



ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KEDELAI DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT JANTAN STRAIN
BALB/C

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

DENTI PUSPASARI
G2A003049

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2007

HALAMAN PENGESAHAN

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KEDELAI DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT JANTAN
STRAIN BALB/C**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

DENTI PUSPASARI
G2A003049

Telah dipertahankan di depan tim penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
Pada tanggal 25 Agustus 2007 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran
yang diberikan

Penguji,

Pembimbing,

dr. Soenarto Machmudi
NIP : 130 368 068

dr. Ahmad Zulfa Juniarto, M.Si, Med
NIP : 132 163 896

Ketua Penguji,

dr. Dodik Pramono
NIP : 132 151 947

The Effect of Soybean Extract in Gradual Dose on Balb/C Male Mice Spermatozoa Morphology

Denti Puspasari)*, *Ahmad Zulfa Juniarto**)*

Abstract

Background : Phytoestrogens consumption in high dose was known can decrease testosterone level significantly. The decrease of testosterone level can disrupt spermatogenesis process, including sperm morphology and leading to male infertility. This statement became controversy since there was a researcher explained that there was no effect of phytoestrogens consumption in sperm morphology or man infertility. Phytoestrogens, especially isoflavone, are contained a lot in soybean.

Objective : To know whether soybean extract could influence Balb/C male mice sperm morphology.

Method : This experimental research was a post test only control group design on 36 Balb/C male mice, divided randomly into four groups (K, A, B, C) after adapted in a week. Every group was given standard diet. K was not given soybean extract, A was given 260 mg/day soybean extract, B was given 520 mg/day soybean extract, and C was given 780 mg/day soybean extract. Soybean extract was given for 21 days. All mice were terminated on 22nd days and sperm morphology were examined. Data of sperm morphology were collected and were analyzed using SPSS 15.00 for Windows along with Kruskal-Wallis test. Significant level was accepted when $p < 0,05$.

Result : Mean level of morphology abnormal sperm of four groups (K, A, B, C), respectively were $16,56 \pm 12,31$; $20,44 \pm 9,97$; $18,00 \pm 5,92$; $21,67 \pm 8,24$. Kruskal-Wallis test shown that there was no significant different between each group ($p > 0,05$).

Conclusion : There is no significant increasing in abnormality of Balb/C male mice sperm morphology.

Keywords : Soybean extract, Male mice, Sperm morphology.

*)Undergraduate Student of Medical Faculty of Diponegoro University Semarang

**)Lecture of Biology Departement Medical Faculty of Diponegoro University Semarang

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai Dosis Bertingkat Terhadap Morfologi Spermatozoa Mencit Jantan Strain Balb/C

Denti Puspasari*), Ahmad Zulfa Juniarto**)

Abstrak

Latar Belakang : Konsumsi fitoestrogen dalam dosis tinggi diketahui dapat menurunkan kadar testosteron secara signifikan. Penurunan kadar testosteron dapat mengganggu proses spermatogenesis, termasuk pembentukan morfologi spermatozoa, yang pada akhirnya menyebabkan infertilitas pria. Pernyataan ini menimbulkan kontroversi sejak adanya peneliti yang membuktikan bahwa pemberian fitoestrogen tidak berefek terhadap morfologi spermatozoa maupun fertilitas pria. Fitoestrogen, terutama isoflavon, banyak terkandung dalam kedelai.

Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kedelai dosis bertingkat terhadap morfologi spermatozoa mencit jantan strain Balb/C.

Metode : Penelitian ini menggunakan pendekatan *post test only control group design*. Sampel penelitian adalah 36 ekor mencit jantan strain *Balb/C* yang dibagi secara acak menjadi empat kelompok (K, A, B, C) setelah diadaptasi selama seminggu. Tiap kelompok diberikan pakan standar. Kelompok K tidak diberi diet ekstrak kedelai, kelompok A diberi ekstrak kedelai dengan dosis 260 mg/hari, kelompok B diberi ekstrak kedelai dengan dosis 520 mg/hari, dan kelompok C diberi ekstrak kedelai dengan dosis 780 mg/hari. Perlakuan diberikan selama 21 hari. Mencit diterminasi pada hari ke-22 untuk dilakukan pemeriksaan morfologi spermatozoa. Data morfologi dianalisis dengan *SPSS 15.00 for Windows* dan uji *Kruskal-Wallis*. Perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$.

Hasil : Rerata jumlah morfologi spermatozoa abnormal pada kelompok K adalah $16,56 \pm 12,31$; kelompok A $20,44 \pm 9,97$; kelompok B $18,00 \pm 5,92$; dan kelompok C $21,67 \pm 8,24$. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.

Kesimpulan : Tidak terdapat peningkatan abnormalitas morfologi spermatozoa yang bermakna pada mencit jantan strain *Balb/C* yang diberi ekstrak kedelai dengan dosis 260 mg/hari, 520 mg/hari, dan 780 mg/hari selama 21 hari.

Kata kunci : Morfologi spermatozoa, Mencit jantan *Balb/C*, Ekstrak kedelai.

*) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

**) Staf Pengajar Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

PENDAHULUAN

Sekitar 10% pasangan suami-istri mengalami masalah infertilitas. Faktor penyebab infertilitas dapat berasal dari suami, istri, maupun keduanya. Hasil penelitian WHO tahun 1989 memperlihatkan 40% faktor penyebab infertilitas berasal dari pria. Penyebab infertilitas pria diklasifikasikan berdasarkan gangguan produksi sperma, gangguan fungsi sperma, gangguan transportasi sperma, dan penyebab idiopatik.¹

Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengungkapkan penyebab masalah infertilitas. Hasil penelitian terkini menjelaskan bahwa adanya kemungkinan efek yang merugikan dari toksin lingkungan, seperti dari tumbuhan, terhadap fungsi reproduksi.² Tumbuhan menghasilkan berbagai bahan untuk manusia, baik yang menguntungkan maupun yang merugikan. Salah satu bahan yang dapat merugikan adalah fitoestrogen.³

Fitoestrogen banyak terkandung dalam kedelai. Fitoestrogen pertama kali diketahui memiliki efek estrogenik pada tahun 1926. Penelitian pada tahun 1940 menunjukkan bahwa fitoestrogen dapat menginduksi terjadinya infertilitas pada binatang. Hasil penelitian yang dikutip dari penelitian Weber dkk. menyimpulkan bahwa kadar testosteron dan androstenidion, serta berat prostat pada tikus jantan dewasa *Sprague-Dawley* yang diberi diet kaya fitoestrogen dalam jangka pendek menurun secara signifikan. Penurunan hormon testosteron ini menyebabkan penurunan kualitas sperma.³

Pernyataan yang berbeda dinyatakan oleh *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment*. Komite ini telah

menyelidiki efek pemberian isoflavon, suatu fitoestrogen yang terdapat pada kedelai, terhadap kadar hormon seksual dan kualitas semen pria. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian suplemen isoflavon (40 mg/hari) selama 2 bulan terhadap pria *non-vegetarian* berusia 18-35 tahun tidak mempengaruhi kadar estradiol, testosteron, LH, FSH, volume semen, jumlah, motilitas, dan morfologi sperma, ataupun pada besar testis.⁴ Pernyataan serupa juga dituliskan dalam sebuah kepustakaan, bahwa tidak ada pengaruh pemberian isoflavon pada hormon reproduksi pria, besar testis, maupun kualitas semen.⁵

Dua pernyataan yang berbeda ini menimbulkan kontroversi apakah sebenarnya fitoestrogen dalam kedelai dapat menyebabkan infertilitas pada pria dan dapat menurunkan kualitas sperma, termasuk morfologi spermatozoa. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kedelai dosis bertingkat terhadap morfologi spermatozoa mencit jantan strain Balb/C. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat mengenai efek konsumsi makanan berbahan baku kedelai terhadap morfologi spermatozoa dan fertilitas pria serta memberikan informasi bagi penelitian lebih lanjut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post test only control group design*. Penelitian berlangsung selama 29 hari, terdiri atas 7 hari masa adaptasi mencit, 21 hari berikutnya untuk pemberian perlakuan, dan 1 hari setelah perlakuan terakhir untuk pengumpulan data.

Penelitian dilakukan terhitung mulai bulan Maret 2007 di Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) UGM Yogyakarta.

Sampel penelitian adalah 36 ekor mencit yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) UGM Yogyakarta. Sampel diambil secara acak dengan kriteria inklusi : mencit jantan strain Balb/C, umur 8-12 minggu, berat badan 25-30 gram; dan kriteria eksklusi : terdapat abnormalitas anatomi yang tampak dan mencit tidak bergerak secara aktif.

Ekstrak kedelai yang digunakan dibuat dari biji kedelai yang diekstrak dengan metode maserasi. Ekstrak dibuat di LPPT UGM Yogyakarta. Dosis ekstrak kedelai untuk kelompok A, B, dan C, secara berturut-turut adalah 260 mg/hari, 520mg/hari, dan 780 mg/hari. Ekstrak kedelai tersebut diberikan per oral dengan sonde.

Mencit jantan strain Balb/C diadaptasikan selama satu minggu serta diberi makan dan minum standard secara *ad libitum*. Mencit tersebut kemudian dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu K, A, B, dan C, dengan jumlah sampel tiap kelompok 9 ekor mencit. Kelompok K tidak diberi ekstrak kedelai, kelompok A diberi ekstrak kedelai dosis 260 mg/hari, kelompok B diberi ekstrak kedelai dosis 520 mg/hari, dan kelompok C diberi ekstrak kedelai dosis 780 mg/hari. Perlakuan diberikan selama 21 hari kemudian mencit diterminasi pada hari ke-22. Sampel spermatozoa dari masing-masing mencit diambil untuk dilakukan pemeriksaan terhadap morfologi spermatozoa.

Prosedur pemeriksaan morfologi spermatozoa dilakukan pada masing-masing kelompok. Sampel spermatozoa diambil dengan cara memotong vas

deferens dextra sepanjang 1 cm dengan ketentuan vas deferens dipotong 1 cm dari pangkal. Cairan dalam vas deferens yang telah dipotong kemudian diurut dan diletakkan pada objek glass untuk diencerkan dengan menggunakan NaCl fisiologis sebanyak 0,2 cc. Pengenceran ini dimaksudkan untuk memudahkan pemeriksaan. Sampel spermatozoa yang didapat dibuat preparat hapus. Preparat hapus, setelah kering, difiksasi dengan eter alkohol selama 5 menit, kemudian dilakukan pengecatan dengan cat Giemsa selama 30 menit. Masing-masing preparat diperiksa pada beberapa lapang pandang secara zig-zag dan dinilai morfologi spermatozoa sampai didapatkan 100 spermatozoa. Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan menggunakan minyak emersi dan pembesaran 1000x.

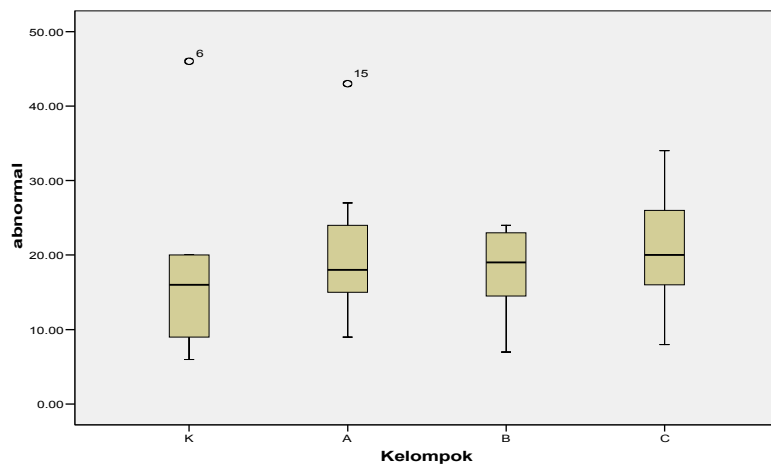
Data morfologi spermatozoa diolah dengan menggunakan *SPSS 15.00 for Windows*. Langkah pertama dilakukan uji *Shapiro-wilk* untuk melihat normalitas distribusi data. Oleh karena data terdistribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna pada data yang dimasukkan. Nilai signifikansi pada penelitian ini adalah apabila data yang dianalisa memiliki nilai $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kedelai dosis bertingkat terhadap morfologi spermatozoa pada 36 ekor mencit jantan strain Balb/C dan diamati morfologi spermatozoa pada masing-masing kelompok K, A, B, dan C.

Tabel.1 Nilai rerata morfologi spermatozoa abnormal

Kelompok	n	Rerata	±	SD	Minimal	Maksimal
K (tidak diberi ekstrak kedelai)	9	16,56	±	12,31	6,00	46,00
A (ekstrak kedelai 260 mg/hr)	9	20,44	±	9,98	9,00	43,00
B (ekstrak kedelai 520 mg/hari)	8	18,00	±	5,93	7,00	24,00
C (ekstrak kedelai 780 mg/hari)	9	21,67	±	8,25	8,00	34,00



Gambar.1 Boxplot rerata morfologi spermatozoa abnormal

Tabel.1 dan Gambar.1 memperlihatkan perubahan nilai rerata morfologi spermatozoa abnormal dari semua kelompok. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui jika rerata morfologi abnormal pada kelompok K dibandingkan dengan kelompok A, B, dan C maka terlihat adanya peningkatan rerata pada kelompok A, B, dan C. Rerata morfologi abnormal kelompok B dibandingkan kelompok A mengalami penurunan, namun reratanya kembali meningkat pada kelompok C. Nilai rerata morfologi abnormal yang paling rendah yaitu pada kelompok K dengan nilai 16,56 dan rerata morfologi abnormal yang paling tinggi pada kelompok C dengan nilai 21,67. Rerata morfologi abnormal untuk kelompok A

dan B berada di antara kelompok K dan C dengan nilai berturut-turut 20,44 dan 18,00.

Tabel.2 Uji normalitas data morfologi spermatozoa abnormal

Kelompok	p
K	0,013
A	0,70
B	0,305
C	0,849

Tabel.2 memperlihatkan uji normalitas data morfologi spermatozoa abnormal dari semua kelompok dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk*. Hasil uji *Shapiro-wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi tidak normal karena terdapat nilai $p < 0,05$ pada salah satu kelompok, yaitu kelompok K di mana $p = 0,013$.

Data morfologi spermatozoa tersebut kemudian diuji dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna diantara kelompok perlakuan, dimana $p = 0,395$.

PEMBAHASAN

Berdasarkan data dari tabel.1 dan gambar.1 diketahui bahwa pemberian ekstrak kedelai cenderung dapat meningkatkan abnormalitas morfologi spermatozoa, tetapi peningkatan yang didapat tidak signifikan secara statistik.

Peningkatan abnormalitas morfologi ini dapat disebabkan karena adanya fitoestrogen, terutama isoflavon, yang banyak terkandung dalam kedelai.^{3,6} Pemberian fitoestrogen dapat mengganggu jalannya spermatogenesis, karena fitoestrogen menghambat kerja enzim $17\text{-}\beta\text{-hidroksisteroidoksidoreduktase}$, enzim yang dibutuhkan untuk sintesis testosteron. Hambatan kerja dari enzim tersebut

menyebabkan penurunan kadar testosteron serta hambatan pada perkembangan sistem saraf pusat dan gonadal.^{3,7} Efek antiandrogenik fitoestrogen juga dapat menghambat sekresi LH pada hipofisis, yang berakibat penurunan kadar sekresi testosteron pada sel Leydig.⁸ Hormon testosteron sangat diperlukan untuk mengawali, mempertahankan proses spermatogenesis, serta mempertahankan kualitas sperma hingga dikeluarkan dari tubuh. Penurunan kadar testosteron inilah yang menyebabkan proses spermatogenesis tidak berjalan optimal, yang pada akhirnya menurunkan kualitas sperma, termasuk morfologi spermatozoa.^{9,10,11}

Hasil yang tidak signifikan kemungkinan dikarenakan waktu pemberian ekstrak kedelai yang kurang lama dan dosis yang kurang tinggi sehingga efek yang ditimbulkan kurang kronis. Adanya komponen lain dalam kedelai yang diketahui dapat meningkatkan kualitas sperma, yaitu asam amino arginin dan vitamin E juga dapat menyebabkan hasil menjadi tidak signifikan.^{12,13}

Asam amino arginin memegang peranan penting dalam mengatur pertahanan tubuh dan imunitas seluler, serta berperan aktif dalam pembentukan sperma. Defisiensi asam amino arginin dapat menyebabkan kekacauan metabolisme sperma sehingga menyebabkan penurunan motilitas sperma dan gangguan spermatogenesis.¹² Pengaruh asam amino arginin terhadap peningkatan kualitas sperma terjadi melalui beberapa mekanisme.

Asam amino arginin dapat melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan akibat peroksidasi lipid dengan meningkatkan produksi *nitric oxide*. Mekanisme yang terjadi mirip dengan mekanisme antioksidan dalam melindungi sel dari radikal bebas. *Nitric oxide* dapat menginaktivasi superoksida (O_2^-) yang

dihasilkan oleh sel sperma selama proses konsumsi oksigen. Keberadaan superoksida dalam jumlah berlebih menyebabkan peroksidasi pada membran fosfolipid sperma sehingga menimbulkan kerusakan secara fungsional. Peroksidasi lipid pada membran sperma inilah yang dicegah oleh asam amino arginin dengan meningkatkan produksi NO.¹²

Asam amino arginin juga telah diteliti dapat memblokir dan menahan agen-agen yang mencegah pemecahan gula pada spermatozoa. Hal ini dapat memperbesar aktifitas metabolik dan meningkatkan ketersediaan energi sel-sel sperma sehingga proses spermatogenesis dan kualitas sperma menjadi lebih baik, termasuk morfologi spermatozoa.^{12,14,15}

Vitamin E dalam kedelai merupakan antioksidan (pencegah oksidasi) yang berperan sebagai pertahanan melawan peroksida lipid yang menghasilkan radikal bebas penyebab kerusakan jaringan. Senyawa yang secara kimia disebut tokoferol ini juga mempunyai kemampuan menetralkan radikal bebas (molekul reaktif pemicu oksidasi) dan melindungi membran sel dari serangan radikal bebas.^{16,17} Seperti kita ketahui bahwa membran plasma spermatozoa mengandung lipid terutama fosfolipid yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Serangan radikal bebas pada membran plasma spermatozoa akan menimbulkan reaksi rantai peroksidasi lipid, yang pada akhirnya menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa toksik terhadap sel spermatozoa. Peroksidasi lipid pada kepala dan ekor dapat menyebabkan perubahan morfologi spermatozoa.¹⁸ Perubahan morfologi tersebut dapat dicegah dengan adanya vitamin E.

KESIMPULAN

Tidak terdapat peningkatan abnormalitas morfologi spermatozoa yang bermakna pada mencit jantan strain Balb/C yang diberi ekstrak kedelai dengan dosis 260 mg/hari, 520 mg/hari, dan 780 mg/hari selama 21 hari.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak kedelai dosis bertingkat terhadap morfologi spermatozoa mencit jantan strain Balb/C dengan waktu perlakuan yang lebih lama dan dosis yang lebih besar. Selain itu perlu juga dilakukan penelitian mengenai potensi fitoestrogen dan asam amino arginin dari kedelai dalam mempengaruhi morfologi spermatozoa mencit jantan strain Balb/C dengan waktu perlakuan dan dosis yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya ucapkan terima kasih kepada Allah SWT karena atas ridho dan bimbingan-Nyalah saya dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini. Terima kasih juga saya ucapkan kepada dr. Ahmad Zulfa Juniarto, MSi, Med selaku dosen pembimbing atas segala bantuan dan bimbingannya, Dra. Henna Rya Sunoko, Apt, MES selaku reviewer proposal, dr. Soenarto Machmudi dan dr. Dodik Pramono selaku tim penguji artikel, staff UPHP dan LPPT UGM, staff BioTek dan Biologi FK UNDIP, teman-teman kelompok penelitian Biologi (Octavia, Adia, Widya, Afi, dan Ranti), keluarga tercinta (papa, mama, dan kakak-kakak), sahabat serta teman-teman 2003 atas bantuan, dukungan, dan doanya hingga terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hermawanto HH, Hadiwijaja DB. Analisis sperma pada infertilitas pria. Available from URL: <http://www.portakalbetempo.co.id/medika/arsip/102002/pus-3.htm>. Akses 24 November 2006.
2. Brandell RA, Schlegel PN. Evaluation of male infertility. In: Keel BA, May JV, De Jonge CJ, editors. Handbook of the assisted reproduction laboratory. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 2000: 94.
3. Karahalil B. Benefits and risks of phytoestrogens. In: Yildiz F, editor. Phytoestrogens in functional foods. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor&Francis Group LLC, 2006: 210-33.
4. Hughes I, Woods HF. Phytoestrogen and health. London: Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and The Environment, 2003: 27-35, 212-3.
5. Watanabe S, Gang Zhoo V, Melby MK, Ishiwata N, Kimira M. Systematic review of intervention studies using isoflavon supplements and proposal for further studies. In: Sugano M, editor. Soy in health and disease prevention. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor&Francis Group LLC, 2006: 98.
6. Sugano M. Nutritional implications of soy. In: Sugano M, editor. Soy in health and disease prevention. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor&Francis Group LLC, 2006 : 15.
7. Attanassova N, McKinnell C, Turner KJ, Walker M, Fisher JS, Morley M, et.al. Comparative effects of neonatal exposure of male rats to potent and

weak (environmental) estrogens on spermatogenesis at puberty and the relationship to adult testis size and fertility : evidence for stimulatory effects of low estrogen levels. *The Endocrine Society* 2000; 141(10): 3898-3905.

8. Gultekin E, Yildiz F. Introduction to phytoestrogen. In: Yildiz F, editor. *Phytoestrogen in functional foods*. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor&Francis Group LLC, 2006: 3-12.
9. Glenn D, Braunstein MD. Testis. Di dalam: Greenspan F.S, Strewler G.J. *Endokrinologi dasar & klinik*, ed.4. Jakarta: EGC, 1995: 508-14.
10. Matsumoto AM. The testis. In: Felig P, Frohman LA, editors. *Endocrinology & metabolism*, 4th ed. USA: The McGraw-Hill Companies Inc., 2001: 635-58.
11. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiologi*, 9th ed. Diterjemahkan oleh: Setiawan I, Tengadi KA, Santosa A. *Buku ajar fisiologi kedokteran*, ed.9. Jakarta: EGC, 1997: 1265-72.
12. Srivastana S, Desai P, Coutinho E, Govil G. Mechanism of action of l-arginine on the vitality of spermatozoa is primarily through increased biosynthesis of nitric oxide. *Biology of Reproduction* 2006; 74(5): 954-958. Available from URL: <http://www.bioreprod.org/content/vol74/issue5>. Akses 12 Juni 2007.
13. Dian Y. Sperma juga butuh nutrisi. Available from URL: <http://www.detikhot.com/index.php>. Akses 12 Juni 2007.
14. Mayasari YR. Efek pemberian kedelai (*Soya max*) terhadap jumlah sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diasapi rokok putih. *Jurnal Kedokteran YARSI* 2005; 13(3): 273-80.

15. Patel AB, Srivastava S, Phade RS, Govil G. Arginine acts as protective and reversal agent against glycolytic inhibitors in spermatozoa. *Physiol Chem Plays Med NMR* 1999; 31(1) : 29-40.
16. Obikoya G. Vitamins for seniors antioxidant. Available from URL: <http://www.vitamincenter/vitamins-research/index.html>. Akses 26 Juni 2007.
17. Susanto H. Vitamin e, panjang umur dan pencegah penyakit. Available from URL: http://www.tiscali.co.uk/lifestyle/healthfitness/menshealth/part1_4-2.html. Akses 26 Juni 2007.
18. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility : from research bench to clinical practice. *Journal of Andrology* 2002 Nov/Dec; 23(6). Available from URL: <http://www.andrologyjournal.org/cgi/content/full/>. Akses 26 Juni 2007.

LAMPIRAN 1

Jumlah Morfologi Spermatozoa Normal dan Abnormal dari Tiap-Tiap Kelompok

Kelompok K, tidak diberi ekstrak kedelai

Gambaran	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9
Normal	84	90	80	80	84	54	94	94	91
Abnormal Kepala	10	6	13	13	12	26	4	4	7
Abnormal Ekor	6	4	5	5	4	15	1	2	2
Abnormal Kepala& Ekor	0	0	2	2	0	5	1	0	0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Kelompok A, diberi ekstrak kedelai dosis 260 mg/hari

Gambaran	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
Normal	91	85	82	73	85	57	76	85	82
Abnormal Kepala	9	10	17	22	7	31	17	8	4
Abnormal Ekor	0	5	1	5	8	10	5	7	13
Abnormal Kepala& Ekor	0	0	0	0	0	2	2	0	1
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Kelompok B, diberi ekstrak kedelai dosis 520 mg/hari

Gambaran	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9
Normal	79	84	87	-	76	77	77	93	83
Abnormal Kepala	5	9	11	-	19	14	17	3	9
Abnormal Ekor	16	7	2	-	5	9	5	4	8
Abnormal Kepala& Ekor	0	0	0	-	0	0	1	0	0
Total	100	100	100	-	100	100	100	100	100

Kelompok C, diberi ekstrak kedelai dosis 780 mg/hari

Gambaran	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
Normal	80	92	84	82	66	74	74	84	69
Abnormal Kepala	13	5	3	12	12	19	19	7	6
Abnormal Ekor	7	3	12	6	22	7	7	7	25
Abnormal Kepala& Ekor	0	0	1	0	0	0	0	2	0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100

LAMPIRAN 2

Foto Preparat Morfologi Spermatozoa

Kelompok K, tidak diberi ekstrak kedelai



Foto Preparat Mencit K5

Kelompok A, diberi ekstrak kedelai dosis 260 mg/hari

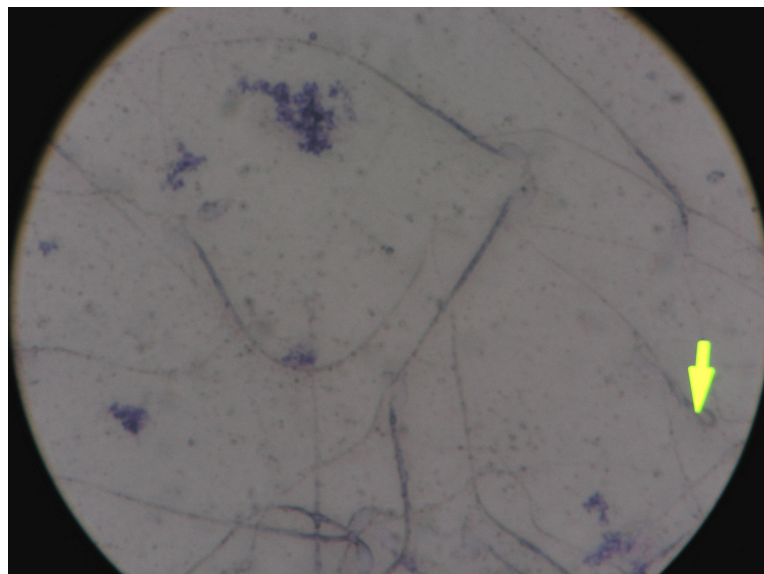


Foto Preparat Mencit A9

Kelompok B, diberi ekstrak kedelai dosis 520 mg/hari

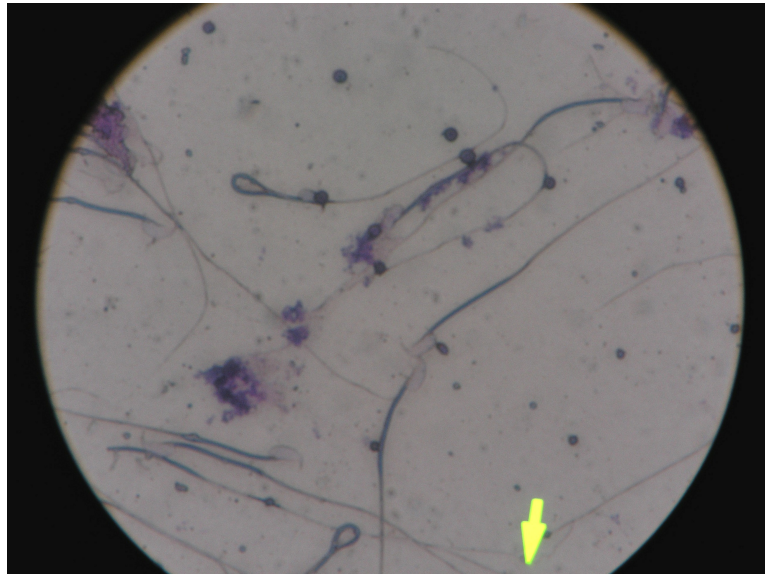


Foto Preparat Mencit B3

Kelompok C, diberi ekstrak kedelai dosis 780 mg/hari

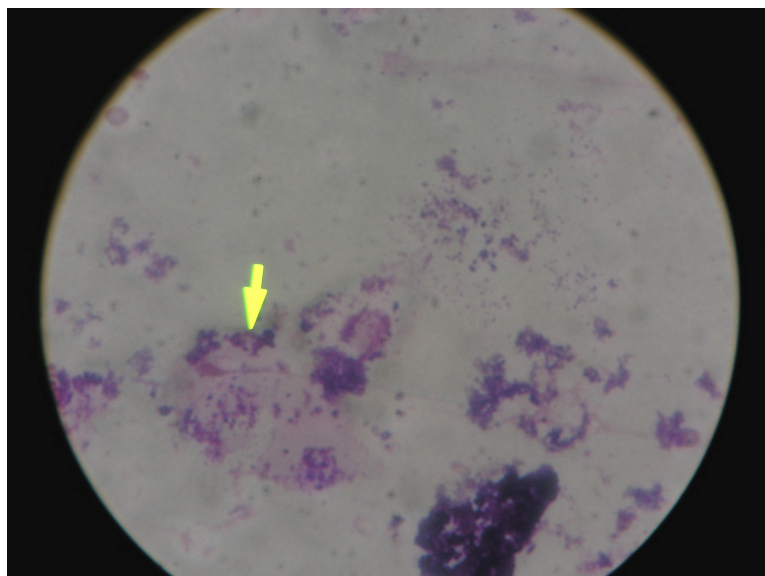


Foto Preparat Mencit C4