

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Infertilitas merupakan masalah yang memiliki angka kejadian yang cukup besar di Indonesia. Penyebab infertilitas pria dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah hormon, infeksi, radiasi, obat dan bahan kimia baik alami maupun sintetik, yang dapat berinteraksi dengan sistem endokrin (Pasqualloto *et al.*, 2004). Salah satu bahan kimia yang bersifat toksik tersebut adalah 2-methoxyethanol (2-ME).

Senyawa 2-Methoxyethanol (2-ME) tergolong senyawa *phthalate ester* (ester ftalat) yang merupakan salah satu bahan dasar plastik (*plasticizer*) dan bahan pelarut dalam industri cat (Freuston *et al.*, 1990). Selain itu, senyawa ini juga digunakan sebagai fiksatif parfum dan pembuatan fotografic film (Sax dan Lewis, 1989). Senyawa 2-ME merupakan hasil oksidasi dari senyawa *dimethoxyethylphthalate* (DMEP) yang merupakan salah satu dari jenis *phthalic acid ester* (PAEs) yang banyak digunakan sebagai *plasticizer* dalam pembuatan plastik. Selain bermanfaat bagi manusia, plastik juga dapat menimbulkan dampak negatif yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Hal ini dapat terjadi karena ikatan PAEs dengan matriks polimer plastik tidak stabil sehingga dapat luruh oleh pelarut organik, dan dapat masuk ke dalam tubuh hewan dan manusia, lalu menyebar ke dalam berbagai organ tubuh (Hayati *et al.*, 2005). Selain bersifat

teratogenik DMEP dan turunannya juga merupakan toksikan pada organ reproduksi terutama pada hewan jantan, dengan testis sebagai sasaran utamanya (Butterworth *et al.*, 1995; Berndtson dan Foote, 1997). Pembuangan 2-ME yang tidak bertanggung jawab dapat menyebabkan polusi terhadap lingkungan dan mengakibatkan banyak orang terpapar oleh 2-ME melalui kontak kulit atau inhalasi (Valentine *et al.*, 1998).

Di dalam tubuh, 2-ME dioksidasi oleh *alkohol dehidrogenase* menjadi 2-Methoxyacetaldehyde (MALD) yang kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi 2-Methoxyacetic acid (MAA) yang bersifat toksik oleh *aldehyde dehidrogenase* (Moslen *et al.*, 1995; Kim dan Smialowicz, 1997). Senyawa 2-ME akan tersebar luas dan masuk ke dalam sirkulasi darah kemudian menuju organ yang sensitif terhadap zat tersebut yaitu testis, limpa dan timus (Miller *et al.*, 1983). Senyawa 2-ME juga dapat menyebabkan penurunan motilitas dan morfologi spermatozoa (Hayati *et al.*, 2005). Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa MAA dapat menghambat produksi asam laktat pada kultur sel sertoli sehingga dapat mengganggu pertumbuhan spermatosit, karena laktat merupakan komponen penting sebagai sumber energi spermatosit yang sedang tumbuh (Gray *et al.*, 1985). MAA bersifat teratogenik dan toksik bagi organ reproduksi, terutama organ reproduksi jantan. Kelainan yang muncul antara lain menurunnya berat testis dan kelenjar aksesori, menurunnya cairan tubulus seminiferus, degenerasi sel spermatogenik terutama spermatosit pakhiten, dan berkurangnya jumlah spermatozoa, serta terganggunya fungsi sel Sertoli (Rumanta *et al.*, 2001). Senyawa 2-ME yang diberikan pada mencit jantan dengan dosis 200 mg/kg berat

badan dapat menyebabkan kerusakan tubulus seminiferus, yaitu adanya penurunan jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit oval dan ukuran diameter serta tebal epitel tubulus seminiferus (Hayati *et al.*, 2004).

MAA merupakan oksidan kuat yang dapat menyebabkan stress oksidasi pada spermatozoa. Stress oksidasi disebabkan oleh pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Pembentukan dari ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang berlebihan dapat melebihi pertahanan antioksidan dan menyebabkan stress oksidatif yang menginduksi kerusakan permanen sel-sel testis. Kandungan asam lemak tak jenuh pada membran sel testis mudah mengalami peroksidasi lipid dan menyebabkan stres oksidatif (Alvarez *et al.*, 1987; Koizumi *et al.*, 1992). Stres oksidatif mengakibatkan hasil produksi spermatozoa yang abnormal (Shen dan Ong, 2000). Stres oksidasi yang menyebabkan oksidan lebih tinggi daripada kadar antioksidannya menyebabkan efek patologis. Selain itu, kadar ROS yang tinggi tidak hanya mempengaruhi integritas DNA dalam inti spermatozoa, tetapi juga kelenturan membran sel sehingga menurunkan kualitas spermatozoa (Hayati, 2010).

Fertilitas pada pria ditentukan oleh bagus tidaknya kualitas spermatozoa yang dimiliki. Spermatozoa disebut berkualitas bila dapat membuahi sel telur. Kualitas spermatozoa ini dilihat dari beberapa parameter yaitu jumlah, morfologi normal, viabilitas, dan kecepatan motilitasnya. Reaksi oksidasi yang ditimbulkan oleh 2-ME dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Oleh karena itu, untuk mengatasi efek dari reaksi oksidasi dari 2-ME diperlukan zat yang bersifat antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Antioksidan merupakan

senyawa *electron donor*, yang mampu menghambat berkembangnya reaksi oksidasi dan mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga menghambat terjadinya kerusakan sel (Winarsi, 2010). Antioksidan merupakan *scavenger* dan menekan efek dari ROS dan peroksidasi lipid (Vernet *et al*, 2004).

Mekanisme kerja antioksidan terhadap radikal bebas yaitu dengan mencegah atau menghambat terbentuknya radikal bebas baru, inaktivasi ataupun menangkap radikal, memotong propagasi (pemutusan rantai), dan perbaikan sel (repair) kerusakan sel akibat radikal bebas (Winarsi, 2010).

Sumber antioksidan antara lain berasal dari tumbuh-tumbuhan. Di Indonesia, kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) dipercaya dapat meningkatkan kesuburan pria. Kandungan zat gizi pada biji kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) sebelum dikecambahkan, berada dalam bentuk tidak aktif (terikat). Setelah perkecambahan, bentuk tersebut diaktifkan sehingga meningkatkan daya cerna bagi manusia. Bahkan nilai gizi kecambah kacang hijau lebih baik daripada nilai gizi biji kacang hijau. Hal ini disebabkan kecambah telah mengalami proses perombakan makromolekul menjadi mikromolekul (Purwono dan Hartono, 2005). Peningkatan zat-zat gizi pada kecambah mulai tampak sekitar 24-48 jam saat perkecambahan (Astawan, 2005). Sedangkan peningkatan vitamin E (a-tokoferol) terjadi setelah proses perkecambahan selama 48 jam (Anggrahini, 2009).

Kadar terbanyak kandungan antioksidan dalam kecambah kacang hijau adalah vitamin E 15,3 mg/100 g dan fitosterol 15 mg/100 g, walaupun fenol dan beberapa mineral seperti selenium, mangan, tembaga, zinc, dan besi juga memiliki jumlah yang cukup bermakna (Astawan, 2005; Shetty *et al.*, 2000; Winarsi, 2007). Sebagai antioksidan, vitamin E berfungsi sebagai donor ion hidrogen yang mampu mengubah radikal peroksil menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak (Wardlaw dan Jeffrey, 2007). Jika ditinjau efek antioksidannya, vitamin E memiliki kandungan antioksidan yang paling besar dalam kecambah. Menurut Zakaria (2000) dalam Winarsi (2007), kandungan vitamin E dalam kecambah kacang hijau adalah 1,53 mg per 10 g. Selama perkecambahan, terjadi peningkatan jumlah protein, sedangkan kadar lemaknya mengalami penurunan. Proses perkecambahan juga meningkatkan kandungan vitamin E (tokoferol) secara nyata (Astawan, 2005). Sedangkan fitosterol secara kimiawi bertindak sebagai suatu antioksidan, *scavenger* radikal bebas, dan secara fisik sebagai penyetabil membran.

Dengan adanya kandungan antioksidan seperti vitamin E dan fitosterol pada kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) tersebut diharapkan dapat menanggulangi efek buruk dari 2-ME yang dapat menurunkan fertilitas individu, oleh karena itu perlu diadakan penelitian tentang pengaruh ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap kualitas spermatozoa yang mencakup jumlah, morfologi, viabilitas dan kecepatan motilitas spermatozoa.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME?
2. Apakah pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME?
3. Apakah pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME?
4. Apakah pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME?
5. Apakah pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap pemulihan kualitas spermatozoa (jumlah, morfologi, viabilitas dan motilitas) mencit setelah terpapar 2-ME?

1.3. Asumsi Penelitian

Penelitian ini berdasarkan asumsi bahwa ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) mengandung antioksidan seperti vitamin E dan

fitosterol yang dapat menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh 2-ME, sehingga diharapkan dengan pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) akan meningkatkan jumlah, morfologi normal, viabilitas dan kecepatan motilitas spermatozoa mencit yang telah terpapar bahan toksik 2-ME.

1.4. Hipotesis Penelitian

1.4.1. Hipotesis kerja

1. Jika pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah diberi larutan 2-ME, maka terdapat perbedaan antara kelompok kontrol (Kn dan Kp) dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).
2. Jika pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah diberi larutan 2-ME, maka terdapat perbedaan antara kelompok kontrol (Kn dan Kp) dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).
3. Jika pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah diberi larutan 2-ME, maka terdapat perbedaan antara kelompok kontrol (Kn dan Kp) dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).
4. Jika pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit

setelah diberi larutan 2-ME, maka terdapat perbedaan antara kelompok kontrol (Kn dan Kp) dengan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).

1.4.2. Hipotesis statistik

1. H₀ : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
H₁ : Ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
2. H₀ : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
H₁ : Ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
3. H₀ : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
H₁ : Ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
4. H₀ : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang

hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.

H1 : Ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.

5. H0 : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap pemulihan kualitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.

H1 : Ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap pemulihan kualitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.

1.5. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1.5.1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
- 1.5.2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
- 1.5.3. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.

- 1.5.4. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME.
- 1.5.5. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap pemulihan kualitas spermatozoa (jumlah, morfologi, viabilitas dan motilitas) mencit setelah terpapar 2-ME.

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat vitamin E yang berada di kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap peningkatan kualitas spermatozoa, sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan fertilitas dan aman untuk dikonsumsi.