

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SOD PADA JARINGAN
TESTIS TIKUS PERCOBAAN YANG DIBERI TEPUNG
TEMPE DAN KEDELAI PANGAN REKAYASA GENETIK
(PRG) DAN NON-PRG**

APRILIYAN EKO BHAKTI PUTRANTO



**DEPARTEMEN ANATOMI, FISILOGI, DAN FARMAKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2016**

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER
INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA***

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul Gambaran Imunohistokimia SOD pada Jaringan Testis Tikus Percobaan yang Diberi Tepung Tempe dan Kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan non-PRG adalah benar karya saya dengan arahan dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2016

Apriliyan Eko Bhakti Putranto
NIM B04120099

ABSTRAK

APRILIYAN EKO BHAKTI PUTRANTO. Gambaran Imunohistokimia SOD pada Jaringan Testis Tikus Percobaan yang Diberi Tepung Tempe dan Kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan non-PRG. Dibimbing oleh TUTIK WRESDIYATI dan MADE ASTAWAN.

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia. Tempe dibuat melalui proses fermentasi kedelai dengan menggunakan kapang *Rhizopus sp.* Produksi tempe yang semakin meningkat setiap tahunnya, membuat ketersediaan bahan baku kedelai lokal tidak mencukupi. Kondisi ini membuat Indonesia harus mengimpor kedelai untuk memenuhi kebutuhan kedelai. Kedelai impor ada dua macam, yaitu kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan non-PRG. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian tepung tempe dan kedelai PRG dan non-PRG terhadap kandungan antioksidan Superoksida Dismutase (SOD) secara histologi pada testis tikus percobaan. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus galur *Sprague Dawley* sebanyak 15 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok; (a) kelompok kontrol (kasein) (I), (b) kelompok tepung tempe PRG (B), (c) kelompok tepung kedelai PRG (D), (d) kelompok tepung tempe non-PRG (F), dan (e) kelompok tepung kedelai non-PRG (H). Perlakuan diberikan selama 90 hari (EFSA 2011 uji subkronik). Jaringan testis diproses dengan metode *embedding* menggunakan parafin dan dilakukan pewarnaan dengan teknik imunohistokimia terhadap kandungan Cu,Zn-SOD. Hasil penelitian menunjukkan pemberian tepung tempe PRG dan non-PRG dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pemberian tepung kedelai PRG dan non-PRG memiliki kualitas protein yang sama dengan kasein untuk meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus.

Kata kunci: antioksidan, jaringan testis, kedelai, superoksida dismutase, tempe

ABSTRACT

APRILIYAN EKO BHAKTI PUTRANTO. The Profile of Immunohistochemistry SOD in Testicular Tissue of Rats Given with Tempe and Soybean Flour GMO and non-GMO . Supervised by TUTIK WRESDIYATI and MADE ASTAWAN.

Tempe is a traditional Indonesian food. Tempe is made by a fermentations process of soybean using *Rhizopus sp.* The production of tempe in Indonesia increase every year, so the local soybean gradually is not enough to support the production. Alternatively, import soybean should be improved. There are two kinds of import soybean; Genetically Modified Organism (GMO) and non-GMO. The aim of this study is to observe the effect of tempe and soybean GMO and non-GMO on the content of Cu,Zn-SOD in the testical tissue of rats. This study use 15 male *Sprague Dawley* rats. They were divided into 5 groups; (a) casein treated group (I), (b) GMO-tempe flour treated group (B), (c) GMO-soybean flour treated group, (d) non-GMO-tempe flour treated group (F), (e) non-GMO-soybean flour treated group (H). This research was codacted for 90 days (EFSA 2011, subchronic test). The testical tissues of rats were processed using embedding standart method whith parafin and were stained using immunohistochemical tecnique for Cu,Zn-SOD contet. The result showed the GMO and non-GMO-tempe treatment increase the content of antioxidant Cu,Zn-SOD in the rats testical tissue compare other treatments. GMO and non-GMO-soybean have equal protein quality with casein, in increasing antioxidant Cu,Zn-SOD in the testical tissue of rats.

Key word: antioxidant, soybean, superoxide dismutase, tempe, testical tissue

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SOD PADA JARINGAN
TESTIS TIKUS PERCOBAAN YANG DIBERI TEPUNG
TEMPE DAN KEDELAI PANGAN REKAYASA GENETIK
(PRG) DAN NON-PRG**

APRILIYAN EKO BHAKTI PUTRANTO

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan

**DEPARTEMEN ANATOMI, FISIOLOGI, DAN FARMAKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2016**

Judul Skripsi : Gambaran Imunohistokimia SOD pada Jaringan Testis Tikus
Percobaan yang Diberi Tepung Tempe dan Kedelai Pangan
Rekayasa Genetik (PRG) dan non-PRG
Nama : Apriliyan Eko Bhakti Putranto
NIM : B04120099

Disetujui oleh



Prof Drh Tutik Wresdiyati, PhD PAVet
Pembimbing I



Prof Ir Made Astawan, MS PhD
Pembimbing II

Diketahui oleh



Prof Drh Agus Setiyono, MS PhD APVet
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan
Fakultas Kedokteran Hewan IPB

Tanggal Lulus: 09 AUG 2016

PRAKATA

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Gambaran Imunohistokimia SOD pada Jaringan Testis Tikus Percobaan yang Diberi Tepung Tempe dan Kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan non-PRG. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian yang didanai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (DIKTI) Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui Penelitian Strategis Aplikasi (PSA) atas nama Prof Ir Made Astawan, MS PhD.

Terima kasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada Prof Drh Tutik Wresdiyati, PhD PAVet dan Prof Ir Made Astawan, MS PhD selaku dosen pembimbing skripsi yang begitu sabar memberikan bimbingan dan arahnya kepada penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof Dr Drh Tuty L Yusuf, MS sebagai dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis selama penulis menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Selanjutnya penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof Ir Wasmen Manalu, PhD atas segala motivasi dan dukungannya kepada penulis. Terima kasih kepada staf Laboratorium Histologi FKH IPB, Drh Adi Winarto, PhD PAVet, Drh I Ketut Mudite Adnyane, MSi PhD PAVet, Drh Sri Rahmatul Laila, Pak Iwan dan Pak Maman atas bantuan dan bimbingan selama penulis melakukan penelitian.

Ungkapan rasa sayang dan terima kasih kepada bapak dan ibu tercinta, untuk dek Fachrudin dan dek Rahmania atas segala doa, motivasi, kasih sayang dan perhatiannya kepada penulis. Terima kasih kepada teman-teman satu tim penelitian (Nadia, Denty, Icel, Eka, Puput) yang telah membantu dan memberikan semangat kepada penulis. Terima kasih kepada teman-teman ASTROCYTE, OMDA IKMP, dan penghuni Wisma Cupang atas segala waktu, doa, kebersamaan, bantuan dan motivasinya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari karya ilmiah ini ada kekurangannya, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk memperbaiki karya ilmiah ini. Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2016

Apriliyan Eko Bhakti Putranto

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	ix
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan Penelitian	1
Manfaat Penelitian	2
TINJAUAN PUSTAKA	2
Kedelai	2
Tempe Kedelai	2
Testis Tikus	3
Radikal Bebas	4
Antioksidan	5
METODE	5
Waktu dan Tempat Penelitian	5
Alat dan Bahan Penelitian	6
Metodologi Penelitian	6
Perlakuan Hewan Percobaan	6
Sampling dan Pemrosesan Jaringan Testis Tikus	6
Pewarnaan Imunohistokimia Cu,Zn-SOD	7
Prosedur Analisis Data	7
HASIL DAN PEMBAHASAN	9
SIMPULAN DAN SARAN	13
Simpulan	13
Saran	13
DAFTAR PUSTAKA	13
LAMPIRAN	16
RIWAYAT HIDUP	24

DAFTAR TABEL

1 Hasil pengamatan kualitatif kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan tikus	10
2 Rataan jumlah sel-sel spermatogenik pada berbagai tingkat kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD tikus percobaan	12

DAFTAR GAMBAR

1 Gambaran histologi tubuli seminiferi dengan pewarnaan HE	3
2 Fotograf jaringan testis tikus perlakuan yang diwarnai secara imunohistokimia terhadap kandungan Cu,Zn-SOD pada berbagai tingkatan	8
3 Gambaran Histologi terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada sel-sel spermatogenik	9

DAFTAR LAMPIRAN

1 Hasil statistik profil kandungan Cu,Zn-SOD pada sel-sel spermatogenik per tubuli seminiferi jaringan testis tikus pada berbagai perlakuan	16
---	----

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang memiliki cita rasa enak, gurih dan memiliki banyak nilai gizi. Selain itu makanan ini memiliki nilai ekonomi yang tinggi serta dapat dinikmati oleh semua golongan, mulai dari anak-anak sampai lansia. Tempe dibuat melalui proses fermentasi kedelai dengan kapang *Rhizopus sp.* Jika dibandingkan dengan kedelai utuh, tempe memiliki beberapa komponen bioaktif seperti antidiare, antioksidan, serta pencegahan penyakit degeneratif yang sebelumnya tidak ditemukan pada kedelai utuh (Astuti *et al.* 2000; Nout dan Kiers 2005).

Produksi tempe yang semakin tinggi, membuat ketersediaan bahan baku kedelai secara nasional tidak mencukupi. Menurut Astawan *et al.* (2014), sekitar 50% atau 1,3 juta ton dari pasokan kedelai nasional digunakan sebagai bahan baku tempe. Data BPS (2012) menyebutkan produksi kedelai nasional hanya 800 000 ton, hal ini membuat Indonesia harus mengimpor kedelai sebanyak 1,95 juta ton atau sekitar 78% dari luar negeri untuk memenuhi kebutuhan nasional. Kedelai impor ada dua macam, yaitu kedelai pangan rekayasa genetik (PRG) dan non-PRG. Kedelai PRG menimbulkan kekhawatiran banyak pihak terkait keamanan terhadap kesehatan.

Menurut WHO (2002), tanaman transgenik atau sering dikenal dengan istilah Pangan Rekayasa Genetik (PRG) merupakan organisme yang telah mengalami perubahan pada materi genetiknya sehingga organisme tersebut memiliki sifat-sifat yang tidak dimiliki sebelumnya. Gen yang disisipkan kedalam organisme tersebut dapat berasal dari spesies yang sama ataupun berbeda. Gen yang disisipkan pada kedelai PRG berasal dari bakteri *Agrobacterium tumefaciens* atau *Bacillus thuringiensis* yang membuat kedelai tahan terhadap herbisida (Bawa dan Anilakumar 2012).

Pengujian keamanan pangan transgenik mengacu pada pengujian toksisitas subkronik dan harus dievaluasi untuk melihat potensi toksisitas dan alergi (Seralinni *et al.* 2009; EFSA 2011). Hasil dari beberapa penelitian jangka panjang menunjukkan bahwa konsumsi kedelai PRG tidak menimbulkan bahaya terhadap kesehatan (Appenzeller *et al.* 2008; Daleprane *et al.* 2009). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keamanan konsumsi tempe dari kedelai PRG yang fokus pada profil kandungan antioksidan superoksida dismutase (SOD) pada jaringan testis tikus percobaan melalui uji *in vivo* subkronik pada tikus selama 90 hari.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian tepung tempe dan kedelai PRG dan non-PRG dengan kadar protein 20% dalam ransum terhadap kandungan antioksidan *Copper*, *Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada jaringan testis tikus percobaan.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh tepung tempe dan kedelai PRG dan non-PRG dengan kadar protein 20% dalam ransum terhadap kandungan antioksidan *Copper*, *Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada jaringan testis tikus percobaan.

TINJAUAN PUSTAKA

Kedelai

Kedelai merupakan tanaman pangan berupa semak yang berasal dari daerah Manshukuo Cina Utara. Kedelai (*Glycine max* (L.) Merril) yang kita kenal sekarang ini merupakan turunan dari kedelai jenis liar (*Glycine ururiensis*). Tanaman ini mulai dibudidayakan di Indonesia pada abad-17 sebagai tanaman palawija yang mengandung banyak protein nabati. Taksonomi tanaman kedelai menurut Adisarwanto (2005) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Sub Divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Rosales
 Famili : Leguminoceae
 Genus : *Glycine*
 Spesies : *Glycine max* (L.) Merril

Kedelai yang diimpor dari luar negeri ada dua jenis, yaitu kedelai rekayasa genetik (PRG) dan non-PRG. Kedelai non-PRG merupakan kedelai yang belum mengalami perubahan atau penambahan materi genetik. Sedangkan pada kedelai PRG sudah mengalami perubahan pada materi genetiknya (WHO 2002). Kedelai PRG yang beredar di Indonesia harus memperoleh izin peredaran dari Badan POM. Menurut Balai Kliring Keamanan Hayati Indonesia, ada dua jenis kedelai transgenik yang boleh beredar yaitu; Kedelai Event GTS 40-3-2 dan Kedelai Event MON 89788 (BKKH 2012).

Kedelai merupakan salah satu sumber protein nabati yang paling baik diantara jenis kacang-kacangan. Kedelai memiliki kadar protein rata-rata 35 persen, bahkan pada varietas unggul dapat mencapai 40-44 persen (Astawan 2008). Selain itu, kedelai juga dapat digunakan sebagai sumber lemak, vitamin, mineral dan serat. Kandungan lemak pada kedelai sekitar 18-20 persen, dimana 85 persen diantaranya merupakan asam lemak tidak jenuh (Astawan 2008).

Tempe Kedelai

Tempe kedelai merupakan makanan tradisional yang dibuat melalui proses fermentasi kedelai menggunakan kapang *Rhizopus sp.* (Astawan 2008). Secara umum, tempe berwarna putih dan memiliki tekstur yang memadat karena adanya

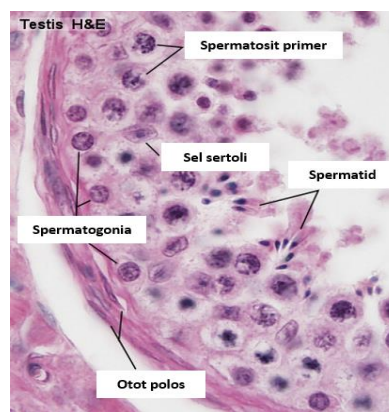
miselia kapang yang merekatkan antar biji kedelai. Degradasi komponen-komponen kedelai pada saat fermentasi membuat tempe memiliki rasa dan aroma yang khas. Makanan ini menjadi salah satu makanan favorit bagi sebagian masyarakat karena rasanya yang enak dan banyak mengandung protein nabati.

Makanan tradisional Jawa ini memiliki beberapa keunggulan, diantaranya: daya cerna protein, karbohidrat, dan lemak lebih baik dari pada kedelai aslinya; kandungan beberapa vitamin yang lebih tinggi; ketersediaan (bioavailabilitas) mineral menjadi lebih baik karena hilangnya faktor antigizi; serta ditemukannya komponen bioaktif seperti antidiare yang sebelumnya tidak ada pada kedelai (Suwarno *et al.* 2014). Menurut Wilson *et al.* (2005) tempe dapat berpotensi sebagai pangan hipoalergik karena proses fermentasi dapat mengurangi sifat alergenisitas protein kedelai. Kadar protein pada tempe lebih tinggi jika dibandingkan dengan kedelai. Protein pada tempe berkisar antara 46,68-52,70 persen (bk) sedangkan kedelai memiliki kadar protein antara 7,10-41,73 persen (bk) (Astawan *et al.* 2013). Selain itu tempe memiliki kandungan asam amino esensial yang lengkap, yaitu; isoleusin, leusin, lisin, fenilalanin, treonin, triptofan, valin, dan metionin.

Tempe dinilai memiliki kandungan isoflavon yang cukup tinggi. Isoflavon mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan, diantaranya mencegah penyakit kronis seperti kardiovaskuler, mencegah osteoporosis, dan sebagai antioksidan (Astawan 2008). Isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman melalui sintesis *2-hydroxyisoflavone synthase* (IFS). Senyawa tersebut tidak dihasilkan oleh mikroorganisme, tetapi hanya dihasilkan oleh tanaman. Selain itu isoflavon dapat juga mencegah penyakit kanker (Hoeck *et al.* 2009; Primomo *et al.* 2005).

Testis Tikus

Organ Testis merupakan organ reproduksi primer yang memiliki fungsi ganda yaitu menghasilkan hormon jantan dan menghasilkan spermatozoa. Organ testis terdiri dari tubuli seminiferi dan sel-sel interstitial (sel Leydig). Sel Leydig berperan dalam biosintesa hormon testosteron, sehingga memungkinkan terjadinya proses spermatogenesis di testis. Spermatozoa dihasilkan di dalam tubulus seminiferus mulai dari spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid, dan spermatozoa (Gambar 1).



Gambar 1 Gambaran histologi tubuli seminiferi dengan pewarnaan HE (Bacha dan Bacha 2000)

Jumlah sel spermatogenik sangat tergantung pada aktivitas tubuli seminiferi yang dipengaruhi oleh hormon testosteron. Apabila terdapat gangguan dalam proses spermatogenesis akibat turunnya kadar hormon testosteron akan menyebabkan risiko penurunan mutu spermatozoa yang dihasilkan (Astuti *et al.* 2008).

Testis yang merupakan tempat berlangsungnya proses spermatogenesis sangat rentan terhadap proses oksidasi oleh radikal bebas. Oksidasi radikal bebas akan mengganggu kestabilan dan fungsi membran sampai mengakibatkan peroksidasi lipid. Menurut Sanocka dan Kurpizs (2004), proses peroksidasi lipid dapat mengakibatkan gangguan pada proses spermatogenesis. Untuk melawan radikal bebas yang ada dalam tubuh, maka dibutuhkan zat-zat gizi yang berasal dari bahan pangan yang mengandung antioksidan.

Zat gizi pangan yang berperan dalam organ reproduksi jantan antara lain; Zn dan vitamin E. Menurut Astuti *et al.* (2008) Zn dan vitamin E dapat meningkatkan kadar hormon testosteron dalam serum dan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi. Selain itu, pemberian tepung kedelai kaya isoflavon juga dapat meningkatkan kadar hormon testosteron. Kombinasi antara isoflavon kedelai, Zn dan vitamin E dilaporkan Astuti *et al.* (2008) bekerja sinergis dalam meningkatkan kadar hormon testosteron dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi. Maskar *et al.* (2015) melaporkan pemberian tepung tempe dari kedelai PRG dan non-PRG tidak berpengaruh terhadap jumlah sel spermatogenik dan sel Leydig.

Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit terluarnya sehingga sangat reaktif dan memicu terjadinya rangkaian reaksi berantai (Valko *et al.* 2007). Apabila di dalam tubuh sudah terbentuk radikal bebas, maka akan terjadi reaksi berantai yaitu molekul yang tidak stabil akan mengambil satu elektron dari senyawa lain sehingga molekul tersebut stabil, sedangkan molekul yang diambil elektronnya menjadi tidak stabil dan akan menjadi radikal serta memicu reaksi pembentukan radikal bebas berikutnya, sehingga jumlahnya akan terus bertambah. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab terjadinya berbagai macam penyakit degeneratif seperti kanker, jantung koroner, dan penuaan dini (Febriyanti *et al.* 2013).

Radikal bebas yang berlebihan akan membahayakan tubuh karena dapat merusak makromolekul dalam sel seperti karbohidrat, protein, DNA dan sebagainya. Namun, adanya radikal bebas juga diperlukan bagi kelangsungan beberapa proses fisiologi dalam tubuh, terutama untuk transportasi elektron (Wresdiyati *et al.* 2007). Reaksi pembentukan radikal bebas merupakan mekanisme biokimia tubuh normal yang terjadi melalui reaksi pemutusan langsung ikatan atau melalui transfer elektron.

Radikal bebas dihasilkan secara endogen atau dapat diperoleh secara eksogen. Secara endogen radikal bebas dihasilkan oleh reaksi biokimia dalam tubuh melalui reaksi oksidasi-reduksi di dalam mitokondria, peroksisom, reaksi yang melibatkan enzim cytochrome P-450, reaksi NADPH oksidase, xanthin oksidase. Sedangkan secara eksogen, radikal bebas berasal dari lingkungan, polusi,

kontaminasi insektisida, stres panas, asap rokok, radiasi UV, serta diet tinggi karbohidrat, dan lemak (Kevin *et al.* 2006).

Antioksidan

Secara normal tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas yaitu antioksidan. Antioksidan adalah suatu molekul yang kehadirannya dalam jumlah yang cukup, mampu bereaksi dan mencegah kerusakan komponen sel akibat dari radikal bebas (Halliwell 2006). Secara alami, tubuh mempunyai strategi untuk memerangi atau mempercepat degradasi radikal bebas. Sistem ini dapat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu antioksidan endogen (antioksidan intraseluler) yang terdapat di dalam sel dan antioksidan eksogen yang diperoleh dari bahan makanan dan bahan alami.

Antioksidan endogen berperan sebagai lini pertahanan terdepan dan bekerja sama dengan antioksidan eksogen yang membentuk lini pertahanan kedua terhadap radikal bebas. Dalam kondisi stres jumlah radikal bebas akan berlebih dan dapat merusak sel. Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim intraseluler utama yang melindungi kerusakan sel akibat radikal superoksida dengan cara mengkatalis radikal O_2 menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2).

Menurut Buyukuslu (2006) berdasarkan kandungan logamnya, superoksida dismutase dibagi dalam empat kelas yaitu enzim *Copper,Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu,Zn-SOD), enzim *Mangan-Superoxide Dismutase* (Mn-SOD), enzim *Ferrum-Superoxide Dismutase* (Fe-SOD) dan enzim *Nikel-Superoxide Dismutase* (Ni-SOD). *Copper,Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu,Zn-SOD) merupakan salah satu antioksidan endogen yang sangat berperan dalam mengkatalisasi radikal bebas *anion superoxide* menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. Peningkatan kadar radikal bebas dalam kondisi stres telah dilaporkan oleh Wresdiyati *at al.* (2007), yang ditunjukkan dengan menurunnya kandungan antioksidan intraseluler seperti *Copper,Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada jaringan hati dan ginjal tikus dibawah kondisi stres. Saat ini sel-sel penghasil SOD dapat dideteksi pada jaringan tikus dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia (Wresdiyati *et al.* 2006).

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2015 sampai dengan Desember 2015, di Laboratorium Histologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan berupa spuit/syringe, cawan petri, alat bedah minor, label, glove, silet, papan bedah, botol, gelas piala, gelas ukur, kertas saring, pengaduk, kertas tisu, alumunium foil, *tissue bascet*, inkubator, alat *embedding*, mikrotom, gelas objek, dan mikroskop.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ testis tikus yang diberi perlakuan dengan pakan yang mengandung 20% protein dari tepung kedelai rebus dan tepung tempe PRG dan non-PRG, akuades, tepung kasein, air kran, larutan Bouin, alkohol bertingkat (70 %, 80 %, 90 %, 95 %, dan 100 %), larutan xylol, parafin, larutan *phosphate buffer saline* (PBS), larutan H₂O₂, normal serum 10%, background sniper, Trekkie Universal Link, Trekk Avidin-HRP, *diaminobenzidine* (DAB), antibodi Cu,Zn-SOD, dan entellan®.

Metodologi Penelitian

Perlakuan Hewan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian bersama dalam satu payung tentang tempe, menggunakan lima kelompok perlakuan dari 13 kelompok perlakuan yang dilakukan bersama tim peneliti. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL), sebanyak 15 tikus galur *Sparague Dawley* dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Organ testis yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tikus yang diberi perlakuan dengan ransum pakan yang mengandung: (I) protein 10% dari kasein (kasein), (B) protein 20% dari tepung tempe PRG (tempe PRG), (D) protein 20% dari tepung kedelai rebus PRG (kedelai PRG), (F) protein 20% dari tepung tempe non-PRG (tempe non-PRG), (H) protein 20% dari tepung kedelai rebus non-PRG (kedelai non-PRG) selama 90 hari (Uji subkronik – EFSA 2011). Tepung tempe dan kedelai rebus diformulasikan kedalam ransum sesuai standar *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC 2005). Penggunaan tikus sebagai hewan coba pada penelitian ini mengikuti prosedur kelayakan etik penggunaan hewan coba dalam kegiatan pendidikan dan penelitian dan telah memperoleh persetujuan dari *Animal Care and Use Committe* IPB, ACUC No. 06-2013IPB.

Sampling dan Pemrosesan Jaringan Testis Tikus

Pembuatan preparat jaringan testis tikus dimulai dari proses *sampling*. Organ testis tikus dicuci dengan larutan NaCl fisiologis 0.9%, kemudian dilakukan fiksasi menggunakan *Bouin*. Fiksasi dilakukan selama 24 jam dan setelah itu dilakukan *stopping point* pada larutan alkohol 70%.

Selanjutnya organ testis di-*trimming* dan dimasukkan dalam *tissue basket* untuk didehidrasi dalam alkohol bertingkat 80%, 90%, 95%, masing-masing 24 jam. Kemudian dilanjutkan dengan dehidrasi dengan alkohol absolut (100%) I, II dan III masing-masing 1 jam. Setelah didehidrasi, kemudian dilakukan *clearing* dengan memasukan *tissue basket* ke dalam xylol I, II, dan III masing-masing selama 1 jam. Perendaman pada xylol III dilakukan 30 menit pada suhu kamar dan 30 menit pada suhu 60 °C. Setelah itu, dilanjutkan dengan infiltrasi dalam parafin cair I, II, III pada suhu 60 °C masing-masing 30 menit.

Tahap selanjutnya adalah *embedding* (penanaman) organ testis dalam parafin. Organ yang telah di*embedding* yang sudah mengeras disimpan dalam *refrigator* selama 24 jam dan selanjutnya cetakan parafin ditempelkan pada balok kayu. Blok organ yang sudah jadi selanjutnya akan dipotong menggunakan mesin *mikrotom* dengan ketebalan kurang lebih 3 μm .

Hasil potongan direndam dalam akuades untuk merapikan lipatan pada organ. Kemudian potongan yang seperti pita tersebut dimasukkan ke dalam akuades yang dipanaskan pada suhu 37°C menggunakan *waterbath*. Setelah kurang lebih 2 menit di dalam *waterbath* kemudian diambil menggunakan gelas objek dan diberi label. Gelas objek untuk pewarnaan imunohistokimia dilengkapi dengan agen perekat *neophren in toluene* 0.2% yang berfungsi untuk merekatkan jaringan. Preparat yang telah jadi, sebelum masuk ketahap pewarnaan diinkubasi terlebih dahulu dalam inkubator 37°C selama minimal 24 jam.

Pewarnaan Imunohistokimia Cu,Zn-SOD

Profil antioksidan Cu,Zn-SOD jaringan testis dideteksi secara imunohistokimia dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Wresdiyati *et al.* (2015). Setiap tahap dilakukan pencucian dengan larutan PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. Preparat jaringan testis pada gelas objek dideparafinisasi dan direhidrasi, kemudian dilakukan inaktivasi peroksidase endogen dengan menggunakan substrat metanol sebanyak 30 ml yang ditambah dengan H₂O₂ sebanyak 0,2% selama 15 menit. Selanjutnya diinkubasi dalam normal serum 10% selama 45 menit, kemudian diinkubasi kembali dalam *background sniper* selama 15 menit. Selanjutnya preparat jaringan testis diinkubasi dalam antibodi primer Cu,Zn-SOD 1:200 dalam PBS selama 48 jam pada suhu 4⁰ C. Kemudian diinkubasi kembali dengan *Trekkie Universal Link* selama 20 menit, lalu diinkubasi dalam *Trekk Avidin-HRP* selama 10 menit. Hasil reaksi antara antigen dan antibodi divisualisasikan dengan larutan kromogen *diaminobenzidine* (DAB) selama 2 menit dan di-*counterstain* dengan hematoksilin selama 45 detik. Kemudian preparat jaringan testis didehidrasi dalam alkohol bertingkat dan dijernihkan menggunakan *xylol*. Selanjutnya, preparat jaringan testis yang telah diwarnai di-*mounting* menggunakan *cover glass* yang direkatkan dengan entellan[®].

Prosedur Analisis Data

Reaksi positif keberadaan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis ditandai dengan adanya warna coklat pada inti dan sitoplasma sel-sel spermatogenik. Pengamatan dilakukan berdasarkan intensitas warna coklat yang terbentuk pada inti dan sitoplasma sel, semakin tua warna coklat yang ditunjukkan maka semakin banyak kandungan Cu,Zn-SOD di dalam jaringannya. Sel yang tidak mengandung Cu,Zn-SOD akan bereaksi negatif ditandai dengan munculnya warna biru (hematoksilin) pada inti sel.

Pengamatan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif pada jaringan testis tikus per tubuli seminiferi pada tahap delapan gelombang tubuli seminiferi (*stage VIII wave of the seminiferous tubule*) (Wing dan Christensen 1982) yang mempunyai sel-sel spermatogenik lengkap mulai dari spermatogonia, spermatosit primer, spermatid awal dan spermatid akhir. Pengamatan kualitatif dilakukan

dengan mengamati kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada seluruh jaringan testis tikus. Sedangkan pengamatan secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung jumlah sel-sel spermatogenik yang bereaksi pada berbagai tingkatan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus percobaan. Reaksi positif kuat (+++) ditunjukkan oleh warna coklat tua yang menutupi keseluruhan inti sel dan sitoplasma (Gambar 2). Reaksi positif sedang (++) ditunjukkan oleh warna coklat sedang yang menutupi sebagian inti sel dan sitoplasma (Gambar 2) dan Reaksi positif lemah (+) ditunjukkan oleh semburat coklat pada inti sel dan sitoplasma (Gambar 2). Sedangkan reaksi negatif (-) ditunjukkan dengan warna biru pada inti sel akibat pemberian *counterstain* (hematoksilin) yang berarti sel tidak mengandung antioksidan Cu,Zn-SOD (Gambar 2). Perhitungan sel spermatogonik dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 10x yang dilakukan pada lima lapang pandang berbeda secara acak pada setiap preparat jaringan (Wresdiyati *et al.* 2015) menggunakan program *software McMaster Biophotonics Image J*.

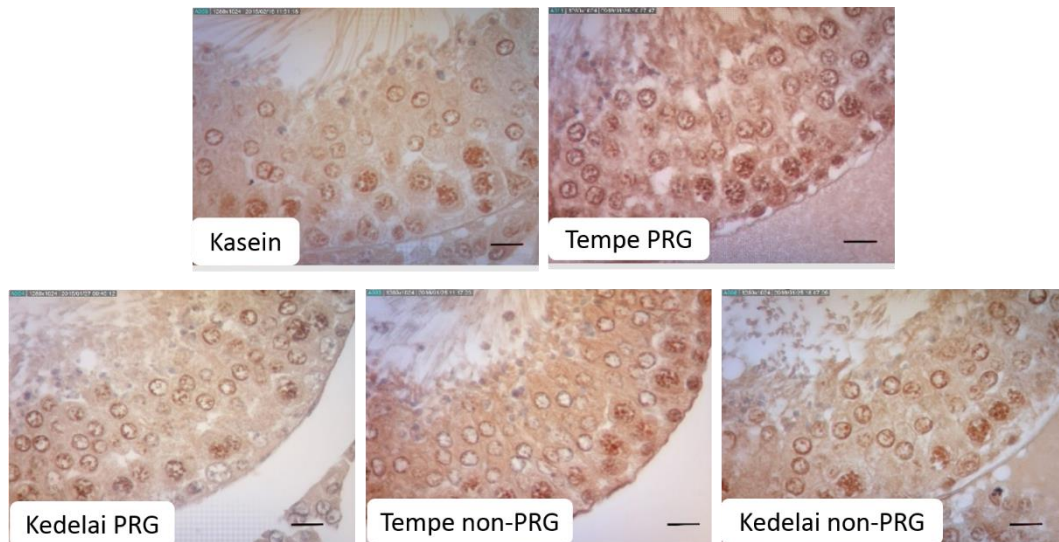
Data hasil perhitungan sel-sel spermatogenik yang mengandung antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus yang didapat dianalisis dengan uji *analysis of varian* (ANOVA) menggunakan program *software SPSS release 22*. Apabila hasil uji menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji Duncan, sedangkan data kualitatif disajikan secara deskriptif berupa gambar. Penghitungan kuantitatif dilakukan berdasarkan kandungan Cu,Zn-SOD pada berbagai tingkatan (Gambar 2).



Gambar 2 Gambaran histologi jaringan testis tikus perlakuan yang diwarnai secara imunohistokimia terhadap kandungan Cu,Zn-SOD pada berbagai tingkatan. → = reaksi positif kuat (+++); → = reaksi positif sedang (++); → = reaksi positif lemah (+); → = reaksi negatif (-).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pewarnaan imunohistokimia terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Gambaran Histologi terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada sel-sel spermatogenik. Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD tertinggi terlihat pada kelompok perlakuan tempe PRG. Skala 50 μ m.

Hasil pengamatan kualitatif terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus dengan pewarnaan imunohistokimia (Gambar 3) dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil pengamatan kualitatif menunjukkan bahwa kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus kelompok kasein lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tempe PRG dan tempe non-PRG (Gambar 3). Hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna coklat yang terbentuk pada seluruh bagian jaringan testis tikus kelompok tempe PRG dan tempe non-PRG lebih tinggi dibandingkan kelompok kasein. Sedangkan kelompok kasein memiliki kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD yang sama dengan kelompok kedelai PRG dan kedelai non-PRG (Gambar 3). Hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna coklat yang terbentuk pada seluruh bagian jaringan testis tikus kelompok kedelai PRG dan kedelai non-PRG sama dengan kelompok kasein. Kelompok tempe PRG dan tempe non-PRG memiliki kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kedelai PRG dan kedelai non-PRG (Gambar 3). Hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna coklat yang terbentuk pada seluruh bagian jaringan testis tikus kelompok tempe PRG dan tempe non-PRG lebih tinggi dibandingkan kelompok kedelai PRG dan kedelai non-PRG. Sementara kelompok tempe PRG memiliki kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD dalam jumlah yang paling tinggi (Gambar 3). Hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna coklat yang terbentuk pada seluruh bagian sel spermatogenik kelompok tempe PRG paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya.

Tabel 1 Hasil pengamatan kualitatif kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus

Kelompok	Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD
Kasein	+
Tempe PRG	+++
Kedelai PRG	+
Tempe non-PRG	++
Kedelai non-PRG	+

Tanda positif (+) = menunjukkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada inti dan sitoplasma sel spermatogenik.

Pengamatan kuantitatif terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus percobaan dilakukan dengan menghitung jumlah sel spermatogenik pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD seperti disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus percobaan kelompok kasein lebih rendah dibandingkan kelompok tempe PRG dan tempe non-PRG. Hal ini didukung jumlah sel spermatogonia dan spermatosit primer kelompok tempe PRG dan tempe non-PRG memberikan reaksi positif kuat (++++) secara nyata lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kasein. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe PRG dan non-PRG dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus, bahkan lebih baik dibandingkan dengan pemberian kasein (Tabel 2). Astawan *et al.* (2013) melaporkan bahwa kapasitas antioksidan pada tempe berkisar antara 186-191 mg AEAC/kg tempe. Antioksidan yang terdapat dalam tempe berupa isoflavon dalam bentuk aglikon. Isoflavon diduga mampu mencegah oksidasi dan terbentuknya hasil peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh pada sel-sel spermatogenik dengan cara menangkap radikal bebas secara langsung (Maskar *et al.* 2015).

Kelompok tempe PRG memiliki kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tempe non-PRG. Hal ini didukung oleh jumlah sel spermatogonia, spermatid awal, dan spermatid akhir kelompok tempe PRG memberikan reaksi positif kuat (++++) secara nyata lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok tempe non-PRG (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe yang berasal dari kedelai PRG dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan tepung tempe yang berasal dari kedelai non-PRG, serta tidak menimbulkan gangguan patologis pada jaringan testis tikus. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe dari kedelai PRG tidak menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis. Astawan *et al.* (2013) melaporkan kapasitas antioksidan pada tempe dari kedelai PRG sebesar 191 mg AEAC/kg tempe, sedangkan pada tempe dari kedelai non-PRG kapasitas antioksidannya sebesar 188 mg AEAC/kg tempe.

Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus kelompok kedelai PRG dan kedelai non-PRG menunjukkan tidak berbeda secara nyata ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kasein. Hal ini didukung oleh jumlah sel spermatogonia, spermatid awal dan spermatid akhir kelompok kedelai PRG dan kedelai non-PRG yang memberikan reaksi positif kuat (++++) menunjukkan tidak berbeda secara nyata ($p > 0,05$) dibandingkan kelompok kasein (Tabel 2). Hal ini

menunjukkan bahwa pemberian tepung kedelai PRG dan non-PRG memberikan manfaat yang sama baiknya dengan pemberian kasein terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus percobaan.

Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus kelompok tempe PRG lebih tinggi secara nyata ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kedelai PRG. Hal ini didukung oleh jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid awal dan spermatid akhir kelompok tempe PRG memberikan reaksi positif kuat (++++) secara nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan kelompok kedelai PRG (Tabel 2). Kelompok tempe non-PRG mempunyai kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kedelai non-PRG. Hal ini didukung oleh jumlah sel spermatid akhir kelompok tempe non-PRG yang memberikan reaksi positif lemah (+) secara nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kedelai non-PRG (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe dari kedelai PRG dan non-PRG dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian tepung kedelai PRG dan non-PRG. Mursyid *et al.* (2014) melaporkan bahwa kandungan gizi tempe lebih baik dibandingkan dengan kedelai yang belum difermentasikan. Protein dalam tempe lebih mudah dicerna dan diserap oleh usus dibandingkan dengan kedelai yang tidak difermentasi (Muchtadi 2010). Protein sangat diperlukan dalam pembentukan antioksidan Cu,Zn-SOD, sehingga tepung tempe yang mengandung protein dengan kualitas lebih baik dari kedelai dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD yang lebih tinggi.

Tabel 2 Rataan jumlah sel-sel spermatogenik pada berbagai tingkat kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD tikus percobaan

Jenis sel Spermatogenik	Tingkat Kandungan Cu,Zn-SOD	Jumlah sel spermatogenik yang mengandung Cu,Zn-SOD pada berbagai kelompok perlakuan				
		Kasein	Tempe PRG	Kedelai PRG	Tempe non-PRG	Kedelai non-PRG
Spermatogonia	+++	14,87 ± 1,78 ^a	21,53 ± 1,89 ^c	15,60 ± 2,06 ^a	17,67 ± 3,16 ^b	16,47 ± 2,03 ^{ab}
	++	14,93 ± 3,28	14,47 ± 3,59	12,27 ± 3,30	13,40 ± 2,36	13,67 ± 2,02
	+	15,80 ± 2,61 ^b	11,73 ± 1,69 ^a	16,40 ± 2,55 ^b	18,60 ± 2,09 ^c	19,67 ± 2,82 ^c
	-	0,00 ± 0,00	1,60 ± 4,14	1,47 ± 4,75	0,13 ± 0,50	0,00 ± 0,00
Spermatisit Primer	+++	14,60 ± 3,20 ^a	22,40 ± 4,94 ^c	18,67 ± 4,98 ^b	19,73 ± 1,65 ^{bc}	18,87 ± 2,45 ^b
	++	24,67 ± 5,41 ^b	19,13 ± 2,19 ^a	19,33 ± 3,26 ^a	17,13 ± 2,31 ^a	17,60 ± 2,18 ^a
	+	19,33 ± 2,80 ^b	13,00 ± 2,83 ^a	20,60 ± 2,06 ^b	20,93 ± 4,22 ^b	18,60 ± 2,94 ^b
	-	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,75	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Spermatid Awal	+++	0,00 ± 0,00 ^a	1,73 ± 1,81 ^b	0,60 ± 1,78 ^a	0,07 ± 0,25 ^a	0,13 ± 0,50 ^a
	++	61,60 ± 7,22 ^a	73,60 ± 2,68 ^b	83,93 ± 8,31 ^c	81,67 ± 5,45 ^c	80,13 ± 7,93 ^c
	+	100,87 ± 12,08 ^b	95,13 ± 8,82 ^{ab}	94,73 ± 4,22 ^{ab}	92,80 ± 7,22 ^a	90,40 ± 11,26 ^a
	-	0,00 ± 0,00	0,60 ± 1,54	0,20 ± 0,75	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Spermatid Akhir	+++	0,00 ± 0,00 ^a	1,67 ± 3,65 ^b	0,00 ± 0,00 ^a	0,27 ± 1,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
	++	0,00 ± 0,00 ^a	3,53 ± 3,05 ^b	0,80 ± 1,76 ^a	1,47 ± 2,33 ^a	0,40 ± 0,80 ^a
	+	13,87 ± 2,19 ^a	14,40 ± 3,57 ^a	14,53 ± 3,52 ^a	24,87 ± 7,96 ^b	16,27 ± 2,93 ^a
	-	75,33 ± 13,55	65,80 ± 9,16	70,80 ± 16,03	61,73 ± 9,38	67,67 ± 13,68

Keterangan: Reaksi positif kuat (+++), positif sedang (++), positif lemah (+), dan negatif (-). Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian tepung tempe yang berasal dari kedelai PRG dan non-PRG menunjukkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian kasein. Pemberian tepung tempe dari kedelai PRG menunjukkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian tepung tempe dari kedelai non-PRG. Tepung kedelai PRG dan non-PRG memberikan manfaat terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus yang sama baiknya dengan pemberian kasein. Pemberian tepung tempe PRG dan non-PRG dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan testis tikus lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian tepung kedelai PRG dan non-PRG.

Saran

Perlu adanya sosialisasi dan edukasi kepada masyarakat bahwa nilai gizi tempe dari kedelai memiliki manfaat kesehatan, serta tidak perlu ada kekhawatiran yang berlebihan mengenai penggunaan kedelai PRG pada pembuatan tempe.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto T. 2005. *Kedelai*. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis of The Association of Official Analysis Chemist. Washington DC (USA): AOAC Inc.
- Appenzeller LM, Munley SM, Hoban D, Skyes GP, Malley LA, Delaney B. 2008. Subchronic feeding study of herbicide-tolerant soybean DP-356Ø43-5 in *Sparague-Dawley* rats. *Food and chem Toxicol.* 46: 2201-2213.
- Astawan M. 2008. *Sehat dengan Tempe*. Jakarta (ID): Dian Rakyat.
- Astawan M, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari SH, Ichسانی N. 2013. Karakteristik fisikokimia dan sifat fungsional tempe yang dihasilkan dari berbagai varietas kedelai. *Pangan.* 22: 241-251.
- Astawan M, Adiningsih NR, Palupi NS. 2014. Evaluasi kualitas nugget tempe dari berbagai varietas kedelai. *Pangan.* 23: 244-255.
- Astuti M, Meliala A, Dalais FS, Wahlqvist M. 2000. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia [Review Article]. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 9(4): 322–325.
- Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B, Wresdiyati T. 2008. Effect of isoflavone-enriched soybean flour, zinc (Zn) and vitamin E in the retion on testosterone level and total spermatogenic cell in seminiferous tubules of rat. *JITV.* 13(4): 288-293.
- Bacha WJ, Bacha LM. 2000. *Color Atlas of Veterinary Histology*. Ed ke-2. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. 96.

- Bawa AS, Anilakumar KR. 2012. Genetically modified foods: safety, risk and public concerns-a review. *J Food Sci Technol*. DOI 10.1007/s13197-012-0899-1.
- [BKKH] Balai Kliring Keamanan Hayati. 2012. Pengkajian keamanan pangan kedelai PRG event MON 87769 [internet]. [diunduh 2016 Mei 16]. Tersedia pada: <http://indonesiabch.or.id/>.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2012. Produksi Padi, Jagung, dan Kedelai [internet]. [diunduh 2015 Sep 25]. Tersedia pada: <http://www.bps.go.id>.
- Buyukuslu N, Celik O, Atak C. 2006. The effect of magnetic field on the activity of superoxide dismutase. *J Cell Mol Bio*. 5: 57-62.
- Daleprane JB, Feijo TS, Boaventure GT. 2009. Organic and genetically soybean diets : Consequences in growth and in hematological indicators of aged rats. *Plant Foods Human Nutri*. 64: 1-5.
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2011. EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. *EFSA J*. 9(12): 2438.
- Febriyanti M, Beylan W, Sanjaya, Supriyatna, Ajeng D, Subarnas A. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F) dengan metode penghambatan reduksi water soluble tetrazolium Salt-1 (WST-1). *Fitofarmaka*. 3 (2). ISSN: 2087-9164.
- Halliwell B. 2006. Reactive spesies and antioxidant: Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. 141: 312-322.
- Hoeck JA, Fehr WR, Murphy PA, Welke GA. 2009. Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean. *Crop Sci*. 40: 48-51.
- Kevin C, Kregel, Hannah J, Zhang. 2006. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 292: R18-R36.
- Maskar DH, Hardinsyah, Damayanthi E, Astawan M, Wresdiyati T. 2015. Effect of genetically modified (GM) soybean and tempe consumption on blood profile, malondialdehyde (MDA) level and superoxide dismutase (SOD) activity of Sprague-Dawley rats. *IJSBAR*. 23 (2): 271-285.
- Muchtadi D. 2010. *Teknik Evaluasi Nilai Gizi Protein*. Bandung (ID): Alfabeta.
- Mursyid, Astawan M, Muchtadi D, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari SH, Suwarno M. 2014. Evaluasi nilai gizi protein tepung tempe yang terbuat dari varietas kedelai impor dan lokal. *Pangan*. 23: 33-41.
- Nout M J R, Kiers J L. 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium [Review]. *J of Applied Microbiol* 98: 789-805.
- Primomo VS, Poysa V, Ablett GR, Jackson C, Rajcan J. 2005. Agronomic performance of recombinant inbred line populations segregating for isoflavone content in soybean seeds. *Crop Sci*. 45: 2203-2211.
- Sanocka D, and Kurpisz M. 2004. Reactive oxygen species and sperm cell. *Reprod Biol Endocrinol*. 2 :12.
- Seralini GE, de Vendomois JS, Cellier D, Sultan C, Buiatti M, Gallagher L, Antoniou M, Dronamraju KR. 2009. How subchronic and chronic health effects can be neglected for PRGs, pesticides or chemicals. *Inter J of Biol Scien*. 5(5): 438-443.

- Suwarno M, Astawan M, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari SH, Mursyid. 2014. Evaluasi keamanan tempe dari kedelai transgenik melalui uji subkronis pada tikus. *J Vet.* 15(3): 353-362.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem & Cell Biol.* 39: 44-84.
- [WHO] World Health Organization. 2002. Food derived from modern technology: 20 question on genetically modified foods [internet]. [diunduh 2015 Des 20]. Tersedia pada: <http://www.who.int/fsf/GMfood/>.
- Wilson S, Blaschek K, Mejia E G. 2005. Allergenic proteins in soybean: processing and reduction of P34 allergenicity. *Nutrition Rev.* 63(2): 47-58.
- Wing TY, Christensen K. 1982. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *The American J of Anatomy.* 165: 13-25.
- Wresdiyati T, Astawan M, Hastanti LY. 2006. Profil imunohistokimia superoksida dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia. *Hayati.* 13(3): 85-87.
- Wresdiyati T, Astawan M, Fithriani D, Adnyane IKM, Novelina S, Aryani S. 2007. Pengaruh Alfa-Tokoferol Terhadap Profil Superoksida Dismutase dan Molondialdehida pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Stres. *J Vet.* 202-209.
- Wresdiyati T, Karmila A, Astawan M, Karmila R. 2015. Teripang pasir meningkatkan kandungan antioksidan superoksida dismutase pada pankreas tikus diabetes. *J Vet.* 16 (1): 145-151. ISSN: 1411-8327.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil statistik profil kandungan Cu,Zn-SOD pada sel-sel spermatogenik per tubuli seminiferi jaringan testis tikus pada berbagai perlakuan.

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Spermatogonia +++	Between Groups	444.987	4	111.247	17.408	.000
	Within Groups	447.333	70	6.390		
	Total	892.320	74			
Spermatogonia ++	Between Groups	63.653	4	15.913	1.681	.164
	Within Groups	662.533	70	9.465		
	Total	726.187	74			
Spermatogonia +	Between Groups	564.613	4	141.153	23.093	.000
	Within Groups	427.867	70	6.112		
	Total	992.480	74			
Spermatogonia -	Between Groups	40.213	4	10.053	1.175	.329
	Within Groups	599.067	70	8.558		
	Total	639.280	74			
Spermatosit primer +++	Between Groups	491.333	4	122.833	8.262	.000
	Within Groups	1.040.667	70	14.867		
	Total	1.532.000	74			
Spermatosit primer ++	Between Groups	540.613	4	135.153	11.513	.000
	Within Groups	821.733	70	11.739		
	Total	1.362.347	74			
Spermatosit primer +	Between Groups	619.280	4	154.820	15.538	.000
	Within Groups	697.467	70	9.964		
	Total	1.316.747	74			

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Spermatosit primer -	Between Groups	.480	4	.120	1.000	.414
	Within Groups	8.400	70	.120		
	Total	8.880	74			
Spermatid awal +++	Between Groups	31.547	4	7.887	5.455	.001
	Within Groups	101.200	70	1.446		
	Total	132.747	74			
Spermatid awal ++	Between Groups	4.876.187	4	1.219.047	25.740	.000
	Within Groups	3.315.200	70	47.360		
	Total	8.191.387	74			
Spermatid awal +	Between Groups	904.187	4	226.047	2.509	.050
	Within Groups	6.306.400	70	90.091		
	Total	7.210.587	74			
Spermatid awal -	Between Groups	4.080	4	1.020	1.623	.178
	Within Groups	44.000	70	.629		
	Total	48.080	74			
Spermatid akhir +++	Between Groups	31.520	4	7.880	2.574	.045
	Within Groups	214.267	70	3.061		
	Total	245.787	74			
Spermatid akhir ++	Between Groups	116.213	4	29.053	7.330	.000
	Within Groups	277.467	70	3.964		
	Total	393.680	74			
Spermatid akhir +	Between Groups	1.272.853	4	318.213	14.580	.000
	Within Groups	1.527.733	70	21.825		
	Total	2.800.587	74			
Spermatid akhir -	Between Groups	1.582.267	4	395.567	2.308	.066
	Within Groups	11.998.400	70	171.406		
	Total	13.580.667	74			

Spermatogonia +++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
I	15	14.8667		
D	15	15.6000		
H	15	16.4667	16.4667	
F	15		17.6667	
B	15			21.5333
Sig.		.078	.161	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Spermatogonia +

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
B	15	11.7333		
I	15		15.8000	
D	15		16.4000	
F	15			18.6000
H	15			19.6667
Sig.		1.000	.508	.241

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Keterangan: I = Kontrol Kasein; B = Tepung Tempe GMO; D = Tepung Kedelai Rebus GMO; F = Tepung Tempe Non-GMO; H = Tepung Kedelai Rebus Non-GMO

Spermatisit primer +++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
I	15	14.6000		
D	15		18.6667	
H	15		18.8667	
F	15		19.7333	19.7333
B	15			22.4000
Sig.		1.000	.476	.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Spermatisit primer ++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
F	15	17.1333	
H	15	17.6000	
B	15	19.1333	
D	15	19.3333	
I	15		24.6667
Sig.		.113	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Keterangan: I = Kontrol Kasein; B = Tepung Tempe GMO; D = Tepung Kedelai Rebus GMO; F = Tepung Tempe Non-GMO; H = Tepung Kedelai Rebus Non-GMO

Spermatisit primer +

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
B	15	13.0000	
H	15		18.6000
I	15		19.3333
D	15		20.6000
F	15		20.9333
Sig.		1.000	.067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Spermatid awal +++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
I	15	.0000	
F	15	.0667	
H	15	.1333	
D	15	.6000	
B	15		1.7333
Sig.		.219	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Keterangan: I = Kontrol Kasein; B = Tepung Tempe GMO; D = Tepung Kedelai Rebus GMO; F = Tepung Tempe Non-GMO; H = Tepung Kedelai Rebus Non-GMO

Spermatid awal ++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
I	15	61.6000		
B	15		73.6000	
H	15			80.1333
F	15			81.6667
D	15			83.9333
Sig.		1.000	1.000	.158

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Spermatid awal +

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
H	15	90.4000	
F	15	92.8000	
D	15	94.7333	94.7333
B	15	95.1333	95.1333
I	15		100.8667
Sig.		.220	.098

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Keterangan: I = Kontrol Kasein; B = Tepung Tempe GMO; D = Tepung Kedelai Rebus GMO; F = Tepung Tempe Non-GMO; H = Tepung Kedelai Rebus Non-GMO

Spermatid akhir +++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
I	15	.0000	
D	15	.0000	
H	15	.0000	
F	15	.2667	
B	15		1.6667
Sig.		.709	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Spermatid akhir ++

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
I	15	.0000	
H	15	.4000	
D	15	.8000	
F	15	1.4667	
B	15		3.5333
Sig.		.068	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Keterangan: I = Kontrol Kasein; B = Tepung Tempe GMO; D = Tepung Kedelai Rebus GMO; F = Tepung Tempe Non-GMO; H = Tepung Kedelai Rebus Non-GMO

Spermatid akhir +

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
I	15	13.8667	
B	15	14.4000	
D	15	14.5333	
H	15	16.2667	
F	15		24.8667
Sig.		.206	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Keterangan: I = Kontrol Kasein; B = Tepung Tempe GMO; D = Tepung Kedelai Rebus GMO; F = Tepung Tempe Non-GMO; H = Tepung Kedelai Rebus Non-GMO

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pati pada tanggal 24 April 1994 dari Bapak Moh. Saeroji dan Ibu Siti Muzayanah. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis menyelesaikan pendidikan menengah di SMA N 3 PATI dan lulus pada tahun 2012. Pada tahun yang sama penulis masuk IPB melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Undangan pada jurusan Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Selama kuliah penulis aktif dalam beberapa kegiatan akademik dan kemahasiswaan. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Histologi Veteriner I pada tahun akademik 2013/2014. Penulis pernah menjadi Ketua Divisi (Kadiv) Eksternal pada Himpunan Profesi (HIMPRO) Ruminansia pada tahun 2015/2016 dan pada tahun yang sama penulis juga mendapat kepercayaan sebagai Ketua Divisi (Kadiv) Humas dalam kegiatan Mahasiswa Abdi Nusantara Astrocyte.

Penulis juga pernah mengikuti Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) dan lolos untuk PKM bidang Pengabdian kepada Masyarakat dan PKM bidang Kewirausahaan didanai oleh DIKTI pada tahun 2015. Pada Agustus 2015, penulis melaksanakan kegiatan Mahasiswa Abdi Nusantara di Provinsi Banten. Penulis juga pernah Magang di Balai Inseminasi Buatan (BIB) Ungaran- Jawa Tengah.