

1. SAMPUL
2. DAFTAR ISI
3. DAFTAR ISI

KKC
IKK

071.340

1/01/02



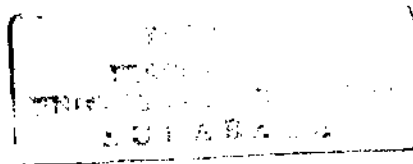
LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2002



PENGARUH EKSTRAK AKAR GINSENG JAWA TERHADAP SPERMATOGENESIS MENCIT YANG DIINDUKSI 2-METHOXYETHANOL

Peneliti:

Dra. ALFIAH HAYATI, M.Kes.
Dr. WINDARMANTO



3000 2190 3314

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 003/XXIII/1/-/2002 Tanggal 1 Januari 2002

Kontrak Nomor : 023/LIT/BPPK-SDM/IV/2002

Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 64

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA

September, 2002

PENGARUH EKSTRAK AKAR GINSENG JAWA TERHADAP SPERMATOGENESIS MENCIT YANG DIINDUKSI 2-METHOXYETHANOL

Alfiah Hayati, Win Darmanto, Dwi Winarni
Laboratorium Biologi Reproduksi, FMIPA UNAIR

RINGKASAN

2-Methoxyethanol adalah kelompok senyawa glycol ether yang diketahui sebagai bahan pencemar lingkungan. Senyawa ini umumnya digunakan sebagai bahan plastik dan pelarut dalam industri cat, minyak rem dsb. dan bersifat toksik dan teratogenik pada mamalia. Sifat teratogenik ini disebabkan oleh hasil metabolisme 2-ME di dalam mitokondria sel liver menjadi methoxyacetic acid (MAA). Pada sistem reproduksi jantan 2-ME menyebabkan kerusakan atau kematian sel dalam jaringan testis, khususnya pada proses spermatogenesis. Akar ginseng jawa dikenal masyarakat sebagai obat tradisional yang berkhasiat penghilang kelelahan dan aprodisiaka. Akar tanaman ini mengandung steroid atau terpenoid. Adanya kandungan senyawa ini diduga bekerja pada sintesis protein tertentu yang berperan dalam spermatogenesis tahap meiosis. Hasil penelitian pada mencit, ekstrak ginseng mempengaruhi sintesis protein pada testis.

Berdasarkan sifat toksik dari 2-ME dan sifat ginseng yang mampu merangsang proses spermatogenesis, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan ekstrak ginseng jawa dalam proses pemulihan kerusakan jaringan testis, khususnya sel-sel spermatogenik mencit akibat induksi 2-ME.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (1) kerusakan jaringan testis khususnya pada proses spermatogenesis akibat induksi 2-ME apakah dapat disembuhkan, (2) kemampuan ekstrak akar ginseng jawa terhadap proses penyembuhan kerusakan jaringan testis, dan (3) lama waktu pemberian ekstrak akar ginseng yang dapat memberikan efek penyembuhan pada testis.

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 3 kelompok secara acak. Pada kelompok perlakuan, 2-ME diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kg berat badan dan ekstrak akar ginseng jawa diberikan secara peroral dengan dosis 3,5 mg/100g BB/hari. Pengamatan histologis testis merupakan pengamatan kuantitatif terhadap

THE EFFECT OF JAVA GINSENG ROOT EXSTRAC TO SPERMATOGENESIS WITH INDUCED OF 2-METHOXYETHANOL

Alfiah Hayati, Win Darmanto, Dwi Winarni
Reproduction Biology Laboratories, FMIPA UNAIR

SUMMARY

2-methoxyethanol is one of the glycol ether component, wich is known to cause environmental polution, it can be used as plasticizer and a solvent of paint's industrial, oil, etc. 2-ME is a toxic and teratogenic in mamals. The characteristic of teratogenic is caused by metabolism of 2-ME in the mitochondrial of livers cells become methoxyacetic acid (MAA). In the male reproduction, 2-ME can causes cell death in the testicular tissue, specially in the spermatogenic process. In the common life, the community known that ginseng java root can be use for traditional of aprodiciac. The ginseng java root containt steroid or terpenoid. This component is in volved on this sintesis of protein at meiosis phase of spematogenesis. In previous study shown that the extract of the ginseng java root influenced sintesis protein in the testes.

Based on 2-ME toxicity and characteristic of ginseng which is stimulate spermatogenesis in mice. The research was insigned for to know the ability of ginseng java root extract in recovery process of testicular injury, especially spermatogenic cells of mice induced by 2-ME.

The research tendencies are to know about (1) testicular injury, especially on spermatogeneses process because of 2-ME induction, Can it reversible or not ? (2) the ability of extract of ginseng java root in reversible of testicular damage and, (3) the term for the giving of extract ginseng java root, which it can give the reversible effect in testes.

The experiment was being grouped into 10^3 random groups, for the treatment group. 2-ME was given by intraperitoneal with dose 200 mg/kg BW and extract ginseng java root was by oral with dose 3,5 mg/100g BW/day. Testes histological evaluation was using a quantitative for the diameter and thick of epitel seminiferous tubules by micrometer and the sum of spermatogonia cells, spermatocyt, and oval spermatid.

Result of the research showed that male mice were exposed by 2-ME can reduce of diameter of seminifous tubules and thick of seminiferous tubules epithelial and decrease in number of spermatogenic cells. Diameter and thick of epithelial tubules and number of spermatogenic cells were increased a week faster after exposure with extract of ginseng java root than group without extract of ginseng java root.

Conclusion of the research that extract of ginseng java root can promote the recovery of testicular injury.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	lx
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan 2-Methoxyethanol	4
2.1.1 Struktur kimia senyawa 2-Methoxyethanol	4
2.1.2 Metabolisme dan toksisitas senyawa 2-Methoxyethanol	4
2.2 Tinjauan Akar Ginseng Jawa	5
2.2.1 Steroid dan saponin	7
2.2.2 Sintesis protein	7
2.3 Tinjauan Sistem Reproduksi Jantan	9
2.3.1 Anatomi dan histologi testis	9
2.3.2 Spermatogenesis	10
2.4 Apoptosis	13
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	14
3.1. Tujuan Penelitian	12
3.2. Manfaat Penelitian	12
BAB IV METODE ILMIAH	15
4.1. Hewan Coba	15
4.2 Bahan Penelitian	15
4.2 Alat Penelitian	15
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	16
4.4 Variabel Penelitian	16
4.5 Pembuatan Ekstrak Metanol Akar Ginseng Jawa	16
4.6 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji	17
4.7 Prosedur Penelitian	18
4.8 Tahap Analisis Data	18
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	19
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	34

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Urutan 14 tingkatan (romawi I - XIV) dari siklus epitel seminiferus pada tikus. A, In, dan B = tipe A, tipe intermedia, dan tipe B; InM, BM = tipe intermedia dan tipe B dalam mitosis; P = spermatosit primer proleptoten; L = spermatosit leptoten; Z = spermatosit sigoten; P = spermatosit pakiten; S = sel Sertoli; D = spermatosit diploten; II = spermatosit sekunder; IM, IIM = meiosis I dan II; 1-19 variasi tahap spermatid dari spermatogenesis; RB = badan residual (Tienhoven, 1983) 12

Gambar 5.2. Rerata diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan 2-ME 20

Gambar 5.3. Rerata jumlah spermatogonium, spermatosit, dan spermatid oval pada tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan 2-ME 21

Gambar 5.4. Rerata diameter tubulus seminiferus testis berdasar waktu recovery setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng 24

Gambar 5.5. Rerata tebal epitel tubuli seminiferi testis berdasar waktu recovery setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng 24

Gambar 5.6. Rerata jumlah spermatogonium berdasar waktu recovery pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng 26

Gambar 5.7. Rerata jumlah spermatosit berdasar waktu recovery setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng 26

Gambar 5.8. Rerata jumlah spermatid berdasar waktu recovery setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng 27

pada proses spermatogenesis, menyebabkan apoptosis (kematian sel) pada spermatosit tikus, marmut dan kelinci (Berndtson *et al.*, 1997; Ku *et al.*, 1995; Butterworth *et al.*, 1995; Wine *et al.*, 1997).

Talinum triangulare Willd. dikenal sebagai ginseng jawa atau krokot Belanda. Selain dimanfaatkan sebagai tanaman hias, daunnya dapat digunakan sebagai sayuran. Akarnya menyerupai akar ginseng Korea, masyarakat biasa menggunakannya sebagai aprodisiaka (obat penguat syahwat) dan tonikum (Santa dan Prajogo, 1996). Analisis kandungan akarnya menunjukkan adanya kandungan saponin (Daris and Khoda, 1996), dan steroid jenis sitosterol (Wiryowidagdo *et al.*, 1996). Adanya kandungan steroid mengindikasikan perannya dalam sintesis protein, karena ikatan antara steroid dengan reseptor intraselular akan mengakibatkan stimulasi transkripsi gen, menghasilkan protein (Norris, 1980; Litwack, 1992).

Jika yang dihasilkan merupakan protein pengatur gen, maka protein tersebut dapat menstimulasi atau justru menghambat transkripsi gen lain. "Net effect" pengaruh pada transkripsi tergantung pada kombinasi protein yang terikat pada bagian tertentu DNA yang berperan sebagai *enhancer* dan *upstream promoter element*. Ikatan dengan protein tertentu tersebut mengakibatkan *enhancer* maupun *upstream promoter element* dapat mempunyai pengaruh memacu (positif kuat, positif lemah), menghambat (negatif kuat, negatif lemah) maupun menghentikan transkripsi. Pengaruh pada aktivitas gen merupakan gabungan antara pengaruh menghambat dan memacu. Perubahan keseimbangan aksi memacu dan menghambat mengakibatkan meningkat dan menurunnya transkripsi gen (Albert *et al.*, 1989).

Pemberian 2-ME mengakibatkan apoptosis sel-sel spermatogenik, sehingga mengakibatkan menurunnya jumlah sel-sel spermatogenik. Penghentian pemberian 2-ME akan diikuti pemulihan oleh tubuh. Proses pemulihan memerlukan sintesis berbagai protein karena melibatkan aktivitas pembelahan sel. Pada penelitian ini ingin diketahui peran kandungan steroid *Talinum triangulare* (Jacq) Willd. terhadap proses pemulihan di dalam testis khususnya dalam proses spermatogenesis yang berlangsung dalam tubuli seminiferi.

Berdasarkan sifat toksik dari 2-ME dan sifat ginseng yang mampu merangsang proses spermatogenesis, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan ekstrak ginseng jawa dalam proses penyembuhan kerusakan jaringan testis, khususnya sel-sel spermatogenik mencit akibat induksi 2-ME.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut.

1. Apakah kerusakan jaringan testis khususnya terhadap proses spermatogenesis akibat induksi 2-Methoxyethanol bersifat reversibel atau ireversibel ?
2. Bagaimanakah kemampuan ekstrak akar ginseng jawa terhadap proses penyembuhan kerusakan jaringan testis, khususnya proses spermatogenesis mencit akibat induksi 2-Methoxyethanol?
3. Apakah lama pemberian ekstrak ginseng jawa berpengaruh terhadap proses penyembuhan spermatogenesis mencit akibat induksi 2- Methoxyethanol?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan 2-Methoxyethanol

2.1.1. Struktur kimia senyawa 2-Methoxyethanol

Struktur kimia senyawa 2-ME adalah $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$. Senyawa ini mendidih pada suhu 124°C dan menguap pada tekanan 7 mmHg. Dikenal juga dengan nama *ethylene glycol monomethyl ether* (EGME). Di alam, senyawa 2-ME seringkali berasal dari hidrolisis senyawa *dimethoxyethyl phthalate* (DMEP) yang terjadi di dalam sel makhluk hidup, khususnya dalam organel mitokondria (Ritter *et al.*, 1985).

2.1.2. Metabolisme dan toksisitas senyawa 2-Methoxyethanol

Senyawa phthalate ester adalah salah satu bahan dasar plastik, limbah senyawa ini sering menjadi bahan polutan lingkungan. Kelompok senyawa phthalate ester ini diantaranya adalah glycol ether yang umumnya digunakan juga sebagai bahan plastik dan sebagai bahan pelarut pada beberapa bidang industri (Singh *et al* 1972, Krasavage *et al.* 1985). 2-Methoxyethanol (2-ME) atau nama lainnya *ethylene glycol monomethyl ether* (EGME) merupakan contoh senyawa glycol ether dan telah diketahui sebagai bahan pencemar lingkungan khususnya perairan, dan bersifat toksik maupun teratogenik (penyebab cacat kandungan) pada beberapa spesies mamalia (Miller *et al*, 1982; Feuston *et al*, 1990; Darmanto, 1998). Sekitar 100.000 orang teracuni 2-ME pertahun, dari jumlah tersebut diduga adalah kaum wanita yang masih dalam masa subur atau mampu melahirkan (Scott *et al.*, 1989). Keracunan dari senyawa ini dapat melalui kulit dan

saluran pernafasan, dengan menggunakan teknik in-vitro senyawa ini mengalami penetrasi dengan cepat melalui kulit (Dugard *et al.*, 1984)..

Senyawa 2-ME dalam tubuh mengalami metabolisme menjadi *methoxyacetic acid* (MAA) dengan bantuan katalisator enzim aldehyd dehidrogenase (ALDH) (Brown *et al.*, 1984; Moslen *et al.*, 1995). Sifat teratogenik 2-ME pada hewan percobaan merupakan hasil dari sifat toksik MAA sebagai hasil metabolit 2-ME (Brown *et al.*, 1984; Moslen *et al.*, 1995). Suatu dokumentasi mengenai keadaan terdedahnya 2-ME terhadap kehamilan pada manusia, menyebabkan dugaan terjadinya peningkatan aborsi, lahir mati, atau kelainan perkembangan seperti kelainan anggota, kelainan jantung atau ginjal. Kelainan ini merupakan indikasi bahwa 2-ME bersifat embriotoksik pada manusia (Scott, 1989). Penelitian pada mencit jantan, pemberian 2-ME selama 7, 14, dan 21 hari menurunkan jumlah spermatosit fase akhir dan motilitas spermatozoanya, semakin lama pemberiannya semakin menurun fungsi testisnya. Penelitian lain telah membuktikan bahwa 2-ME menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi berupa kerusakan pada jaringan testis, khususnya pada proses spermatogenesis, menyebabkan apoptosis (kematian sel) pada spermatosit tikus, marmut, kelinci (Ku and Chapin, 1994; Ku *et al.*, 1995; Wine *et al.*, 1997).

2.2. Tinjauan Akar Ginseng Jawa

Dua jenis tanaman yang dikenal sebagai jenis ginseng jawa yaitu *Talinum triangulare* Willd (dikenal sebagai krokot Belanda) dan *T. panikulatum* Gaertn (dikenal sebagai som jawa (Wahyuni dan Hadipoenyanti, 1996). Keduanya mempunyai akar yang mirip akar ginseng korea (Santa dan Prajogo, 1996).

Talinum triangulare Willd mempunyai daun bulat memanjang hijau muda, sukulen tipis, mulai berbunga pada 74-80 hari dengan bentuk rangkaian bunga rasemosa (tandan). Buah berwarna hijau muda dengan garis-garis merah kecil, buah yang sudah tua pecah dengan sendirinya. Dibandingkan akar *T. paniculatum*, akar *T. triangulare* lebih terang (Wahyuni dan Hadipoenyanti, 1996). Klasifikasi tanaman ginseng Jawa menurut van Steenis (1997) adalah sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta
- Anak Divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Anak Kelas : Apetalae
- Bangsa : Caryophyllales
- Suku : Portulacaceae
- Marga : *Talinum*
- Jenis : *Talinum triangulare* (Jacq) Willd

Ginseng jawa baik *T. triangulare* Willd.(krokot Belanda) maupun *T. paniculatum* Gaertn (som Jawa) sering digunakan sebagai obat penguat syahwat (aprodisiaka) dan sebagai tonikum (mengatasi kelelahan). Selain itu daunnya dapat dipakai sebaga sayuran (Santa dan Prajogo, 1996).

Daris and Khoda (1996) menemukan kandungan saponin pada akar *T. triangulare* Willd. Sedangkan Wiryowidagdo *et al* (1996) menemukan adanya kandungan steroid berupa sitosterol.

2.2.1. Steroid dan saponin

Steroid mempunyai struktur dasar yang sama dengan triterpenoid tetrasiklik. Hampir semua steroid dalam tumbuhan berupa alkohol yang disebut sterol, dan di alam banyak ditemukan dalam bentuk glikosida (membentuk ikatan dengan karbohidrat) yang disebut saponin (Robinson, 1995).

Steroid dapat masuk ke dalam sel melalui membran sel. Di dalam sel steroid akan berikatan dengan reseptor steroid (di sitoplasma atau di inti sel) membentuk kompleks reseptor-steroid. Steroid mengawali aksinya dalam sel dengan jalan mengikat reseptor intraselular. Ikatan antara steroid dengan reseptor intraselular mengakibatkan stimulasi aktivasi gen (Litwack, 1992), yang terjadi saat transkripsi yang menyebabkan disintesisnya protein baru (Albert *et al.*, 1989).

2.2.2. Sintesis protein

Sintesis protein tertentu merupakan hasil ekspresi gen/kelompok gen tertentu. Pengendali utama ekspresi gen adalah lingkungan dan status metabolik sel. Metabolit ekstraselular atau intraselular dapat memicu mekanisme kompleks tersebut dan mengakibatkan stimulasi atau inhibisi ekspresi gen. Gen-gen tertentu diekspresikan relatif sinambung (kontinu) selama sel aktif, sedangkan gen-gen tertentu yang lain diekspresikan atau tidak tergantung pada kondisi nutrisi, masa diferensiasi dan perkembangan organisme, stimulasi fisiologi yang diterima (saraf, hormonal, dll) atau jenis stres yang dialami (panas, radiasi, bahan kimia, dll) (Conn *et al.*, 1987).

Pengaturan ekspresi gen dapat terjadi saat transkripsi (*transcriptional regulations*), setelah transkripsi (*post transcriptional regulations*), saat translasi

(*translational regulations*) atau setelah translasi (*translational regulations*) (Conn *et al.*, 1987).

Pengaturan transkripsi pada eukariota lebih kompleks dibandingkan dengan pada prokariota. RNA polimerase eukariotik tidak dapat mengenal *promoter* (bagian DNA dengan urutan basa tertentu, tempat terikatnya RNA polimerase pada DNA), tetapi dapat mengenal promoter setelah bagian DNA tertentu berikatan dengan protein pengatur gen (*gene regulator proteins*) tertentu yang disebut dengan faktor transkripsi (*transcription factor* = TF). TF diperlukan untuk membentuk promoter yang fungsional, untuk dapat dimulainya sintesis RNA. TF umum untuk RNA polimerase II disebut dengan faktor TATA, karena mampu mengikat bagian DNA yang kaya akan basa adenin dan timin yang disebut dengan "TATA box". Pada kondisi *in vitro*, TF membentuk kompleks transkripsi yang stabil, yang secara selektif akan menarik molekul RNA polimerase kontak dengan promoternya. Selama transkripsi berlangsung, faktor TATA tetap melekat erat pada TATA box, sehingga memungkinkan digunakannya promoter oleh banyak molekul RNA polimerase (Albert *et al.*, 1989).

Tata box termasuk dalam bagian DNA yang disebut sebagai *upstream promoter element*. Ke arah "upstream" dari *upstream promoter element*, terdapat bagian DNA dengan urutan basa tertentu yang disebut sebagai *enhancer*. *Enhancer* dapat mengaktivasi transkripsi gen, dengan tapak mulai sintesis RNA normal. *Enhancer* bekerja dua arah, dan karena DNA memiliki fleksibilitas, *enhancer* masih dapat mengaktivasi transkripsi meski terletak jauh dari promoter (Albert *et al.*, 1989).

Baik *enhancer* maupun *upstream promoter element* dapat mengikat protein pengatur gen tertentu. Protein pengatur gen tertentu dapat menstimulasi transkripsi

sedangkan protein pengatur gen yang lain justru menghambat. "Net effect" pengaruh enhancer dan upstream promoter elemen pada transkripsi tergantung pada kombinasi protein yang terikat. Ikatan dengan protein tertentu tersebut mengakibatkan enhancer maupun upstream promoter elemen dapat mempunyai pengaruh memacu (positif kuat, positif lemah), menghambat (negatif kuat, negatif lemah) maupun menghentikan transkripsi. Pengaruh pada aktivitas gen merupakan gabungan antara pengaruh menghambat dan memacu. Perubahan keseimbangan aksi memacu dan menghambat mengakibatkan meningkat dan menurunnya transkripsi gen (Albert *et al.*, 1989).

2.3. Tinjauan Sistem Reproduksi Jantan

2.3.1. Anatomi dan histologi testis

Testis merupakan kelenjar reproduksi primer jantan, jumlahnya sepasang, berbentuk bulat panjang, dan tersimpan dalam skrotum. Testis dibungkus oleh beberapa lapisan jaringan parenkim yaitu tunika vaginalis, tunika albuginea, dan tunika vaskuola. Dari tunika albuginea terdapat trabekula-trabekula yang memanjang menuju posterior pada mediastinum, sehingga membagi testis menjadi lobuli-lobuli. Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus (90%) dan sisanya adalah jaringan ikat, jaringan saraf, dan sel-sel Leydig. Tubulus seminiferus merupakan suatu saluran tempat memproduksi spermatozoa. Tubulus seminiferus tertutup oleh lapisan epitel germinal yang mengandung sel spermatogenik. Membran dasarnya dikelilingi oleh suatu kapsula jaringan fibroblastis. Bagian epitel terluar dari dinding tubulus adalah spermatogonia yang terpisah dari sel spermatogenik lain oleh tonjolan-tonjolan membran sel Sertoli. Sel spermatogonia berbentuk kubus atau bulat dengan inti yang terang. Spermatisit primer

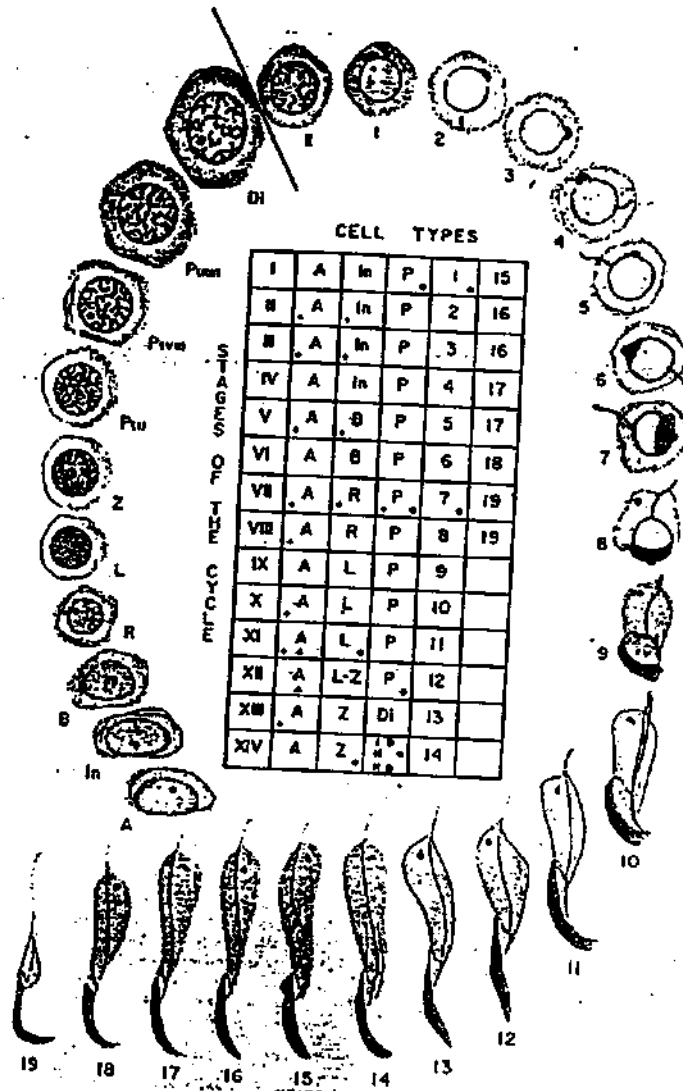
merupakan sel spermatogenik yang lebih besar, mempunyai kromatin dan berinti. Spermatisit sekunder jarang tampak, bentuknya lebih kecil. Sel yang tumpang tindih dengannya adalah spermatid yaitu sel yang jauh lebih kecil dan berinti, vesikular, besar dan terletak di sentral. Pada lumen terdapat spermatozoa yang terbentuk sepenuhnya berinti gelap, memanjang dan berflagela (Tienhoven, 1983).

2.3.2. Spermatogenesis

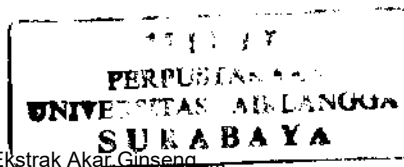
Testis mempunyai dua fungsi yaitu (1) spermatogenesis yang menghasilkan spermatozoa (dalam epitel tubulus seminiferus) dan (2) steroidogenesis yang menghasilkan hormon steroid (dalam sel Leydig) dan dapat menginduksi terjadinya perilaku seksual, menyiapkan saluran-saluran reproduksi dan fungsi lainnya. Kedua fungsi tersebut bergantung pada sekresi gonadotropin dari hipofise anterior melalui poros hipotalamus-hipofisa-testis (Tienhoven, 1983).

Spermatogenesis merupakan suatu proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium melalui suatu perkembangan yang kompleks dan teratur. Lama satu siklus spermatogenesis dapat diukur dari terjadinya perubahan spermatogonia tipe A sampai menjadi spermatozoa. Waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus spermatogenesis tikus adalah 49 hari dan lama satu daur epitel seminiferus adalah 12,3 hari. Spermatogonia merupakan sel diploid yang relatif kecil yang intinya mengandung kromatin. Sel spermatogonia pada tikus dapat dibedakan menjadi 2 tipe yaitu sel "dusty" (spermatogonia tipe A) dan sel "crusty" (spermatogonia tipe B). Di antara kedua tipe tersebut terdapat spermatogonia intermedia. Pada manusia, sel spermatogonia ini dibedakan menjadi 3 tipe yaitu spermatogonia tipe A gelap, tipe A pucat, dan tipe B.

Spermatogonia A (sel germinal) mengalami proses pembelahan menjadi spermatogonia A-1 dan spermatogonia A-0 merupakan cadangan dan tidak berkembang sampai terbentuknya spermatosit primer. Selanjutnya spermatogonia A-1 masuk dalam siklus spermatogenesis dan mengalami pembelahan menjadi spermatogonia intermedia. Spermatogonia intermedia akan membelah dan kemudian menjadi lebih besar yang disebut sel spermatogonia B. Selanjutnya spermatogonia B berkembang menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer kemudian mengalami pembelahan meiosis yang mengakibatkan terjadinya reduksi jumlah kromosom dari diploid menjadi haploid. Pembelahan meiosis pertama diawali dengan stadium proleptoten, leptoten, zygoten, pakhiten, dan stadium diploten yang akhirnya akan menghasilkan spermatosit sekunder. Kemudian memasuki pembelahan meiosis kedua yang menghasilkan spermatid yang haploid. Spermatid kemudian mengalami perubahan menjadi spermatozoa melalui proses diferensiasi yang kompleks yang disebut sebagai proses spermiogenesis (Tienhoven, 1983).



Gambar 2.1 Urutan 14 tingkatan (romawi I - XIV) dari siklus epitel seminiferus pada tikus. A, In, dan B = tipe A, tipe intermedia, dan tipe B; InM, BM = tipe intermedia dan tipe B dalam mitosis; P = spermatis primer proleptoten; L = spermatis leptoten; Z = spermatis sigoten; P = spermatis pakiten; S = sel Sertoli; D = spermatis diploten; II = spermatis sekunder; IM, IIM = meiosis I dan II; 1-19 variasi tahap spermatid dari spermatogenesis; RB = badan residual (Tienhoven, 1983)



2.4. Apoptosis

Apoptosis (programed cell death) adalah kematian sel yang terprogram. Pada masa embrionik merupakan faktor penting yang mampu menyeleksi apakah sel tersebut pantas atau mampu berdeferensiasi secara lengkap pada masa postnatal (Blaschke *et al.*, 1996). Banyak bahan yang menyebabkan terjadinya apoptosis, seperti pemberian radiasi sinar X pada embrio tikus menyebabkan apoptosis pada daerah external granular layer (EGL) dari cerebellum (Ferrer *et al.*, 1996).

Apoptosis merupakan proses biologi yang diikuti dengan adanya proese perubahan sel, berupa rangkaian perubahan secara morfologi yaitu kondensasi kromatin, membran bergelembung, fragmentasi sel menjadi potongan kecil atau badan apoptotik. Tidak seperti nekrosis, apoptosis diinduksi oleh perkembangan dan rangsangan lingkungan yang dikendalikan oleh sejumlah besar gen, beberapa protooncogen dan kelompok gen penekan tumor (Yang and Korsmeyer, 1996). Mekanisme terjadinya apoptosis bervariasi antar peneliti. Beberapa laporan menunjukkan bahwa apoptosis diikuti adanya gangguan rangkaian biokimia seperti (1) gangguan pada asimetris fosfolipid dari membran sitoplasma sehingga menyebabkan fosfatidilserin terdedah ke lapisan luar membran, (2) gangguan pada membran mitokondria sehingga melepaskan komponen membran intermitokondria seperti sitikrom C dan *apoptosis inducing factor* (AIF), dan (3) aktivasi berjenjang dari endinuklease, akan menyebabkan kerusakan DNA nukleosomal dan pembelahan protein esensial seperti PARP, lamin, actin, dan fodrin (Kluck *et al.*, 1997; Kroemer *et al.*, 1997).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan :

1. kerusakan jaringan testis khususnya pada proses spermatogenesis akibat induksi 2-Methoxyethanol apakah dapat disembuhkan.
2. kemampuan ekstrak akar ginseng jawa terhadap proses penyembuhan kerusakan jaringan testis, khususnya proses spermatogenesis mencit jantan akibat induksi 2-Methoxyethanol .
3. lama waktu pemberian ekstrak ginseng yang dapat memberikan efek penyembuhan pada testis, khususnya proses spermatogenesis mencit akibat induksi 2-Methoxyethanol.

3.2. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan berguna untuk memberikan informasi ilmiah bawa ekstrak akar ginseng jawa dapat mempercepat penyembuhan jaringan testis yang mengalami kerusakan karena 2-ME yang toksik.

BAB IV

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap.

4.1 Hewan Coba

Hewan percobaan adalah 50 ekor mencit jantan dewasa, strain A/J, umur antara 8 – 16 minggu, berat badan 28 - 30 gram, diperoleh dari bagian Pemeliharaan Hewan Percobaan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

4.2. Bahan Penelitian

- (1) Senyawa 2-Methoxyethanol (2-ME) produksi Wako Co. Japan.
- (2) Akar ginseng jawa (*Talinum triangulare*) yang diperoleh dari Yogyakarta.
- (3) Beberapa bahan kimia untuk pembuatan sediaan histologi testis mencit, yaitu Bouin, alkohol, xylol, Hematoxiline-Eosine, parafin, dan entelan.

4.3 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) *Disposabel siringe* 1 ml untuk menyuntikan 2-ME.
- (2) Alat untuk pemeliharaan dan pengamatan hewan coba seperti kandang tikus yang berukuran 40 x 50 cm,
- (3) Peralatan untuk pembedahan, pengambilan testis dan mikroskop cahaya.

- (4) Peralatan untuk pembuatan sediaan testis, dan
- (5) alat untuk ekstraksi akar ginseng jawa.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Reproduksi dan pembuatan ekstrak akar ginseng jawa di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya. Lama waktu penelitian selama 6 bulan.

4.5 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis 2-Methoxyethanol, konsentrasi ekstrak akar ginseng dan lama waktu pemberian ekstrak akar ginseng.
2. Variabel terikatnya adalah diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatogonium, spermatosit, dan spermatid oval dari testis mencit yang diberi 2-ME dan 2-ME diikuti pemberian ekstrak ginseng dengan variasi lama pemberian.
3. Variabel terkendalinya adalah umur, pakan, dan berat badan mencit, suhu dan periodisitas gelap dan terang.

4.6 Pembuatan Ekstrak Metanol Akar Ginseng Jawa

Akar ginseng jawa basah diiris-iris kemudian dikeringkan. Irisan kering akar kemudian dibuat serbuk. Tiap kg ginseng jawa basah dapat menghasilkan 75 g serbuk. Serbuk akar ginseng jawa dimaserasi di dalam metanol sehari semalam. Maserasi diulang hingga filtrat jernih seperti metanol. Kemudian filtrat diuapkan di dalam evaporator

BAB V

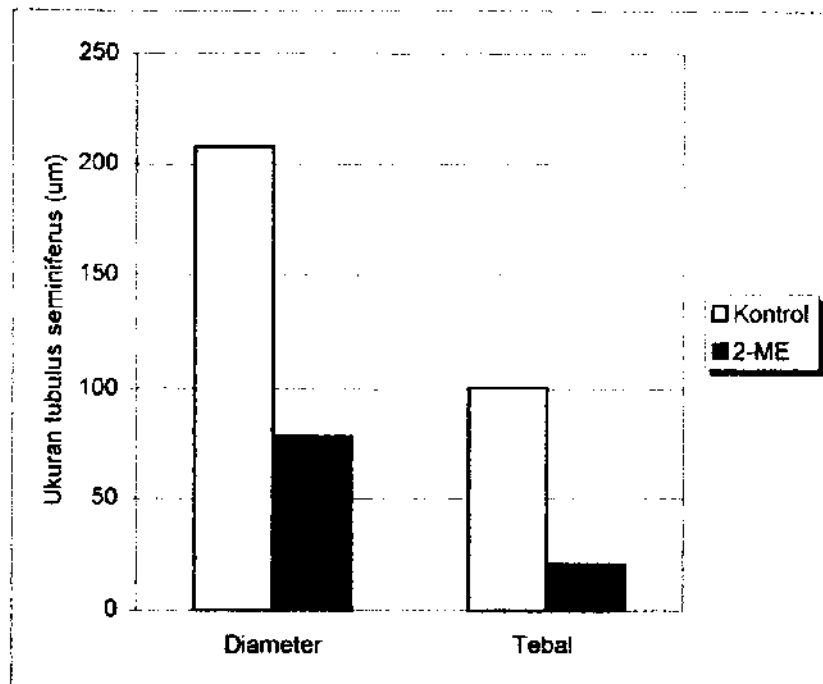
HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah melakukan penelitian mengenai kemampuan ekstrak akar ginseng jawa terhadap penyembuhan kerusakan jaringan testis, khususnya proses spermatogenesis mencit yang terinduksi 2- Metoxyethanol, maka diperoleh data hasil pengamatan berupada data kuantitatif dari kondisi testis mencit. Data-data yang didapat adalah ukuran diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatogonium, jumlah spermatisit, dan jumlah spermatid oval. Data-data tersebut dapat dilihat pada lampiran 1 dan sifat toksisitas 2-ME terhadap jaringan testis dan sel spermatogenesis dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 : Kondisi jaringan testis dan jumlah sel spermatogenik pada testis akibat pemberian 2-Methoxyethanol selama 3 minggu

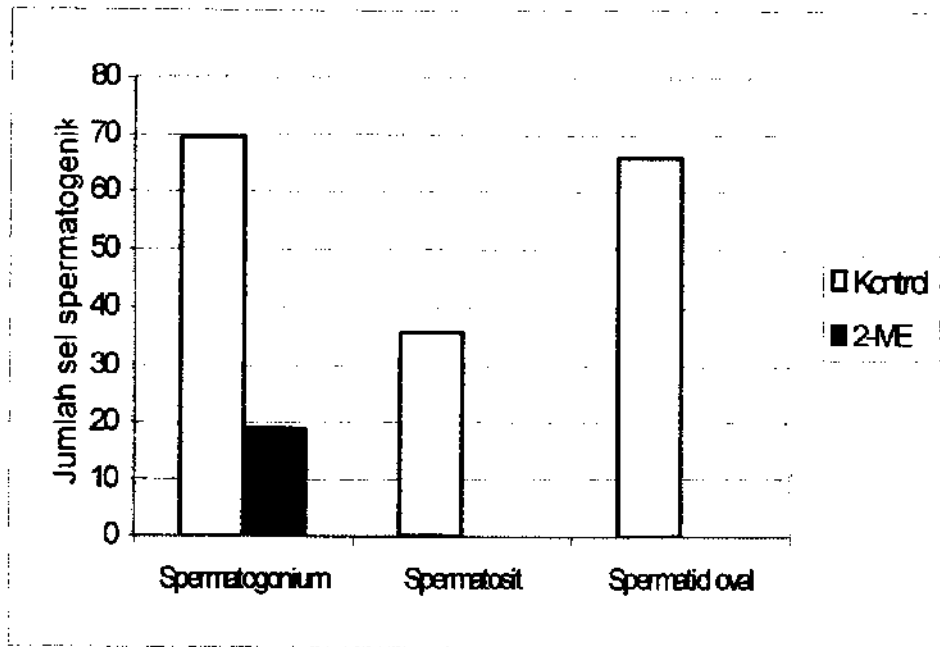
Variabel Kondisi Testis	Kontrol (tanpa 2-ME)	2-ME (3 mgg)	Persentase penurunan akibat 2-ME
Diameter tubulus seminiferus (μm)	208	78,4	63 %
Tebal epitel tubulus seminiferus (μm)	100,8	20,8	79 %
Jumlah spermatogonium	69,4	18,8	73 %
Jumlah spermatisit	35,7	0	100 %
Jumlah spermatid oval	65,8	0	100 %

2-ME yang diberikan pada mencit jantan, dapat menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus dan penurunan ketebalan dari epitel tubulus seminiferus. Penurunan tersebut mencapai nilai 63 % dan 79 % (gambar 5.2).



Gambar 5.2 Rerata diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan 2-ME

Penurunan diameter dan ketebalan epitel ini, tampaknya disebabkan oleh penurunan jumlah sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus. Hal ini karena 2-ME terlihat menyebabkan hilangnya spermatogonium yaitu sebesar 73 %, sedangkan spermatogenik pada tahap yang lebih tua, yaitu sel spermatosit dan spermatid oval, tampak semuanya menghilang (gambar 5.3).



Gambar 5.3 Rerata jumlah spermatogonium, spermatisit, dan spermatid oval pada tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan 2-ME

Kehilangan sel spermatogenik ini masih perlu diamati lebih lanjut. Apakah disebabkan kematian pada saat tahap tersebut atau sel spermatogonium tidak lagi mempunyai kemampuan berkembang? Pertanyaan lain yang muncul adalah apakah kerusakan jaringan testis dan hilangnya sel-sel spermatogenik tersebut bersifat reversibel atau ireversibel. Kondisi kerusakan jaringan testis dan sel-sel spermatogenik akibat induksi 2-ME setelah dibiarkan selama 3 minggu, untuk memberi kesempatan testis untuk melakukan recoveri dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 : Kondisi jaringan testis dan jumlah sel-sel spermatogenik pada testis akibat pemberian 2-Methoxyethanol selama 3 minggu dan di amati pada selang waktu 4, 5, 6 dan 7 minggu berikutnya

Variabel Kondisi Testis	0 minggu	4 minggu	5 minggu	6 minggu	7 minggu
Diameter tubulus seminiferus (μm)	78,4*	130*	144,8*	186,4*	199,6*
Tebal epitel tubulus seminiferus (μm)	20,8*	41,6*	44*	59,6*	73,2*
Jumlah spermatogonium	18,8*	25*	30,1*	42,2*	47,6*
Jumlah spermatisit	0*	22,7*	24,2*	26,7*	32,6*
Jumlah spermatid oval	0*	33,7*	39,5*	42,1*	54,6*

*) : Berbeda secara nyata bila dibandingkan dengan kontrol ($\alpha = 0.05$)

Dari tabel 5.2 dapat dilihat bahwa, kerusakan jaringan testis dan hilangnya sebagian sel-sel spermatogenik akibat induksi 2-ME bersifat reversibel. Diameter tubulus seminiferus dan ketebalan epitel tubulus seminiferus dari testis mencit yang diberi 2-ME dan diamati pada selang waktu 4, 5, 6, 7 minggu setelah perlakuan cenderung meningkat yaitu mencapai 199,6 μm dan 73,2 μm (tabel 5.2) pada selang waktu 7 minggu. Ukuran ini mendekati diameter tubulus seminiferus dan ketebalan epitel tubulus seminiferus dari kelompok kontrol yaitu sebesar 208 μm dan 100,8 μm (tabel 5.1).

Jumlah sel-sel spermatogenik seperti; spermatogonium, spermatisit dan spermatid oval yang diamati pada selang waktu 4, 5, 6 dan 7 minggu setelah pemberian 2-ME, menunjukkan peningkatan jumlah yang bermakna yaitu mencapai 47, 6; 32, 6; dan 54, 6 (tabel 5.2). Harga ini juga hampir mendekati jumlah spermatogonium, spermatisit dan spermatid oval pada kontrol yaitu 69,4; 35,7; dan 65,8 (tabel 5.1).

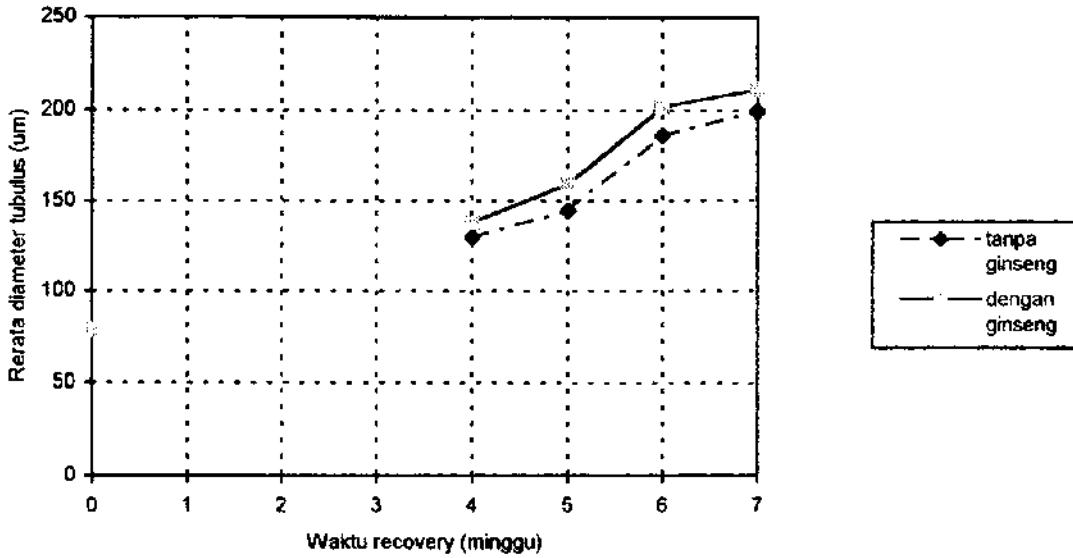
Pada penelitian ini juga dirangsang untuk mengetahui apakah ekstrak akar ginseng mampu mempercepat proses pemulihan pada kerusakan jaringan testis, khususnya pada proses spermatogenesis akibat induksi 2-ME.

Tabel 5.3: Perbandingan kondisi jaringan testis dan jumlah sel-sel spermatogenik pada testis akibat pemberian 2-Methoxyethanol selama 3 minggu dan berikutnya diberi ginseng dengan lama waktu 4, 5, 6 dan 7 minggu setelah induksi 2-ME

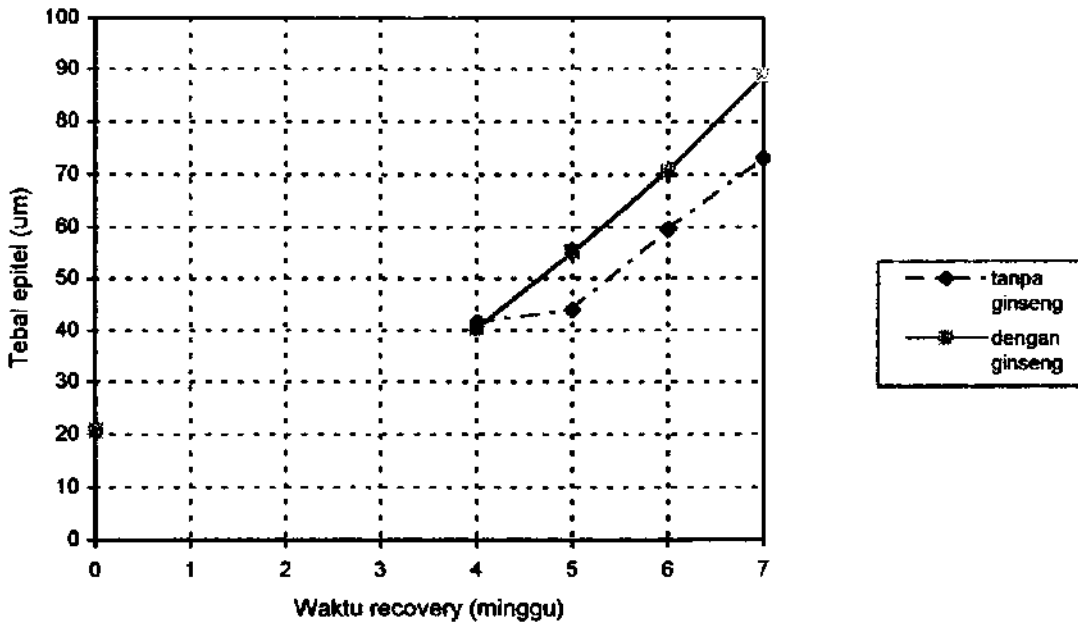
Variabel Kondisi Testis	0 minggu	4 minggu	5 minggu	6 minggu	7 minggu
Diameter tubulus seminiferus (μm)	78,4	138*	159.6*	202*	211.2*
Tebal epitel tubulus seminiferus (μm)	20,8	40.4	55.2*	70.8*	88.8*
Jumlah spermatogonium	18,8	26.7*	39.8*	45.8*	52.8*
Jumlah spermatisit	0	24.1*	28.6*	35.4*	38.8*
Jumlah spermatid oval	0	34.6*	45.7*	53.5*	67.4*

*) : Berbeda secara nyata bila dibandingkan dengan perlakuan 2-ME tanpa ginseng ($\alpha = 0.05$).

Dari tabel 5.3 dapat dilihat bahwa, adanya pengaruh ekstrak ginseng terhadap kecepatan pemulihan kerusakan jaringan testis dan hilangnya sebagian sel-sel spermatogenik akibat induksi 2-ME. Diameter tubulus seminiferus dari testis mencit yang diberi 2-ME dan ekstrak ginseng selama kurun waktu 4, 5, 6, 7 minggu setelah perlakuan meningkat lebih cepat dari pada tanpa pemberian ginseng yaitu mencapai 202 μm (tabel 5.3) pada selang waktu 6 minggu (gambar 5.4). Harga ini hampir mendekati diameter tubulus seminiferus dari testis mencit kontrol yaitu sebesar 208 μm (tabel 5.1) atau sebanding dengan harga pada selang waktu 7 minggu setelah induksi 2-ME tanpa ginseng. Walaupun ketebalan epitel tubulus seminiferus antara yang diberi ginseng dengan yang tidak diberi ginseng berbeda secara nyata, namun harga tersebut, baru mencapai nilai yang sama dengan kontrol pada selang waktu setelah 6 minggu (gambar 5.5).



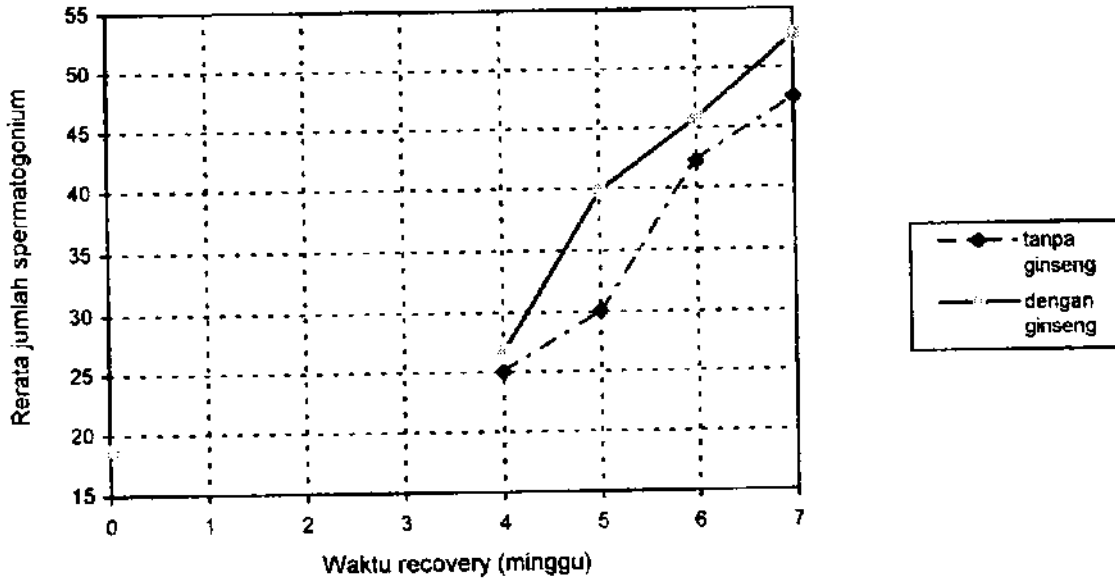
Gambar 5.4 Rerata diameter tubulus seminiferus testis berdasar waktu pemulihan setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng



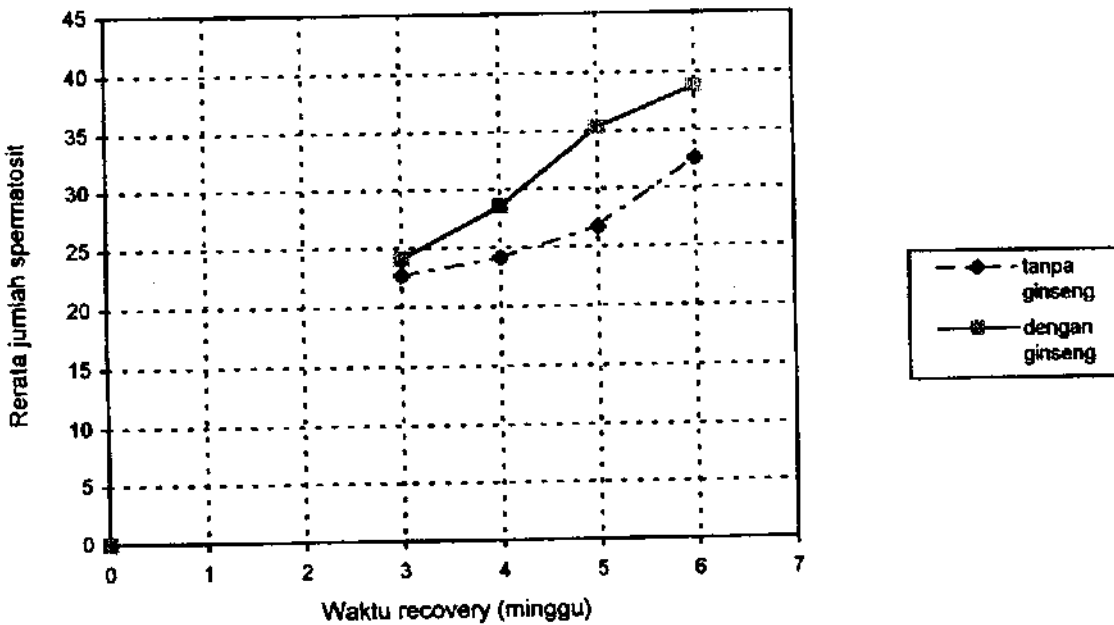
Gambar 5.5 Rerata tebal epitel tubulus seminiferus testis berdasar waktu pemulihan setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng

Handwritten signature and date: 2019/05/05

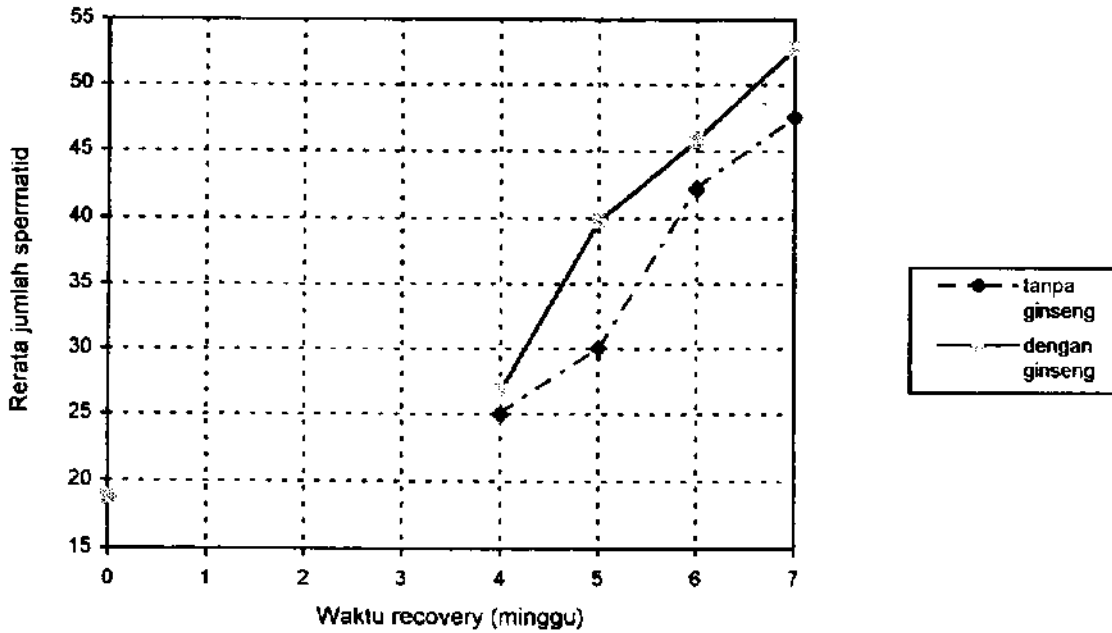
Jumlah sel-sel spermatogenik seperti spermatogonium, spermatosit dan spermatid oval yang diamati pada selang waktu 4, 5, 6 dan 7 minggu setelah pemberian 2-ME dan selanjutnya diikuti pemberian ekstrak ginseng, menunjukkan peningkatan jumlah yang lebih besar secara nyata bila dibanding dengan yang tidak diberi ginseng (gambar 5.6, 5.7, dan 5.8). Kecepatan jumlah pemulihan untuk spermatosit pada selang waktu 6 minggu sebesar 35.6 (tabel 5.3), harga ini sudah sama dengan harga jumlah spermatosit dari testis kontrol yaitu 35.7 (tabel 5.1). Jika antar tabel dua yaitu proses pemulihan terhadap kerusakan jaringan testis dan proses spermatogenesis yang tanpa ekstrak ginseng dibandingkan dengan tabel 5.3 dengan ekstrak ginseng, maka dapat diketahui bahwa kecepatan pemulihannya satu minggu lebih cepat pada kelompok testis yang diberi ekstrak ginseng. Hal ini terlihat semua harga pada minggu ke 7 pada pemulihan tanpa ginseng, setingkat dengan harga pada minggu ke 6 dari kelompok testis yang diberi ginseng.



Gambar 5.6. Rerata jumlah spermatogonium berdasar waktu pemulihan setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng



Gambar 5.7. Rerata jumlah spermatosis berdasar waktu pemulihan setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng



Gambar 5.3. Rerata jumlah spermatid berdasar waktu pemulihan setelah pemberian 2-ME selama tiga minggu, antara perlakuan yang diberi ginseng dan yang tidak diberi ginseng

Dari gambar 5.4 hingga gambar 5.8 dan ditunjang hasil analisis varians (lampiran 3) nampak bahwa terjadi percepatan pemulihan yang bermakna antara kelompok tanpa ginseng dengan kelompok yang diberi ginseng. Peningkatan percepatan tersebut nampak dari perbedaan nyata rerata diameter tubulus, tebal epitel spermatogenik dalam tubulus seminiferus, dan jumlah sel-sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit dan spermatid oval) antara kelompok tanpa ginseng dengan kelompok yang diberi ginseng.

Pada penelitian ini pemberian 2-ME terhadap mencit jantan dapat menyebabkan kerusakan jaringan jaringan testis, khususnya proses spermatogenesis yang ditandai dengan berkurangnya jumlah spermatogonium spermatosit dan spermatid. Penelitian serupa telah dilakukan dengan menggunakan 2-ME maupun methoxyacetic acid sebagai senyawa hasil metabolisme 2-ME, juga menyebabkan terganggunya proses

spermatogenesis Ku *et al.*, 1995; Li *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 2000). Hilangnya beberapa sel spermatogenik pada testis akibat induksi 2-ME, pada penelitian ini masih belum diketahui, apakah akibat apoptosis atau akibat nekrosis atau sebagai akibat tidak langsung dari tergantungnya sekresi hormon testosteron. Namun bila ditinjau dari beberapa penelitian sebelumnya, kehilangan sel spermatogenik ini sebagai akibat dari proses apoptosis. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian dengan menggunakan anak tikus yang diberi MAA, menyebabkan penurunan berat testis, pengecilan diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sertoli sebagai akibat dari peningkatan jumlah sel spermatogenik yang mengalami apoptosis. Penelitian lain juga menunjukkan adanya efek toksik 2-ME pada jaringan testis diberbagai hewan percobaan, khususnya pada proses spermatogenesis 2-ME menyebabkan apoptosis pada spermatosit tikus, marmut, dan kelinci (Berndtson *et al.*, 1997; Butterworth *et al.*, 1995). Wine *et al.* (1997) melakukan penelitian dengan menggunakan tikus, membuktikan bahwa 2-ME menyebabkan apoptosis pada spermatosit tahap *pachitene*, ditandai dengan ,eningkatnya sintesis *cyclophilin A*, sebagai tanda adanya aktivitas nuclease yang merupakan ciri suatu proses apoptosis. Pendapat ini juga didukung oleh Wang *et al.*, (2000) menunjukkan adanya peningkatan apoptosis pada spermatosit tahap *pachitene*. Proses apoptosis ini diduga sebagai akibat adanya peningkatan ekspresi gen tirosin kinase-pp60 (c-sre) pada spermatosit tahap *pachitene*. Namun begitu peneliti lain menyebutkan bahwa 2-ME menyebabkan degradasi sel spermatosit yang disebabkan oleh adanya proses *necrosis* (Ku and Chapin, R.E. 1994).

Ekstrak akar ginseng jawa mampu mempercepat proses recaveri jaringan testis karena terinduksi 2-ME. Peningkatan percepatan pemulihan oleh ekstrak akar ginseng

jawa kemungkinan disebabkan oleh terjadinya percepatan atau peningkatan sintesis protein yang diperlukan untuk pembelahan sel (pembelahan spermatogonium hingga pembentukan spermatid). Percepatan tersebut kemungkinan besar diperankan oleh steroid yang dikandung oleh ekstrak akar ginseng jawa. Steroid dapat masuk ke dalam sel melalui membran sel. Di dalam sel steroid akan berikatan dengan reseptor steroid membentuk kompleks reseptor-steroid. Steroid mengawali aksinya dalam sel dengan jalan mengikat reseptor intraselular. Ikatan antara steroid dengan reseptor intraselular mengakibatkan stimulasi aktivasi gen (Litwack, 1992), yang terjadi saat transkripsi yang menyebabkan disintesisnya protein baru (Albert *et al.*, 1989). Protein baru tersebut dapat berpengaruh pada aktivitas transkripsi gen lain, jika protein tersebut berupa protein pengatur gen. Protein pengatur gen tertentu dapat menstimulasi transkripsi. Pengaruhnya pada transkripsi tergantung pada kombinasi protein yang terikat pada enhancer dan upstream promoter elemen. Ikatan tersebut mengakibatkan enhancer maupun upstream promoter elemen dapat mempunyai pengaruh memacu (positif kuat, positif lemah (Albert *et al.*, 1989). Tentu saja dugaan mekanisme tersebut perlu bukti-bukti pendukung lain, paling tidak data adanya peningkatan mRNA tertentu, dan data tentang kadar protein-protein sebelum diberi 2-ME, setelah diberi 2-ME dan setelah diberi ekstrak akar ginseng jawa.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 KESIMPULAN

1. Kerusakan jaringan testis khususnya proses spermatogenesis akibat induksi 2-Methoxyethanol, secara alami mampu mengalami pemulihan.
2. Ekstrak ginseng jawa mempunyai kemampuan yang signifikan terhadap proses pemulihan terhadap kerusakan jaringan testis khususnya pada proses spermatogenesis.
3. Kemampuan ekstrak ginseng terhadap pemulihan kerusakan jaringan testis khususnya proses spermatogenesis, satu minggu lebih cepat bila dibanding tanpa pemberian ginseng.

6.2 SARAN

1. Perlunya pengamatan terhadap kadar hormon testosteron dalam darah pada mencit akibat pemberian ekstrak ginseng, hal ini untuk memastikan apakah ada kaitannya dengan kemampuan ginseng untuk meningkatkan nafsu seks pada pria.
2. Perlu dilakukan pengamatan terhadap jumlah sel sertoli dan sel leydig akibat 2-ME dan proses penyembuhannya setelah pemberian ginseng.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penyebab terjadinya kerusakan pada sel spermatogenik akibat induksi 2-ME dan mekanisme proses pemulihan oleh ekstrak akar ginseng jawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Robert, J.D. Watson. 1989. *Molecular Biology of The Cell*. New York: Garland Publishing, Inc.
- Berndtson, W.E. and Foote, R.H. 1997. Disruption of spermatogenesis in rabbits consuming ethylene glycol monomethyl ether. *Reproductive Toxicology.*, 11: 29-36.
- Blaschke, AJ, Staley, K, and Chun, J., 1996, Widespread programmed cell death in proliferative and postmitotic regions of the fetal cerebral cortex, *Development*, 122 : 1165-1174.
- Brown NA, Holt D, Webb M., 1984, The teratogenicity of methoxyacetic acid in the rat. *Toxic Lett*; 22: 93-100.
- Butterworth, M., Creasy, D., Timbrell, J.A. 1995. The detection of subchronic testicular damage using urinary creatine: studies with 2-methoxyethanol., *Teratology.* 69: 209-211.
- Conn, Eric, K.E. , P.K. Stump, G. Bruening., R.H. Doi. 1987. *Outlines of Biochemistry*. Canada: John Willey and Sons, Inc.
- Daris, M., dan Khoda, H. 1996. Saponin Baru dari tanaman Krokot Belanda (*Talinum triangulare* Willd.). *Prosiding Seminar Pokjanas TOI*. Surabaya.
- Darmanto W. 1998. Efek 2-Methoxyethanol terhadap pembentukan somite dan kelainan rangka aksial pada mencit. *Proceeding Temu Ilmiah VII*. Hiroshima Japan: 19-22.
- Darmanto W, Sudarwati S, Lien AS., 1994, Effects of methoxyacetic acid on prenatal development of mice. *Environ Med*; 38: 25-8.
- Dugard, PH, Walker M, Mawdsley SJ, Scott RC. 1984, Absorption of some glycol ethers through human skin in vitro, *Environ Health Perspect*; 57: 193-197.
- Ferrer I, Olive,M., Ribera,J., and Planas AM., 1996, Naturally occurring and radiation induced apoptosis are associated with selective c-Jun expression in the developing rat brain, *European Journal Neuroscience*;8 ; 1286-1298.
- Feuston MH, Kerstetter SL, and Wilson PD. 1990. Teratogenicity of 2-methoxyethanol applied as a single dermal dose to rats. *Fundam Appl Toxicol*; 15: 448-456.

- Kluck RM, Bossy W, Green E, Newmeyer DR, 1997, The release of cytochrome c from mitochondria : a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis, *Science*, 275: 1132-1136.
- Kroemer G, Zamzami N, Susin MA, 1997, Mitochondrial control of apoptosis, *Immunology Today*, 18: 44-51.
- Ku, W.W. and Chapin, R.E. 1994. Spermatocyte toxicity of 2-methoxyethanol *in vivo* and *in vitro*: requirement for an intact seminiferous tubule structure for germ cell degeneration. *Toxicol.*, 8: 1191-1202.
- Ku, W.W., Wine, R.N., Chae, B.Y., Ghanayem, B.I. and Chapin, R.E. 1995. Spermatocyte toxicity of 2-methoxyethanol (ME) in rats and guinea pigs: evidence for the induction of apoptosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 134: 100-110.
- Krasavage, W.J. and Katz, G.V. 1985. Developmental toxicity of ethylene glycol monopropyl ether in the rats. *Teratology*, 32: 93-102.
- Li, LH, Wine RM, Chapin RE. 1996. Methoxyacetic acid (MAA)-induced spermatocyte apoptosis in human and rat testes: An *in vivo* comparison. *J. Androl.*, 17: 538 – 49.
- Litwack, G. 1992. Biochemistry of Hormones II: Steroids Hormones dalam *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 3rd. ed. New York: Willey Liss. Inc.
- Miller, R.R., Carreon, R.E., Young J.T. and McKenna, M.J. 1982, Toxicity of methoxyacetic acid in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 2: 158-60.
- Moslen MT, Kaphalia L, Balasubramanian H, Yin YM, Au WW. 1995. Species differences in testicular and hepatic biotransformation of 2-methoxyethanol. *Toxicology*, 96: 217-224
- Norris, D.O. 1980, *Vertebrate Endocrinology*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Ritter EJ, Scott WJ, Randall JL, et al. 1985. Teratogenicity of dimethoxyethyl phthalate and its metabolites methoxyethanol and methoxyacetic acid in the rat. *Teratology* 33: 25-31.
- Robinson ,T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Santa, IGP dan Prajogo, BEW. 1996. Studi Taksonomi *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. dan *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd. *Prosiding Seminar Pokjanas TOI*. Surabaya.

- Scott, W.J., Fradkin, R., Wittfoht, W. and Nau, H. 1989. Teratologic potential of 2-methoxyethanol and transplacental distribution of its metabolite, 2-methoxyacetic acid, in non-human primates. *Teratology*, 39: 363-373.
- Sigh AR, Lawrence WH, Austin J. 1972. Teratogenicity of phthalate esters in rats. *J Pharmacuet Sci.* 61: 51.
- Steenis, C.G.G.J., 1997, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, Penerjemah Moeso Surjowinito, dkk., P.T. Pradnya Paramita, Jakarta
- Tienhoven, V.A., 1983, *Physiology of Vertebrates*, Cornell University Press, London. 596. 16 Ter-H
uua
- Wahyuni, S. dan Hadipoelyanti. 1968. Karakteristik Talinum paniculatum Gaertn. dan Talinum triangulare Willd. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya.
- Wang, W, Wine RN, Chapin RE. 2000. Rat testicular Src: normal distribution and involvement in ethylene glycol monomethyl ether-induced apoptosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 163: 125-34.
- Wine, R.N., Ku, W.W., Li, L.H., and Chapin, R.E. 1997. Cyclophilin a is present in rat germ cells and is associated with spermatocyte apoptosis. *Biol. Reprod.*, 56: 439-446.
- Wiryowidagdo, S., Tobo, F., Suleman. 1996. Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Dietil Eter Akar Tanaman Krokot (*Talinum triangulare* Willd.). *Prosiding Seminar Pokjanas TOI*. Surabaya.

Lampiran 1. Rata-rata diameter, tebal epitel tubulus, jumlah sel spermatogenik pada kelompok kontrol dan kelompok tanpa ekstrak akar ginseng jawa

Perlakuan	Diameter Tubulus	Tebal epitel	Juml.Spermatogonium	Juml.Sperm atosit	Juml.Spermatid Oval
Kontrol	214	100	69.2	35.4	64.6
	204	100	67	35.6	66.4
	208	102	72.8	35.6	66
	212	102	68.4	35.4	66.8
	202	100	69.6	36.4	65.4
Rata-rata	208	100.8	69.4	35.68	65.84
2-ME, 0 mgg	78	20	18.6	0	0
	80	22	18	0	0
	74	20	19.6	0	0
	76	22	18.4	0	0
	84	20	19.2	0	0
Rata-rata	78.4	20.8	18.76	0	0
2-ME, 4 mgg	130	44	24	22.2	34.4
	134	40	23.4	22.4	33
	130	40	26.2	22.8	33.4
	126	44	26.2	22.6	34
	130	40	25.2	23.4	33.6
Rata-rata	130	41.6	25	22.68	33.68
2-ME, 5 mgg	146	44	29.4	23.2	42.6
	148	48	29.2	23.6	37.8
	142	44	31.4	24.4	39.6
	144	42	31	24.8	37
	144	42	29.4	24.8	40.6
Rata-rata	144.8	44	30.08	24.16	39.52
2-ME, 6 mgg	184	60	42.6	24.4	43
	190	58	41.6	26	42
	184	62	41.8	27.4	42.2
	180	60	43	27.2	41.4
	194	58	42.2	28.6	41.8
Rata-rata	186.4	59.6	42.24	26.72	42.08
2-ME, 7 mgg	202	70	48.8	33.2	55.4
	196	74	46.6	33.2	54.6
	196	72	48.8	31.8	54.2
	204	74	48.2	32.6	54
	200	76	45.4	32	54.8
Rata-rata	199.6	73.2	47.56	32.56	54.6

Lampiran 2. Rata-rata diameter, tebal epitel tubulus, jumlah sel spermatogenik pada kelompok yang diberi ekstrak akar ginseng jawa selama 4, 5, 6, dan 7 minggu

Perlakuan	Diameter Tubulus	Tebal epitel	Juml.Spermatogonium	Juml.Spermatosit	Juml.Spermatid Oval
Selama 4 mgg	138	40	26.4	26.8	34.2
	142	42	26.2	22.8	34
	136	38	26.4	23.2	35.8
	134	40	27.6	23.8	34.2
	140	42	27	24	34.6
Rata-rata	138	40.4	26.72	24.12	34.56
Selama 5 mgg	160	52	40.4	26.4	47.6
	158	56	39.8	27.8	47.4
	160	58	40	28.6	45
	158	56	39.4	29.6	44.2
	162	54	39.6	30.4	44.2
Rata-rata	159.6	55.2	39.84	28.56	45.68
Selama 6 mgg	204	70	45.8	36.2	53.8
	202	70	46	34.4	52.4
	204	70	46.6	35.6	54
	192	72	45.6	35.2	53
	208	72	45	35.4	54.4
Rata-rata	202	70.8	45.8	35.36	53.52
Selama 7 mgg	216	92	53.4	33.4	66.4
	212	92	52.8	42.4	67.8
	204	90	52.4	38.8	67.8
	208	84	52.4	39.4	66.2
	216	86	53	40	68.8
Rata-rata	211.2	88.8	52.8	38.8	67.4

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AILANGGA
SURABAYA

Lampiran 3.

Analysis of Variance 1. Pengaruh ekstrak akar ginseng jawa terhadap diameter tubulus seminiferus yang diinduksi 2-ME

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	21754.5600	5438.6400	266.6000	.0000
Within Groups	20	408.0000	20.4000		
Total	24	22162.5600			

Analysis of Variance 2. Pengaruh ekstrak akar ginseng jawa terhadap tebal epitel tubulus seminiferus yang diinduksi 2-ME

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	3965.7600	991.4400	130.4526	.0000
Within Groups	20	152.0000	7.6000		
Total	24	4117.7600			

Analysis of Variance 3. Pengaruh ekstrak akar ginseng jawa terhadap jumlah spermatogonium yang diinduksi 2-ME

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	4145.8016	1036.4504	45.7344	.0000
Within Groups	20	453.2480	22.6624		
Total	24	4599.0496			

Analysis of Variance 4. Pengaruh ekstrak akar ginseng jawa terhadap jumlah spermatosit yang diinduksi 2-ME

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	381.3376	95.3344	18.8826	.0000
Within Groups	20	100.9760	5.0488		
Total	24	482.3136			

Analysis of Variance 5. Pengaruh ekstrak akar ginseng jawa terhadap jumlah spermatid oval yang diinduksi 2-ME

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	1798.7040	449.6760	363.5802	.0000
Within Groups	20	24.7360	1.2368		
Total	24	1823.4400			

- 1 JUL 2014

PAMERAN