkin selanjutnya dapat disarankan untuk dijadikan menu diet sehat bagi penderita DMT2. Sebagian besar DMT2 diawali dengan kelebihan berat badan akibat konsumsi makanan yang berlebih. Pola hidup yang tidak sehat seperti selalu mengonsumsi makanan enak dan instan, kurangnya aktivitas fisik, merokok, konsumsi alkohol.

Pada kondisi DM tipe 2 kadar glukosa dalam darah relatif tinggi, hal ini berhubungan erat dengan semakin mundurnya fungsi sel β pankreas dan peningkatan resistensi insulin. Lama dan intensitas ketidakterkendalian kadar glukosa darah, menentukan tingkat progresivitas dan kerusakan jaringan yang terjadi. Pengendalian aktivitas glukosa darah menjadi faktor utama yang harus dilakukan dalam menghindari progresivitas penyakit serta munculnya komplikasi. Tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu terbukti mampu menurunkan glukosa darah tikus DMT2. Dengan demikian diharapkan tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dapat mengontrol progresivitas penyakit DM.

Penyakit DM juga dikaitkan erat dengan kesuburan sistem reproduksi jantan. Penyakit DM mengganggu sistem endokrin

spermatogenesis, mengganggu proses ereksi dan ejakulasi, selain itu DM dapat menurunkan kualitas sperma. Penurunan kualitas sperma disebabkan oleh tingginya aktivitas ROS yang mengakibatkan stress oksidatif (OS). Spermatozoa sangat sensitive dengan ROS sehingga jika jumlahnya berlebihan akan merusak spermatozoa tersebut. Kandungan antioksidan yang terdapat pada tempe kedelai hitam dan ubi jalar ungu dapat menjadi agen protektif pada sistem reproduksi jantan tikus DMT2. Hal ini dibuktikan dengan terjadinya peningkatan berat dan indeks testis, produksi hormon testosteron, dan perbaikan status antioksidan.

DAFTAR RUJUKAN

- Adie, M. M. & Krisnawati, A. 2012. *Kedelai Hitam: Varietas, Kandungan Gizi, dan Prospek Bahan Baku Industri*. Malang: Badan Litbang Pertanian.
- Agbaje, I.M, Rogers D.A, McVicar C.M, McClure N, Atkinson AB, Mallidis C, Lewis SE. 2017. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum Reprod*. 22:1871–1877.
- Ahmed, N. 2005. Advanced Glycation Endproducts-Role in Pathology of Diabetic Complication. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 67(1): 3-21.
- Akram, A., O, A.A. & Hamid, H., 2015. Effects of Hydro-alcoholic Extract from *Arctium lappa* L . (Burdock) Root on Gonadotropins , Testosterone , and Sperm Count and Viability in Male Mice with Nicotinamide / Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes. 22(3), pp.25–32.
- Aminatul, S., Wulandari,N., & Lestari, S.R. 2017. *Pengaruh Tepung Ubi Jalar Ungu Dan Tepung Kedelai Hitam Terhadap Kadar Superoxyde Dismutase (SOD) Serum Darah Pada Tikus Model DM Tipe 2*. Skripsi. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Anam, M.A., **Gofur, A.** & Lestari, S.R. 2017. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Tempe Kedelai Hitam (*Glycine Max* (L.) Merrill) Dan Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) Terhadap Kadar *Advanced Glycation End-Product* (AGE) Serum Darah Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe 2. SKRIPSI. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Astawan, M. 2004. *Tetap Sehat dengan Produk Makanan Olahan*. Solo: Tiga Serangkai.

- Ariani, L.N., **Gofur, A.**, Listyorini, D., Susanto, H., and Handaya, Y. 2015. Effect of *Aloe Vera* Gel on Superoxide Dismutase (SOD) Level in Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Wistar *Rattus Novergicus* Liver. *KnE Life Science*. 2 :51-57
- Ayala, A., Mario, F.M. & Sandro, A. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 4: 1 – 31
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2012. *Tempe: Persembahan Indonesia untuk Dunia*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional
- Backer, C.A. & van den Brink, R.C.B. 1963. *Flora of Java*. Belanda: N.V.P. Noordhoff.
- Chaiyasut, C.W., Kusirisin, N., Lailerd, P., Lerttrakarnnon, M., Suttajit, and Srichairatanakool. 2011. Effects of phenolic compounds of fermented Thai indigenous plants on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemistry journal*. 12:34. 7-9
- Chen, L., Magliano, D.J., & Zimmet, P.Z. 2012. The Worldwide Epidemiology of Type 2 Diabetes Mellitus-Present and Future Perspective. *Nature*, 8(4): 228-236
- Esaki, H., Onozaki, H., Kawakishi, S. & Osawa, T. 1996. New antioxidant isolated from tempeh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 696–700
- Fatimah, R.N. 2015. Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Majority*, 4(5): 86-95.
- Gofur, A.**, Lestari, S. R. 2016. Effect of black soybean natto extract (*Glycine soja*) on reproduction system of hypercholesterolemia male mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 5(5): 387–390

- Gofur, A.,** Witjoro, A. Ningtyas, E. W., Setyowati, E., Mukharromah, S.A., Suhartini, Atho'illah, M.F. dan Lestari, S.R. 2018. The ameliorative effect of black soybean and purple sweet potato to improve sperm quality through suppressing reactive oxygen species (ROS) in type 2 diabetes mellitus rat (*Rattus novergicus*). *ScienceAsia* 44: 303-310
- Gofur, A.,** Lestari, S.R. 2018. The role of red betel extracts (*piper crocatum* ruiz & pav.) against testicular assessment on mice model of rheumatoid arthritis. *International Journal of Complementary & Alternatif Medicine*. Volume 1:1
- Ginting, E., Antarlina, S. S & Widowati, S. 2009. Varietas Unggul Kedelai untuk Bahan Baku Industri Pangan. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(3): 79-87.
- Handayani, N. dan **Gofur, A.** 2017. The Potency of Pulutan (*Urena Lobata* L.) Leaves Decoction as Antifertility Based on Its Effect On Uterine Development of Balb C Mice (*Mus Musculus*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 11(4):153-155
- Husna, N.E., Novita, M., Syarifah Rohaya. 2013. Kandungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu Segar Dan Produk Olahannya. *AGITECH*. Vol. 33, No. 3,
- IDF. 2017. Indonesian Diabetic Report. (online) <https://www.idf.org/our-network/regions-members/western-pacific/members/104-indonesia.html> diakses tanggal 19 september 2018
- Jannah, A.M., Susilowati, Witjoro, A. 2017. *Uji Protein Dan Organoleptik Tempe Kedelai Hitam (Glycine Soja) Varietas Detam I Dengan Penambahan Variasi Rempah Sebagai Upaya Peningkatan Gizi*. Skripsi. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan

- Jawi, M dan Budiasa, K.2011. Ekstrak Air Umbi Ubijalar Ungu Menurunkan Total Kolesterol serta Meningkatkan Total Antioksidan Darah Kelinci. *Jurnal Veteriner*, 12 (2): 120-125.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Diabetes Melitus Penyebab Kematian Nomor 6 Di Dunia: KemenkesTawarkan Solusi Cerdik Melalui Posbind*. www.depkes.go.id. Diakses pada tanggal 15 Februari 2017
- Kim S.T., Moley K.H.2008. Paternal effect on embryo quality in diabetic mice is related to poor sperm quality and associated with decreased glucose transporter expression. *Reproduction*. 136:313–322.
- Kretser, K.L.Loveland, A.Meinhardt, D.Simorangkir and N.Wreford. Spermatogenesis. *Human Reproduction & Embryology*. Volume 13
- Lanzafame, F. M., S. La Vignera, E. Vicari and A. E. Calogero.2009. "Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility." *Reproductive biomedicine online* 19(5): 638-659.
- Liu, K., X. Liang and W. Kuang .2011. Tea consumption maybe an effective active treatment for adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Medical Hypotheses* 76(4): 461-463.
- Lupi, R., and Prato, S.D. 2008. B-Cell Apoptosis in Type 2 Diabetes: Quantitative and Functional Consequences. *Diabetes & Metabolism*, 34: S56-S64.
- Mahler, R.J., & Adler, M.L. 1999. Type 2 Diabetes Mellitus: Update on Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(4): 1165-1171

- Malencic, D., Cvejic, J., Miladinovic, J. Polyphenol Content and Antioxidant Properties of Colored Soybean Seeds from Central Europe. *J Med Food*.15:85-95.
- Mayasari, S. 2010. *Kajian Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe Kedelai Hitam (Glycine soja) dan Kacang Merah (Phaseolus vulgaris) dengan Bahan Biji Berkulit dan Tanpa Kulit*. Skripsi tidak diterbitkan. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Mylonas, C. and D. Kouretas. 1999. Lipid peroxidation and tissue damage. In vivo (Athens, Greece) 13(3): 295.
- Miyata, T., Kurokawa, K., & de Strihou, C.V.Y. 2000. Advanced Glycation and Lipoxidation End Products: Role of Reactive Carbonyl Compounds Generated during Carbohydrate and Lipid Metabolism. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11(9): 1744-1752
- Mutaslimah, S. Gofur, A. dan Susilowati. 2017. *Analisis Proksimat Tempe Kedelai Hitam (Glycine soja) Berkulit Biji dan Tanpa Kulit Biji*. SKRIPSI. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Nakajima, N., Nozaki, N., Ishihara, K., Ishikawa, A. & Tsuji, H. 2005. Analysis of isoflavone content in tempeh, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched tempeh. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 100:685–687
- Nurrahman. 2005. Evaluasi Komposisi Zat Gizi Dan Senyawa Antioksidan Kedelai Hitam Dan Kedelai Kuning. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 3(4): 89-92
- Nugroho, A.E. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *BIODIVERSITAS*, 7(4): 378-382.
- Nurmamulyosari, D.L., Hariri, R.M., **Gofur, A.**, Listyorini, D., Susanto, H. dan Handaya, Y. 2013. Effect of Aloe Vera Extract To The Insulin-Like Growth Factor-1 (Igf-1) Levels From Visceral Fat

Tissue In *Rattus Norvegicus* Wistar Diabetes Mellitus. KnE Life Science. 2 :174-179

- Ozougwu, J. C., Obimba, K. C., Belonwu, C. D., dan Unakalamba, C. B. 2013. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*. Vol. 4(4), 46-57
- Prabhu, S. 2013. Genetic and Biochemical Risk Factors for Type 2 Diabetes
- Putri, E.P., **Gofur, A.** & Lestari, S.R. 2017. Pengaruh Variasi Campuran Ekstrak Tempe Kedelai Hitam Dan Ubi Jalar Ungu Terhadap Aktivitas Peroksidasi Lipid dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) Total Hepar Tikus Model Diabetes MELITUS TIPE 2 SKRIPSI. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Rato, L., M. G. Alves, T. R. Dias, G. Lopes, J. E. Cavaco, S. Socorro and P. F. Oliveira 2013. High-energy diets may induce a pre-diabetic state altering testicular glycolytic metabolic profile and male reproductive parameters. *Andrology* 1(3): 495-504.
- Riccardi, G. 2008. Role of glycemic index and glycemic load in the healthy state, in prediabetes and in diabetes. *Am J Clin Nurt*, 87(1):269S-274S.
- Rufer, C.E. & Kulling, S.E. 2006. Antioxidant Activity of Isoflavones and Their Major Metabolites Using Different in Vitro Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(8): 2926-2931
- Sabuluntika dan Ayustaningwarno. 2013. Aktivitas B-Karoten, Antosianin, Isoflavon, dan Aktivitas Antioksidan Pada *Snack Bar* Ubi Jalar Kedelai Hitam Sebagai Alternatif Makanan Selingan Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal of Nutrition College*. Volume 2 (4): 689-695

- Sakuraba, H., Mizukami, H., Yagihashi, N., Wada, R., Hanyu, C., Yagihashi, S. 2002. Reduced beta cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islets of Japanese Type II diabetic patients. *Diabetologia*; 45: 85-96.
- Setyowati, E., A. Gofur, & S.R. Lestari. 2017. *Efek Pemberian Kombinasi Tepung Ketela Ungu Dan Tepung Kedelai Hitam terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Darah Pada Tikus (Rattus norvegicus) Model Diabetes Mellitus Tipe 2*. SKRIPSI. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Starkov, A. A. 2008. The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1147(1): 37-52.
- Suhartini, Wulandari, N., & Lestari, S.R. 2017. *Pengaruh Tepung Kedelai Hitam dan Tepung Ketela Ungu Terhadap Kadar MDA Hepar Tikus Jantan (Rattus Novergicus) Model Diabetes Mellitus Tipe 2*. SKRIPSI. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Takada J. 2008. Metabolic recovery of adipose tissue is associated with improvement in insulin resistance in a model of experimental diabetes. *Journal of Endocrinology*, 198: 51-60
- Bilah, S.M.B., **Gofur, A.**, & Lestari, S.R. Pengembangan *Handout Mata Kuliah Anatomi Fisiologi Manusia Berdasarkan Hasil Penelitian Potensi Tepung Tempe Kedelai Hitam Dan Ubi Jalar Ungu Pada Tikus Model DMT2*. TESIS. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan
- Singh, V.P., Bali, A., Singh, N., & Jaggi, A.S. 2014. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complication. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 18(1): 1-18.
- Tan, A. L.Y., Josephine M. Forbes., and Mark E. Cooper. 2007. AGE, RAGE, And ROS In Diabetic Nephropathy. *Seminars in Nephrology*. 27:130-143

- Takada J. 2008. Metabolic recovery of adipose tissue is associated with improvement in insulin resistance in a model of experimental diabetes. *Journal of Endocrinology*, 198: 51-60
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur and J. Telser. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39(1): 44-84.
- Vidigal, C.P., Cocate, G.L., Pereira, G. & Alfenas, R.K.G. 2012. The Role of Hyperglycemia in The Induction of Oxidative Stress And Inflammatory Process. *Nutricion Hospitalaria*, 27 (5): 1391-1398.
- Wang, Q. et al., 2013. Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical (Review). *Biomedical reports*, 1(5), pp.697–701.
- WHO. 2016. *Global Report on Diabetes*. Genewa: WHO Press.
- WHO. 2017. *Global Report on Diabetes*. Genewa: WHO Press.
- Wrolstad, R.E. 2001. *The Possible Health Benefits of Anthocyanin Pigments and Polyphenolic*. The Linus Pauling Institute. Online : <http://lpi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html>. Diakses Oktober 2016
- Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y., & Zhang, W. 2014. Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*, 11(11): 1185-1200
- Xu, B.J., Chang S.K.S. 2007. A Comparative study on phenolic profiles and antioxidant of legums as affected by extraction solvents. *J. Food Sci.*72(2): 159-166.
- Widya Ningtyas, E., Lestari, S.R. & **Gofur, A.** 2017. Pengaruh Tepung Ketela Ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lamb.) Dan Kedelai Hitam (*Glycine soja* (L.)) Terhadap Ekspresi ROS Dan Nekrosis Sel

B Pankreas Pada Tikus (*Rattus Novergicus*) Model Diabetes Mellitus Tipe 2. SKRIPSI. Universitas Negeri Malang: Tidak Diterbitkan

Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Wulansari, M.A., **Gofur, A.** & Lestari, S.R. 2018. Ekstrak Tempe Kedelai Hitam dan Ubi Jalar Ungu Terhadap Toleransi Darah Tikus Model DMT2. *Biogenesis*. Vol 6, No. 1:(28-35)

GLOSSARIUM

Absorpsi	Asupan cairan atau zat lain oleh sel-sel kulit atau selaput lendir; lewatnya makanan yang dicerna dari saluran pencernaan ke dalam darah atau getah bening.
Akrosom	Organel mirip lisosom pada kepala sperma yang mengandung enzim untuk memfasilitasi penetrasi sperma menuju oosit sekunder.
Androgen	Hormon kelamin yang diproduksi oleh testes pada jantan dan korteks adrenal, baik pada jantan maupun betina; bertanggung jawab terhadap libido. Dua androgen utama adalah testosteron dan dihidrotestosteron.
Antioksidan	Molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain.
Antosianin	Pigmen larut air yang secara alami terdapat pada berbagai jenis tumbuhan.
<i>Blood-testis barrier</i>	Lapisan pelindung yang dibentuk oleh sel sertoli untuk mencegah respon imun terhadap antigen yang diproduksi oleh sel spermatogenik dengan cara memisahkan sel untuk melakukan kontak langsung dengan darah.
Ekstrak	Zat yang dihasilkan dari ekstraksi bahan mentah secara kimiawi. Senyawa kimia yang diekstrak meliputi senyawa aromatik, minyak atsiri, ester, dan sebagainya yang kemudian menjadi bahan baku proses industri atau digunakan secara langsung oleh masyarakat.
Ejakulasi	Refleks pengeluaran cairan semen dari penis

Enzim	Substansi yang mempercepat reaksi kimia; katalisator organik, umumnya berupa protein.
Epididimis	Organ berbentuk “tanda koma” yang berada di sepanjang posterior testis dan mengandung duktus epididimis; merupakan tempat pematangan sperma.
Fermentasi	Pengubahan karbohidrat menjadi alkohol dan karbon dioksida atau asam amino organik menggunakan ragi, bakteri, fungi atau kombinasi dari ketiganya di bawah kondisi anaerobik.
Fertilisasi	Penetrasi sperma menuju oosit sekunder untuk membentuk ovum dan penyatuan nukleus dari masing-masing gamet.
Folikel	Kantung atau rongga sekresi kecil, sekelompok sel yang mengandung oosit yang berkembang dalam ovarium.
Follicle-stimulating hormone (FSH)	Hormon yang disekresikan oleh kelenjar pituitari anterior; hormon FSH menginisiasi perkembangan sel telur dan menstimulasi ovarium untuk mensekresikan estrogen pada betina, dan menginisiasi produksi sperma pada jantan.
Hormon	Substansi yang disekresikan oleh sel-sel endokrin yang mengubah aktivitas fisiologis sel target pada tubuh.
Infertilitas	Ketidakmampuan untuk hamil atau menyebabkan konsepsi; disebut juga steril.
Inflamasi	Respon dari suatu organisme terhadap patogen dan alterasi mekanis dalam jaringan, berupa rangkaian reaksi yang terjadi pada tempat jaringan yang mengalami cedera, seperti karena terbakar, atau terinfeksi. Radang atau inflamasi

	adalah satu dari respon utama sistem kekebalan terhadap infeksi dan iritasi.
Inhibin	Hormon yang disekresikan oleh gonad untuk menekan sekresi FSH oleh kelenjar pituitari anterior.
Isoflavon	Senyawa 15 karbon yang mirip seperti flavonoid hanya saja cincin B pada isoflavonoid terempel pada atom karbon posisi ketiga pada cincin karbon di tengah. Isoflavonoid terutama terdapat pada anggota Papilionoideae, seperti kedelai (<i>Glycine max</i>) dan klover (<i>Trifolium spp</i>)
Kapasitasi	Perubahan fungsional pada sperma ketika sperma memasuki saluran reproduksi betina, sehingga membuat sperma dapat membuahi oosit sekunder.
Kelenjar bulbouretral	Salah satu pasangan kelenjar yang terletak di inferior prostat pada kedua sisi uretra dan mensekresikan cairan alkali menuju uretra kavernosa; disebut juga kelenjar cowper.
Kelenjar ejakulatori	Saluran transportasi sperma dari duktus (vas) deferens menuju uretra prostatik
Kelenjar endokrin	Kelenjar yang mensekresikan hormon menuju cairan interstisial kemudian ke darah; kelenjar tanpa saluran
Membran basalis	Lapisan ekstraselular tipis diantara jaringan epitel dan jaringan ikat; terdiri atas membran basalis dan lamina retikularis.
Metabolisme	Semua reaksi kimia yang terjadi di dalam organisme, termasuk yang terjadi di tingkat sel.
Nutrisi	Substansi kimia dalam makanan yang menyediakan energi, membentuk komponen-

	komponen baru dalam tubuh, atau membantu memelihara fungsi tubuh.
Nutrigenomik	Suatu studi ilmiah yang mempelajari mengenai dinamika, regulasi dan cara dari suatu gen spesifik berinteraksi dengan suatu senyawa atau bioaktif pada suatu makanan tertentu.
Pangan Fungsional	Makanan dan bahan pangan yang dapat memberikan manfaat tambahan di samping fungsi gizi dasar pangan tersebut dalam suatu kelompok masyarakat tertentu.
Penis	Organ untuk urinasi dan kopulasi pada jantan; digunakan untuk transfer semen pada saluran reproduksi wanita melalui vagina.
Radikal bebas	Molekul yang kehilangan satu buah elektron dari pasangan elektron bebasnya, sehingga menjadi radikal bebas yang mempunyai elektron tak berpasangan. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultraviolet, zat pemicu radikal dalam makanan dan polutan lain.
Rete testis	Jaringan pada kantung dalam testes
Sekresi	Produksi dan pelepasan substansi aktif dari sel atau kelenjar
Sel leydig	Sekelompok sel yang mensekresikan testosteron; terletak di jaringan ikat diantara tubulus seminiferus pada testis yang sudah matang.
Sel sperma	Sel gamet jantan yang matang; disebut juga spermatozoon.
Semen	Cairan yang dikeluarkan saat ejakulasi oleh jantan yang terdiri atas campuran sperma dan sekresi tubulus smeiniferus, vesikula seminalis, kelenjar prostat dan bulbouretral.

Spermatogenesis	Proses pembentukan dan perkembangan sperma dalam tubulus seminiferus.
Spermiogenesis	Maturasi dari spermatid menjadi spermatozoa.
Stress oksidatif	Suatu keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya.
Testis	Gonad jantan yang memproduksi sperma, hormon testosteron, dan inhibin.
Testosteron	Hormon kelamin jantan (androgen) yang disekresikan oleh sel leydig pada testis matang; dibutuhkan untuk perkembangan sperma; bersama dengan dihidrotestosteron mengontrol pertumbuhan dan perkembangan organ reproduksi jantan, karakter seks sekunder, dan pertumbuhan badan.
Tubulus seminiferus	Sebuah saluran yang menggulung sangat rapat dan terletak di testis; tempat produksi sperma

