

KADAR TESTOSTERON SERUM DAN CASPASE-3 AKTIF SEL LEYDIG PADA TIKUS JANTAN *Sprague Dawley* DIABETES MELITUS AKIBAT PEMBERIAN SUSPENSIBUBUK KACANG KEDELAI KUNING (*Glycin max*)

Wiyadi¹⁾

¹⁾Dosen Jurusan Keperawatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Kaltim

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan salah satu penyebab kematian utama di dunia karena komplikasi-komplikasi yang ditimbulkan. Komplikasi kronis pada system reproduksi pria yang sering adalah penurunan kadar testosteron. Hormon ini diproduksi di dalam sel Leydig. Kacang kedelai kuning (*G. max*) mengandung berbagai komponen nutrisi yang dapat sebagai antidiabetik, antikolesterol, antiosteoporosis dan antikanker prostate. Kacang kedelai kuning juga mengandung fitoestrogen yang merupakan estrogenik eksogen yang dapat menurunkan kadar testosteron. Penelitian ini bertujuan menilai kadar serum testosteron dan caspase-3 aktif sel Leydig pada tikus jantan *SD* diabetes yang diinduksi STZ akibat pemberian suspensi bubuk kedelai kuning. Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimen dengan design *pre and post test control group*. Penelitian ini dilakukan pada tikus jantan *SD* sebanyak 30 ekor terbagi dalam 5 kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebelum dan sesudah pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning (*G. max*) 400mg/kgBB/hr, 800 mg/kgBB/hr dan 1600 mg/kgBB/hr selama 4 minggu tidak meningkatkan kadar testosteron serum secara signifikan ($p>0,05$) dan tidak menghambat caspase-3 aktif sel Leydig secara signifikan ($p>0,05$) setelah pemberian suspensi bubuk *G. max*. Suspensi bubuk *G. max* tidak memberikan efek terhadap kadar testosteron serum dan tidak menghambat caspase-3 aktif sel Leydig pada tikus jantan *SD* diabetes yang diinduksi STZ.

ABSTRACT

Yellow soybeans (*G. max*) contain a variety of nutritional components which can be as antidiabetik, antikolesterol, antiosteoporosis and anticancer of prostate. *G. Max* also contain Phytoestrogens which is exogenous oestrogenic that can decrease testosterone levels. This research aims to assess the levels of serum testosterone and caspase-3 in rat Leydig cell active male *SD* diabetes STZ induced due to the grant of suspension of *G. max* powder. This research uses experimental research design with design pre and post test control group. This research was conducted on the 30 male rats, divided in 5 groups. The results showed that before and after the grant of suspension of *G. max* powder 400 mg capsule/kg/day, 800 mg/kg/day and 1600 mg/kg/day for 4 weeks do not increase serum testosterone levels were significantly ($p> 0.05$) and do not inhibit caspase-3 Leydig cells active significantly ($p >0.05$) after the grant of suspension of *G. max* powder. *G. max* powder suspension does not give effect to serum testosterone levels and does not inhibit caspase-3 in rat Leydig cell active male *SD* diabetes which inducted STZ.

Keywords: *G.max*, Testosterone serum, Diabetes mellitus

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) atau yang dikenal sebagai penyakit kencing manis merupakan salah satu penyebab kematian yang utama di dunia. Badan Kesehatan Dunia pada tahun 2003 memperkirakan 194 juta jiwa atau 5,1 % dari 3,8 miliar penduduk berusia 20-79 tahun menderita DM dan pada tahun 2025 diperkirakan meningkat menjadi 333 juta jiwa. Sedangkan di Indonesia penderita DM juga mengalami kenaikan dari 8,4 juta jiwa pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta jiwa pada tahun 2030.

Diabetes melitus pada pria dapat menyebabkan infertil. Penderita DM memiliki kadar serum testosteron, *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle Stimulating hormone* (FSH) yang rendah, hipoalumenia, hiperkolesterol dan hiperglikemia yang dapat mempengaruhi fungsi seksual, dan kapasitas reproduksi pada puncak masa reproduksi. Testosteron bebas dan testosterone total dibawah normal pada penderita dengan DM tipe 2. Kadar testosterone yang rendah berkaitan erat dengan resistensi insulin, hiperglikemia, hipertensi, dislipidemia, dan meningkatnya risiko penyakit pembuluh darah⁶. Kadar testosterone yang rendah juga disebabkan oleh tingginya aktivitas aromatase pada jaringan lemak yang berperan penting pada perubahan testosterone menjadi estradiol dan banyaknya estradiol menekan hipotalamus hipofisis aksis.

Hiperglikemia pada DM dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) intraseluler melalui empat jalur yaitu: peningkatan glikolisis, aktivasi jalur intraseluler sorbitol (polyol), auto-oxidasi glukosa, dan glikosilasi protein non-enzimatik yang berperan penting pada patogenesis

komplikasi diabetes. Sel Leydig juga merupakan salah satu sel yang terletak dekat dengan makropag interstisial testiskuler sumber ROS. *Reactive Oxygen Species* (ROS) diproduksi terus menerus di dalam sel pada mitokondria dan rantai reaksi transport elektron serta proses metabolisme. Enzim steroidogenik sitokrom P450arom di dalam sel Leydig juga memproduksi ROS sebagai mekanisme reaksi katalitik⁹. *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang banyak akan memblok tranport kolesterol dan menghambat steroidogenesis serta merusak sel Leydig sehingga produksi testoteron menurun. *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang meningkat pada penderita DM menyebabkan terjadinya apoptosis sel Leydig.

Diabetes melitus merupakan penyakit yang kronis sehingga memerlukan pengobatan seumur hidup. Diabetes yang kronis membutuhkan pengobatan yang lama dan biaya besar. Menurut data WHO, biaya yang harus dikeluarkan sebagai implikasi ekonomis komplikasi DM kurang lebih mencapai 46.207 dolar AS pertahun. Pengelolaan DM untuk mencegah timbulnya komplikasi lebih lanjut diperlukan manajemen pengelolaan diabetes, salah satunya adalah penggunaan diet dari bahan baku kacang kedelai kuning guna mempertahankan kadar gula darah dalam batas normal. Kacang kedelai dapat membantu menurunkan kadar gula darah yang melebihi batas normal tersebut, sehingga sangat membantu mengendalikan gejala diabetes^{14,15}. Kacang kedelai juga bermanfaat untuk meningkatkan pengontrolan metabolisme lipid, aktifitas enzim antioksidan yang dapat menurunkan stres oksidasi pada penderita DM tipe 2. Kedelai memiliki kaya akan

asam amino arginin dan glisin yang merupakan komponen penyusun hormon insulin dan glukogen yang disekresi oleh kelenjar pankreas tubuh¹⁴.

Kacang kedelai juga mengandung isoflavon yaitu fitoestrogen (*genistein* dan *daidzein*) yang struktur kimianya mirip dengan *17- β -estradiol* yang disebut *estrogen-like molecules* atau estrogen non-steroid. Efek fitoestrogen dapat mendekati efek fisiologi dari endogenous *17- β -estradiol* sehingga terjadi kompetitif untuk ikatan dengan ER⁹. Pada pria atau wanita menopause kadar estrogen endogen rendah sehingga ikatan dari fitoestrogen dan *17- β -estradiol* manifestasinya dapat terlihat berupa penurunan kadar testosteron dan peningkatan kadar estrogen pada pria meskipun menimbulkan pro-kontra.

Kadar serum testosteron dan *Luteinizing Hormone (LH)* menurun setelah mengkosumsi protein bubuk kedelai dan meningkat lagi setelah dihentikan. Fitoestrogen pada periode perinatal dapat mempengaruhi sekresi androgen pada sel Leydig testis tikus dewasa, penurunan kadar testosteron dengan mengubah pengiriman kolesterol kedalam jalur steroidogenesis dan mempengaruhi jalur biosintesis produksi androgen tanpa ada perubahan LH, *5 α -reduktase* atau *steroidogenic acute regulatory (StAR)* testis, menghambat enzim *17- β -hydroxysteroid dehydrogenase* pada tikus jantan SD.

Tujuan penelitian adalah menilai penurunan kadar testosteron darah setelah pemberian suspensi bubuk kedelai kuning (*G. max*) pada tikus jantan SD diabetes yang diinduksi streptozotocin dan penghambatan apoptosis sel Leydig setelah pemberian suspensi bubuk

kedelai kuning pada tikus jantan SD diabetes yang diinduksi streptozotocin.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen dengan design penelitian *pre and post test control group design*. Penelitian dilakukan dengan memberikan manipulasi pada subyek penelitian yaitu hewan coba dan membandingkan dengan kelompok kontrol.

Variabel-variabel pada penelitian ini adalah Variabel bebas suspensi bubuk kedelai kuning (*G. max*). Variabel tergantung kadar testosteron dan apoptosis sel Leydig. Variabel terkontrol subyek diambil dari jenis kelamin jantan, umur dan berat badan relatif sama. Variabel bahan coba kedelai kuning diperoleh dari pasar tradisional. Variabel pemeliharaan semua subyek dipelihara dalam kandang dengan jenis pakan dan minum yang sama serta pemberian secara *ad libitum*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah; kandang tikus, kanul spuit, alat pembuat bubuk, spuit injeksi, sentrifuge, spektrofotometer, timbangan digital merk sartorius, tabung kapiler dan tempat sampel darah, ELISA Kit dan caspase-3 aktif

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih spesies *Sprague Dawley* jantan usia 11-12 minggu, berat badan 200–250 gr sebanyak 30 ekor yang di dapat dari Laboratorium Pusat Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, pakan tikus, kedelai kuning yang diperoleh dari pasar tradisional Yogyakarta dan aquades, Streptozotocin merk MP Biomedis Inc.

Tempat Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Faal UGM sebagai tempat pemeliharaan hewan coba dan pemeriksaan kadar glukosa darah. Laboratorium Fisiologi dan Patologi Klinik FKH UGM untuk pemeriksaan kadar serum testosteron. Laboratorium Patologi Analomi untuk pemeriksaan Caspase-3 aktif.

Terminasi dilakukan menggunakan inhalasi ether kemudian dilakukan dekapitasi. Setelah tikus diterminasi, testis kiri diambil secara hati-hati melalui insisi transversal di bagian bawah abdomen. Testis difiksasi dengan PBS formalin 10%. Selanjutnya dilakukan pembuatan *embedding paraffin* dan diiris dengan ketebalan 3 μ M.

Kadar testosteron diukur dengan metode ELISA. Apoptosis sel Leydig diperiksa dengan menggunakan metode caspase 3 aktif immunohistokimia. Prosedur pemeriksaan sesuai²³ dilakukan deparafinasi dengan larutan xylol 2 kali masing masing 5 menit terhadap preparat testis, dilanjutkan rehidrasi menggunakan etanol. Peraparat testis secara berturut-turut dimasukkan dalam etanol absolut 2 kali 3 menit, etanol 95% 2 kali masing -masing 3 menit dan etanol 70% 3 menit, terakhir dicuci dengan aquabides. Peraparat testis dicuci dengan PBS (*phosphate buffered saline solution*), diberi tetesan proteinase K selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan inkubasi dalam PBS (*phosphate buffered saline solution*) yang mengandung H₂O₂ 3% untuk menghambat aktifitas peroksidase endogen.

Setelah preparat testis diinkubasi dengan larutan H₂O₂ 3% selama 5 menit, kemudian dibilas dengan PBS selama 15 menit. Preparat testis kemudian diblok dengan serum goat normal 1,5% dalam PBS dan

diinkubasi dengan caspase-3 antihuman poliklonal rabbit (0,5 μ g/ml) dalam serum goat normal 1,5% dalam PBS selama 45 menit pada suhu ruangan. Preparat testis kemudian diinkubasi pada biotin konjugat goat antirabbit IgG, Avidin-biotin-peroksida kompleks selama 1 jam dan larutan diaminobenzidane (DAB), kemudian dilakukan *counter-staining* dengan hematosilin. Untuk kontrol negatif tambahkan antibodi primer rabbit IgG 1 μ g/ml. Pengamatan dan penghitungan caspase-3 aktif sel Leydig terhadap potongan jaringan melintang testis. Caspase-3 aktif sel Leydig ditandai dengan inti berwarna coklat, sedangkan sel Leydig normal berwarna kebiruan.

Perhitungan sel Leydig yang mengalami caspase-3 aktif dengan merandom dari ruang intertesiel (20 perpreparat testis) diantara tiga atau empat sirkuler tubulus, kemudian dirata-rata.

Data hasil penelitian diuji dengan menggunakan program SPSS. Perbedaan antara kadar testosteron serum antar kelompok perlakuan dan kontrol diuji dengan uji Kruskal-Willis, kemudian jika menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon signed ranks test*. Untuk menilai caspase-3 aktif sel Leydig antar kelompok perlakuan dan kontrol dianalisa dengan menggunakan *Kruskall-Wallis*, kemudian jika menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney test* untuk mengetahui derajat perbedaan antar kelompok.

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Subyek pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan SD dengan umur 11-12 minggu berat

badan 200-250 gram yang dikelompokkan menjadi lima kelompok masing-masing terdiri 6 ekor tikus. Adapun lima kelompok tersebut terdiri dari; kelompok kontrol (K1), kelompok diabetes (K2), kelompok tikus dengan perlakuan suspensi bubuk kacang kedelai kuning 400 mg/kgBB/hr (K3), kelompok tikus dengan perlakuan suspensi bubuk kacang kedelai kuning 800 mg/kgBB/hr (K4) dan kelompok tikus dengan perlakuan suspensi bubuk kacang kedelai kuning 1600 mg/kgBB/hr (K5). Pada saat proses adaptasi terjadi kematian satu ekor tikus pada kelompok dua (K2), kemudian pada saat perlakuan terjadi kematian lagi 2 ekor tikus pada kelompok kontrol negatif (K1), 2 ekor pada kelompok kontrol positif (K2), satu ekor tikus pada kelompok dosis 400 mg/kgBB/hr (K3) dan kelompok dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) dan paska perlakuan mati lagi satu ekor tikus pada kelompok dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5) sehingga pada akhir penelitian jumlah tikus tersisa 22 ekor.

Kadar testosteron serum pada kelompok kontrol (K1) adalah $3,33 \pm 1,379$ ng/ml dan setelah 4 minggu $2,99 \pm 1,418$ ng/ml. Kadar tesosteron pada kelompok diabetes (K2) adalah $0,28 \pm 0,056$ ng/ml dan setelah 4 minggu kadar testosteron serum adalah $0,25 \pm 0,011$ ng/ml mengalami penurunan $0,034$ ng/ml. Kadar testosteron serumpada kelompok dosis 400 mg/kgBB/hr (K3) sebelum pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning adalah $0,26 \pm 0,026$ ng/ml dan

setelah perlakuan $0,29 \pm 0,044$ ng/ml mengalami kenaikan $0,032$ ng/ml. Kadar testosteron serum pada kelompok dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) sebelum pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning adalah $0,27 \pm 0,0436$ ng/ml dan setelah perlakuan $0,31 \pm 0,253$ ng/ml mengalami kenaikan $0,037$ ng/ml. Kadar testosteron serum pada kelompok dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5) sebelum pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning adalah $0,29 \pm 0,120$ ng/ml dan setelah perlakuan $0,33 \pm 0,059$ ng/ml mengalami kenaikan $0,038$ ng/ml.

Kadar testosteron serum sebelum pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning menunjukkan adanya perbedaan bermakna $p < 0,05$ antar kelompok pada uji *Kruskal-Willis*. Perbedaan bermakna $p < 0,05$ antara kelompok kontrol (K1) dengan kelompok diabetes (K2), kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 400 mg/kgBB/hr (K3), kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 800 mg/kgBB/hr (K4), dan kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5) tetapi tidak bermakna $p > 0,05$ untuk kelompok diabetes (K2) dengan kelompok K3, K4 dan K5 dari hasil uji *Mann-Whitney*.

Kadar testosteron serums etelah pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna $p < 0,05$ antar

Tabel 2
 Hasil uji *Wilcoxon signed ranks test* kadar testosteron serum sebelum dan sesudah pemberian

Kelompok	n	Kadar testoseron serum (mean ± SD)ng/ml		P-value
		Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan	
Kelompok kontrol (K1)	4	3,33 ± 1,379	2,99 ± 1,418	0,068
Kelompok diabetes (K2)	3	0,28 ± 0,565	0,24 ± 0,02	0,285
Diabetes + dosis 400 mg/kgBB/hr (K3)	5	0,26 ± 0,262	0,29 ± 0,044	0,080
Diabetes + dosis 800 mg/kgBB/hr (K4)	5	0,27 ± 0,043	0,31 ± 0,025	0,138
Diabetes + dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5)	6	0,29 ± 0,12	0,33 ± 0,059	0,463

kelompok pada uji *Kruskal-Willis*. Kadar testosteron serum terjadi perbedaan bermakna $p < 0,05$ antara kelompok kontrol (K1) dengan kelompok diabetes (K2), kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 400 mg/kgBB/hr (K3), kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) dan kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5). Kadar testosteron serum setelah pemberian suspensi bubuk kacang kedelai ada perbedaan bermakna $p < 0,05$ antara kelompok diabetes (K2) dengan kelompok dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) dan kelompok dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5) pada uji *Mann-Whitney*.

Kadar serum testosteron sebelum dan sesudah pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning (*G. max*) berdasarkan hasil uji *Wilcoxon signed ranks test* tidak meningkatkan secara bermakna ($p > 0,05$) untuk semua kelompok perlakuan (Tabel.2).

suspensai bubuk kacang kedelai kuning (*G. max*)

Caspase-3 aktif sel Leydig ditentukan dengan metode immunohistokimia setelah 4 minggu pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning (*G.max*). Pada kelompok kontrol (K1) jumlah rerata caspase-3 aktif adalah $0,6 \pm 0,23$, kelompok diabetes (K2) adalah $2,6 \pm 0,95$, kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dengan dosis 400 mg/kgBB/hr (K3) adalah $2,1 \pm 0,72$, kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dengan dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) adalah $2,0 \pm 0,89$, dan kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dengan dosis 1600 mg/kgBB/hr adalah $1,8 \pm 0,93$.

Hasil uji *Kruskal-Wallis test* antar kelompok terhadap jumlah rerata caspase-3 aktif menunjukkan perbedaan bermakna $p < 0,05$. Pada uji *Mann-Whitney test* menunjukkan perbedaan bermakna $p < 0,05$ antara kelompok kontrol (K1) dengan kelompok diabetes (K2), kelompok

Tabel 3
Uji Mann-Whitney test jumlah rerata caspase-3 aktif pada sel Leydig

Kelompok	n*	Caspase-3 aktif (Mean \pm SD)
Kelompok kontrol (K1)	4	0,6 ^a \pm 0,23
Kelompok diabetes (K2)	3	2,6 ^b \pm 0,95
Diabetes + dosis 400 mg/kgBB/hr(K3)	5	2,1 ^b \pm 0,72
Diabetes + dosis 800 mg/kgBB/hr(K4)	5	2,0 ^b \pm 0,89
Diabetes + dosis 1600 mg/kgBB/hr(K5)	3	1,8 ^b \pm 0,93

Keterangan ^{a,b} : huruf yang berbeda menunjukkan signifikasi ($p < 0,05$).

* n : besar sampel

dosis 400 mg/kgBB/hr (K3), kelompok dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) dan kelompok dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5) tetapi tidak bermakna antara kelompok K2 dengan K3, K4 dan K5 atau sebaliknya (Tabel 3). Kadar testosteron serum pada penelitian ini, setelah pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning pada tikus jantan SD selama 4 minggu secara peroral tidak menunjukkan adanya perbedaan dengan semua kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 400 mg/kgBB/hr (K3), 800 mg/kgBB/hr (K4) dan 1600 mg/kgBB/hr (K5). Penelitian tentang fragmentasi DNA spermatozoa pada tikus jantan Wistar diabetes yang diinduksi streptozotocin dapat dicegah dengan pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dengan dosis 200 mg/kgBB/hr, 400 mg/kgBB/hr dan 800 mg/kgBB/hr. Penelitian yang dilakukan oleh Weber *et al.*, (2001) membuktikan bahwa kadar testosteron menurun secara bermakna ($p < 0,05$) pada tikus jantan *Sprague-Dawley* berumur 50 hari dengan memberikan makanan kaya akan fitoestrogen (Fito-600) selama 20

hari, dibandingkan dengan kelompok kontrol. Gardner-Thorp *et al.*, (2002) meneliti pada relawan pria sehat dan tidak merokok diberikan isoflavon 120 mg/hari (*daidzein* 75 mg/hari dan *genistein* 45 mg/hari) selama 6 minggu, hasilnya kadar testosteron menurun secara signifikan ($p < 0,05$) meskipun tidak menurunkan serum steroid seks yang lain, albumin dan *sex hormone binding globulin* (SHGB), memperbaiki stres oksidasi, dan menurunkan hidroperoksida secara signifikan.

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar testosteron serum pada tikus jantan *Sprague Dawley* kelompok kontrol (K1) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lain (K2, K3, K4 dan K5) secara signifikan ($p < 0,05$). Kelompok K2, K3, K4 dan K5 kadar testosteron serum menjadi rendah akibat diabetes kronis dengan induksi STZ. Pada penderita DM tipe 2 kadar testosteron total dan bebas lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan DM tipe 1. Pada pria penderita diabetes kadar testosteron lebih rendah dibandingkan pada pria tanpa riwayat diabetes. Kadar insulin yang rendah menyebabkan gangguan pada

metabolisme karbohidrat akibatnya terjadi peningkatan glukosa darah (hiperglikemia). Hiperglikemia kronis mengakibatkan terjadinya peningkatan radikal bebas melalui berbagai jalur yang menyebabkan stres oksidasi dan penurunan aktifitas 17,20 lyase yang berakibat pada penurunan *dehydroepiandrosterone* (DHEA) sebagai prekursor hormon tes-tosteron. *Dehydroepiandrosterone* yang rendah mengakibatkan rendahnya kadar testosteron. Kadar testosteron serum pada penelitian ini diukur pada minggu kedua setelah diinduksi STZ .

Kadar testosteron serum pada kelompok kontrol (K1) setelah 4 minggu terjadi sedikit menurun tetapi masih dalam batas normal. Kadar testosteron normal pada tikus dewasa antara 0,66 -5,4 ng/ml. Pada kelompok diabetes (K2) terjadi penurunan kadar testosteron serum meskipun tidak bermakna, hal ini disebabkan semakin kronisnya kondisi DM. Kadar testosteron serum pada kelompok diabetes (K2) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai dosis 400 mg/kgBB/hr (K3) tetapi tidak bermakna ($p>0,05$), sedangkan terhadap kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dosis 800 mg/kgBB/hr (K4) dan kelompok dosis 1600 mg/kgBB/hr (K5) kadar testosteron serum meningkat secara bermakna ($p<0,05$). Kadar testosteron serum pada kelompok ini meningkat meskipun belum mencapai batas normal. Hal ini kemungkinan disebabkan karena DM pada tikus sudah dalam kondisi kronis. Kacang kedelai kuning mengandung isoflavon yang dapat mempengaruhi pembelahan sel

Leydig. Sel Leydig yang meningkat jumlahnya menyebabkan sekresi testosteron juga meningkat²⁵.

Pemeriksaan caspase-3 aktif untuk menilai apoptosis sel Leydig dilakukan setelah 4 minggu pada kelompok kontrol (K1), kelompok diabetes (K2) dan kelompok dengan pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning ternyata mengalami apoptosis sel Leydig secara bermakna ($p<0,05$) antara kelompok kontrol (K1) dengan semua kelompok (K2,K3,K4 dan K5). Caspase-3 aktif pada kelompok diabetes (K2) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning pada semua dosis (K3,K4 dan K5) tetapi tidak signifikan ($p>0,05$). Penelitian lain pada berbagai subyek dan variasi hasil, diantaranya penelitian pada tikus jantan Wistar berumur 90 hari sebanyak 14 ekor terdiri dari dua kelompok, 8 ekor kelompok kontrol (fitoestrogen rendah 3 mg/kgBB/hr) dan 6 kelompok perlakuan (fitoestrogen tinggi 14 mg/kgBB/hr) diberikan selama 24 hari, terjadi peningkatan apoptosis sel germinal pada kelompok perlakuan (fitoestrogen tinggi) secara signifikan ($p<0,001$). *Hypothalamo-pituitary-testicular axis* dan kerja estrogen terganggu sehingga mengakibatkan peningkatan apoptosis sel germinal (26).

Pada penelitian ini apoptosis sel Leydig pada tikus jantan SD diabetes dapat dihambat dengan pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning pada semua dosis, ada kecenderungan jumlah apoptosis sel Leydig mengalami penurunan meskipun tidak bermakna ($p>0,05$). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa,

isoflavon meningkatkan jumlah sel Leydig²⁵.

Kacang kedelai kuning diketahui memiliki berbagai kandungan nutrisi sebagai antidiabetik, antikarsinogenik, antiosteoporosis, antiproliferasi, antikolesterol dan perubahan hormon²⁷. Kacang kedelai juga mengandung berbagai vitamin diantaranya vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Chang *et al.*, (2008) kacang kedelai bermanfaat untuk mengontrol kadar gula darah, metabolisme lipid dan aktifitas enzim antioksidan pada penderita DM tipe 2. Kacang kedelai juga potensial untuk manajemen diet pada penderita DM. Pada penelitian ini suspensi bubuk kacang kedelai dari semua dosis tidak signifikan menurunkan kadar testosteron tikus, sehingga berdasarkan penelitian ini kacang kedelai kuning masih relatif aman untuk kesehatan sistem reproduksi pada tikus jantan *Sprague Dawley* dewasa.

Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian tentang akibat pemberian suspensi bubuk kacang kedelai (*G. max*) pada tikus diabetes yang diinduksi *streptozotocin* dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning (*G. max*) tidak memberikan efek terhadap kadar testosteron serum dan tidak menghambat caspase-3 aktif sel Leydig pada tikus jantan SD diabetes yang diinduksi *streptozotocin*. Adapun saran untuk penelitian berikutnya adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang profil kadar testosteron serum secara series dan hambatan caspase-3 aktif sel Leydig pada tikus jantan SD diabetes selama

pemberian suspensi bubuk kacang kedelai kuning dengan jumlah hewan coba yang lebih banyak.

Daftar Pustaka

- Adlercreutz H, Mazur W. *Phytoestrogens and Western diseases*. Ann Med 1997 Apr;29(2):95-120.
- Ahmed RG. *The Physiological and Biochemical Effects of Diabetes on the Balance Between Oxidative Stress and Antioxidant Defence System*. Med J Islam Aca Sci 2005;15(1):31-42.
- Akingbemi BT, Braden TD, Kempainen BW, Hancock KD, Sherrill JD, Cook SJ, et al. *Exposure to Phytoestrogens in the Perinatal Period Affects Androgen Secretion by Testicular Leydig Cells in the Adult Rat*. J Endocrinol 2007;149(9):4475-88.
- Andayani TM. *Analisis biaya terapi Diabetes mellitus di Rumah Sakit Dr. Sardjito Yogyakarta*. Majalah Farmasi Indonesia 2006;17(3):130-5.
- Anonim. *Manfaat Susu Kedelai Untuk Penderita Diabetes*. <http://mdl525.info/2008/01/23/manfaat-susu-kedelai-untuk-penderita-diabetes/comment-page-2/> 2008 Jan 12;1(23):2.
- Assinder S, Davis R, Fenwick M, Glover A. *Adult-only exposure of male rats to a diet of high phytoestrogen content increases apoptosis of meiotic and post-meiotic germ cells*. Reproduction 2007 Jan;133(1):11-9.
- Chandel A, Dhindsa S, Topiwala S, Chaudhuri A, Dandona P. *Testosterone concentration in*

- young patients with diabetes. *Diabetes Care* 2008 Oct; 31(10):2013-7.
- Chang JH, Kim MS, Kim TW, Lee SS. *Effects of soybean supplementation on blood glucose, plasma lipid levels, and erythrocyte antioxidant enzyme activity in type 2 diabetes mellitus patients.* *Nutr Res Pract* 2008;2(3):152-7.
- Colon E. *Autocrine and Paracrine Regulator of Leydig Cell Survival in the Postnatal Testis Karolinska Institute.* Anno 1810. Stockholm.; 2007.
- Desai N, Sabanegh Jr E, Kim T, Agarwal A. *Free Radical Theory of Aging : Implication in Male Infertility.* *Urology* 2010;75[1], 14-19.
- Diemer T, Allen J, Hales KH, Hales DB. *Reactive Oxygen Disrupts Mitochondria in MA-10 Tumor Leydig cell and Inhibits Steroidogenesis Acute Regulatory (StAR) Protein and Steroidogenesis.* *Endocrinology* 2003;10(1210):1-42.
- Dinulovic D, Radonjic G. *Diabetes mellitus/male infertility.* *Arch Androl* 1990;25(3):277-93.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. *Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes.* *Endocr Rev* 2002 Oct; 23(5):599-622.
- Goodin S, Shen F, Shih WJ, Dave N, Kane MP, Medina P, et al. *Clinical and biological activity of soy protein powder supplementation in healthy male volunteers.* *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007 Apr;16(4):829-33.
- Khushk I, Dohot MU, Baloach SA, Bhutto MA. *The Evaluation of Soybean Extraccts in Alloxan - Induced Diabetic Rabbits.* *World Applied Sci J* 2010;8:22-5.
- Kim JM, Luo L, Zirkin BR. *Caspase-3 activation is required for Leydig cell apoptosis induced by ethane dimethanesulfonate.* *Endocrinology* 2000 May;141(5):1846-53.
- Maneesh M, Jayalaksmi H, Singh TA, Chakrabati A. *Impaired Hypothalamic - Pituitary-Gonadal Axis Function In Men With Diabetes Mellitus.* *Indian J Clin Biochem* 2006;21 (1):165-8.
- Mitchell JH, Cawood E, Kinniburgh D, Provan A, Collins AR, Irvine DS. *Effect of a phytoestrogen food supplement on reproductive health in normal males.* *Clin Sci (Lond)* 2001 Jun;100(6):613-8.
- Nagata C, Takatsuka N, Shimizu H, Hayashi H, Akamatsu T, Murase K. *Effect of soymilk consumption on serum estrogen and androgen concentrations in Japanese men.* *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001 Mar;10(3):179-84.
- Pilsakova L, Rieckensky I, Jagla F. *The physiological actions of isoflavone phytoestrogens.* *Physiol Res* 2010;76(3):1-32.
- Purwaningsih W, Rizal DM, Kadarsih S. *Peningkatan Fragmentasi DNA Spermatozoa pada Tikus Jantan (Rattus norvegicus) Diabetes Mellitus yang Diinduksi Streptozotocin dapat Dicegah dengan Pemberian Suspensi Bubuk Kedelai Kuning.* FK.UGM. Yogyakarta; 2010.
- Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CA. *Diabetes mellitus is associated with subnormal*

- serum levels of free testosterone in men. *BJU Int* 2005 Oct;96(6):867-70.
- Saad F, Gooren LJ. *The role of testosterone in the etiology and treatment of obesity, the metabolic syndrome, and diabetes mellitus type 2.* *J Obes* 2011;2011.
- Sherrill JD, Sparks M, Dennis J, Mansour M, Kemppainen BW, Bartol FF, et al. *Developmental exposures of male rats to soy isoflavones impact Leydig cell differentiation.* *Biol Reprod* 2010 Sep;83(3):488-501.
- Traish AM, Saad F, Guay A. *The dark side of testosterone deficiency: II. Type 2 diabetes and insulin resistance.* *J Androl* 2009 Jan;30(1):23-32.
- Weber KS, Setchell KD, Stocco DM, Lephart ED. *Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5alpha-reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats.* *J Endocrinol* 2001 Sep;170(3):591-9.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. *Global Prevalence of Diabetes; Estimates for the year 2000 and projection for 2030.* *Diabetes Care* 2006;27(5):1047-53