

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kecambah Kacang Hijau

2.1.1 Klasifikasi dan morfologi kacang hijau (*Phaseolus radiatus*)

Kacang hijau merupakan salah satu tanaman semusim yang berumur pendek kurang lebih 60 hari. Tanaman ini disebut juga *mungbean*, *green gram* atau *golden gram*. Tanaman kacang hijau merupakan tanaman yang tumbuh hampir di seluruh tempat di Indonesia, baik di dataran rendah hingga daerah dengan ketinggian 500 meter dari permukaan laut (Astawan, 2005). Tanaman ini diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Subdivisi : Angiospermae
Class : Dicotyledoneae
Subclass : Rosidae
Ordo : Rosales
Famili : Papilionaceae
Genus : Phaseolus
Species : *Phaseolus radiatus* Linn (Plantamor, 2008).

Susunan tubuh tanaman (morfologi) kacang hijau terdiri atas akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Tanaman kacang hijau berakar tunggang, batangnya berbentuk bulat dan berbuku-buku. Ukuran batangnya kecil, berbulu, berwarna

hijau kecokelatan atau kemerahan. Setiap buku batang menghasilkan satu tangkai daun, kecuali pada daun pertama berupa sepasang daun yang berhadap-hadapan dan masing-masing daun berupa daun tunggal. Batang kacang hijau tumbuh tegak dengan ketinggian 1 m. Cabangnya menyebar ke semua arah. Daun kacang hijau tumbuh majemuk, terdiri dari tiga helai anak daun disetiap tangkai. Helai daun berbentuk oval dengan bagian ujung lancip dan berwarna hijau muda hingga hijau tua. Letak daun berseling, tangkai daunnya lebih panjang dari daunnya sendiri. Bunga kacang hijau berbentuk seperti kupu-kupu dan berwarna kuning kehijauan atau kuning pucat, termasuk bunga hermaprodit atau berkelamin sempurna. Buah kacang hijau berbentuk polong. Panjang polong sekitar 5-16 cm, setiap polong berisi 10-15 biji. Polong berbentuk bulat silindris atau pipih dengan ujung agak runcing atau tumpul. Polong muda berwarna hijau, setelah tua berubah menjadi kecokelatan atau kehitaman. Bijinya berbentuk bulat dengan bobot (berat) sebesar 0,5-0,8 mg, berwarna hijau sampai hijau mengkilap (Purwono dan Hartono, 2005).

2.1.2 Proses perkecambahan biji kacang hijau

Menurut Sutopo (1993), proses perkecambahan biji merupakan suatu rangkaian kompleks dari perubahan-perubahan morfologi, fisiologi dan biokimia.

Tahap-tahap perkecambahan adalah sebagai berikut :

1. Tahap pertama suatu perkecambahan biji dimulai dengan proses penyerapan air oleh biji, melunaknya kulit biji dan hidrasi dari protoplasma.

2. Tahap kedua dimulai dengan kegiatan-kegiatan sel dan enzim-enzim serta naiknya tingkat respirasi biji, pada permulaan perkecambahan radikula lebih dahulu keluar (akar primer dan akar rambut). Proses ini terjadi pada umur perkecambahan 24 jam.
3. Tahap ketiga merupakan tahap di mana terjadi penguraian bahan-bahan seperti karbohidrat, lemak dan protein menjadi bentuk yang melarut dan ditranslokasikan ke titik tumbuh. Pada tingkatan perkecambahan selanjutnya hipokotil dan radikula terus memanjang (terjadi pada umur perkecambahan 48 jam).
4. Tahap keempat adalah asimilasi dari bahan-bahan yang telah diuraikan tadi di daerah meristematis untuk menghasilkan energi bagi kegiatan pembentukan komponen dan pertumbuhan sel-sel baru. Pada umur perkecambahan 56-72 jam, radikula terus memanjang ke bawah sedangkan hipokotil terus memanjang ke atas sampai menembus permukaan.
5. Hipokotil terus memanjang sehingga kotiledon berada di atas permukaan dan daun pertama keluar, antara bagian daun dan kotiledon terdapat epikotil. Pada tahap ini akar semakin banyak dan bertambah panjang serta terdapat akar lateral (terjadi pada umur perkecambahan 80 jam).
6. Tahap kelima adalah pertumbuhan dari kecambah melalui proses pembelahan, pembesaran dan pembagian sel-sel pada titik-titik tumbuh. Sementara daun belum dapat berfungsi sebagai organ untuk fotosintesis maka pertumbuhan kecambah sangat tergantung pada persediaan makanan yang ada dalam biji.

Biji kacang hijau dapat berkecambah apabila berada dalam lingkungan yang memenuhi syarat untuk perkecambahan, yaitu kandungan air kacang hijau dan kelembaban udara sekeliling harus tinggi. Kadar air biji kacang hijau berkisar 5-15%, pada kadar air ini kelembaban terlalu rendah untuk berlangsungnya metabolisme sehingga tahap perkecambahan adalah kadar air biji kacang hijau harus dinaikkan dengan cara dilakukan perendaman atau ditempatkan pada lingkungan yang jenuh uap air (Anggrahini, 2009).

Kecambah kacang hijau merupakan hasil pertumbuhan dari biji kacang hijau yang disemai. Proses ini disertai dengan mobilisasi cadangan makanan dari jaringan penyimpanan atau keping biji ke bagian vegetatif (sumber pertumbuhan embrio atau lembaga). Germinasi selama 2 hari dapat menghasilkan kecambah dengan panjang mencapai 4 cm, dan dalam 3-5 hari dapat mencapai 5-7 cm (Simanjuntak, 2007). Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh dalam perkecambahan adalah: air, gas, suhu dan cahaya. Temperatur optimum untuk perkecambahan adalah 34 derajat Celsius (Astawan, 2005).



Gambar 2.1. Perkecambahan Kacang Hijau (Shetty *et al.*, 2000).

2.1.3 Kandungan kimia kecambah kacang hijau

Kecambah kacang hijau mengandung vitamin E yang tidak ditemukan pada kacang tanah dan kedelai. 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. Selain itu dengan proses perkecambahan terjadi pembentukan senyawa tokoferol (vitamin E) (Purwono dan Hartono, 2005). Kandungan zat gizi pada biji sebelum dikecambahkan, berada dalam bentuk tidak aktif (terikat). Setelah perkecambahan, bentuk tersebut diaktifkan sehingga meningkatkan daya cerna bagi manusia. Peningkatan zat-zat gizi pada kecambah mulai tampak sekitar 24-48 jam saat perkecambahan (Astawan, 2005). Sedangkan peningkatan vitamin E (α -tokoferol) terjadi setelah proses perkecambahan selama 48 jam (Anggrahini, 2009).

Selain itu, pada saat perkecambahan terjadi hidrolisis karbohidrat, protein dan lemak menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga mudah dicerna. Selama perkecambahan, terjadi peningkatan jumlah protein, sedangkan kadar lemaknya mengalami penurunan. Peningkatan pada vitamin B1 (thiamin), B2 (riboflavin), B3 (niasin), piridoksin, dan biotin, juga terjadi selama proses perkecambahan (Astawan, 2005). Kacang hijau memiliki kandungan gizi sebagai berikut:

a. Tinggi Protein

Kacang hijau mengandung protein tinggi sebanyak 7 g /100 g. Protein yang terkandung memiliki asam amino lengkap.

b. Tinggi Kandungan Serat

Kacang hijau memiliki kandungan serat yang tinggi sekitar 7,6 g/100 g.

c. Rendah Karbohidrat

Karbohidrat yang terkandung dalam kacang hijau adalah 19 g/100 g.

d. Mengandung Asam Lemak Esensial

Asam lemak esensial yang terkandung dalam kacang hijau adalah omega-3 (0,9 mg/100 g) dan omega-6 (119 mg/100 g). Omega-3 merupakan asam lemak yang berguna untuk menurunkan kolesterol dalam darah.

e. Rendah Lemak

Sangat baik bagi orang yang ingin menghindari konsumsi lemak tinggi. Kadar lemak yang rendah dalam kacang hijau menyebabkan bahan makanan atau minuman yang terbuat dari kacang hijau tidak mudah tengik, sebab kacang hijau hampir tidak mengandung lemak.

f. Kaya Vitamin

Kacang hijau mengandung asam folat, vitamin B1 (thiamin), dan vitamin E (tokoferol). Asam folat sebanyak 159 µg/100 g, vitamin B1 (thiamin) sebesar 0,2 mg/100 g, dan vitamin E (tokoferol) sebanyak 15,3 mg/100 g. Vitamin yang terkandung didalamnya membantu meningkatkan energi dan metabolisme.

g. Kaya Mineral

Kacang hijau kaya akan mineral, dalam 100 gramnya mengandung potasium (266 mg), phosphorus (99 mg), manganese (48 mg), kalsium (27 mg), magnesium (0,3 mg), besi (1,4 mg), zinc (0,8 mg), selenium (2,5 µg).

h. Kaya Enzim Aktif

Biji kacang hijau yang sedang dalam masa perkecambahan, kaya akan enzim aktif seperti amilase yang meningkatkan penyerapan dan pembentukan energi.

i. Kaya Antioksidan

Kecambah kacang hijau memiliki kandungan fitosterol (15 mg/100 g) yang berfungsi sebagai antioksidan (Sportindo, 2007).

Tabel 2.1. Perbandingan Komposisi dan Nilai Gizi antara Biji Kacang Hijau dan Setelah Dikecambahkan dalam 100 g.

Komposisi Gizi	Nilai Gizi	
	Biji	Kecambah
Kalori (kal)	345	23
Protein (g)	22,2	2,9
Lemak (g)	1,2	0,2
Kalsium (mg)	125	29
Fosfor (mg)	320	69
Besi (mg)	6,7	0,8
Vitamin A (IU)	57	10
Vitamin B1(mg)	0,64	0,07
Vitamin C (mg)	6	15
Air (g)	10	92,4

(Sumber: Direktorat Gizi Departemen Kesehatan dalam Amilah dan Astuti, 2006)

Kadar terbanyak kandungan dalam kecambah kacang hijau adalah fitosterol dan vitamin E yaitu sebanyak 15 mg/100 g dan 15,3 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, 2010).

Tabel 2.2. Kandungan vitamin E dalam sayur-sayuran

Komoditi	Vitamin E (mg/10 g)
Daun katuk merah	1,22
Daun katuk rebus	1,46
Kacang panjang mentah	1,32
Kacang panjang rebus	0,95
<i>Peanut butter</i>	1,61
Daun singkong mentah	1,02
Daun singkong rebus	1,71
Biji kedelai	1,78
Kecambah kedelai rebus	2,12
Kecambah kacang hijau (taoge) mentah	1,53

(Sumber: Direktorat Gizi Departemen Kesehatan dalam Amilah dan Astuti, 2006)

Vitamin E adalah salah satu fitonutrien yang secara alami memiliki 8 isomer, yaitu dikelompokkan dalam 4 tokoferol (α , β , γ , δ) dan 4 tokotrienol (α , β , γ , δ). Suplemen vitamin E di alam yang terbanyak adalah dalam bentuk α -tokoferol. Senyawa ini telah diketahui sebagai antioksidan yang mampu mempertahankan integritas membran sel. Senyawa ini juga dilaporkan bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas oksigen, peroksidasi lipid, dan oksigen singlet (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). Kandungan vitamin E dinilai sebagai kandungan antioksidan yang paling besar kadarnya dalam kecambah jika ditinjau efek antioksidan yang

dapat ditimbulkan. Menurut Zakaria (2000) dalam Winarsi (2007), kandungan vitamin E dalam kecambah kacang hijau adalah 1,53 mg per 10 g.

Fitosterol merupakan senyawa sterol tanaman (Dorland, 2002). Senyawa ini sebenarnya banyak terkandung dalam minyak nabati yang berhubungan dengan sifat hipokolesterolemia. Yoshida dan Niki (2003) membuktikan bahwa fitosterol dan komponennya (β -sitosterol, stigmasterol, dan campesterol) dapat melawan peroksidasi lipid yang dapat diakibatkan oleh peningkatan *low density lipoprotein* (LDL). Fitosterol secara kimiawi bertindak sebagai suatu antioksidan, *scavenger* radikal bebas, dan secara fisik sebagai penyetabil membran.

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

2.2 Spermatozoa mencit

2.2.1 Spermatogenesis pada mencit

Spermatogenesis adalah proses perkembangan sel germinal (*immature*) melalui pembelahan, diferensiasi dan meiosis untuk menghasilkan spermatid berekor yang haploid dan selanjutnya mengalami maturasi menjadi spermatozoa. Menurut Hayati (2010), proses ini meliputi tiga fase yaitu:

1. Spermasitogenesis, selama fase ini spermatogonium membelah secara mitosis menghasilkan generasi sel baru yang nantinya akan menghasilkan spermatosit primer.

2. Meiosis I, selama fase ini spermatosit primer mengalami dua kali pembelahan secara berurutan, dengan mereduksi sampai setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel, menghasilkan spermatosit sekunder, spermatosit sekunder mengalami meiosis II menghasilkan spermatid
3. Spermiogenesis, spermatid mengalami proses sitodiferensiasi, menghasilkan spermatozoa.

Proses ini terjadi di tubulus seminiferus testis dan pendewasaannya terjadi di epididimis. Proses pendewasaan ini dipengaruhi oleh kadar testosteron dan adanya sisa sitoplasma yang menempel pada spermatozoa. Sisa sitoplasma akan diserap oleh sel Sertoli dalam testis, hasilnya adalah spermatozoa dewasa yang bergerak aktif dan fertil. Selama pematangan di epididimis terjadi banyak perubahan biokimia sehingga spermatozoa menjadi motil (bergerak aktif) dan mampu untuk fertilisasi (Hayati, 2010).

Menurut Timmons *et al.*, (2002), lama waktu total spermatogenesis pada mencit adalah 35 hari, dan terdapat 12 tahap yaitu asosiasi sel yang berbeda. Tahapan tersebut dapat diidentifikasi berdasarkan perkembangan sistem akrosom dan morfologi dari spermatid.

Spermiogenesis pada mencit terdiri dari 16 tingkat yang secara umum diklasifikasikan menjadi empat fase, yaitu fase golgi, fase cap, fase akrosom dan fase maturasi (Johnson dan Everitt, 1990).

2.2.2 Jumlah spermatozoa

Albert dan Roussel (1983) menyebutkan bahwa konsentrasi spermatozoa pada epididimis dari mencit berumur 70 hari atau lebih, sebanyak $\geq 8,11 \pm 2,7$ juta/ml, dengan persentase morfologi spermatozoa normal $\geq 5,74 \pm 8,9$ % dan spermatozoa yang abnormal $6,6 \pm 2,6$ %.

2.2.3 Morfologi spermatozoa

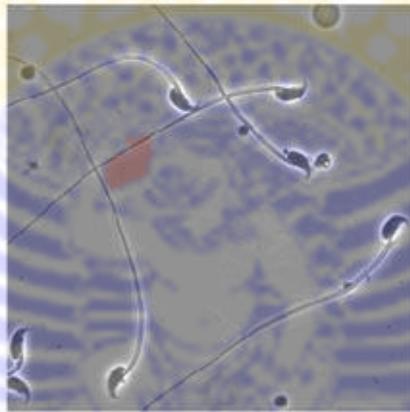
Spermatozoa tersusun oleh bagian-bagian antara lain adalah kepala (*head*), leher (*connecting piece*), dan ekor (*tail*). Pada bagian kepala terdapat inti dan akrosom yang dilindungi oleh membran sel, sedangkan bagian ekor dibedakan bagian utama (*middle piece*) yang di dalamnya terdapat mitokondria sebagai organel sel yang menghasilkan energi untuk motilitas, bagian tengah (*principle piece*), dan bagian pangkal (*end piece*) (Hayati, 2010).

Spermatozoa antar jenis hewan berbeda, perbedaan tersebut terletak pada bentuk kepala dan ukuran (kepala dan panjang ekor). Bentuk kepala spermatozoa mencit adalah bulan sabit yang menggembung di bagian posterior (Hayati, 2010).

Menurut Rugh (1968), spermatozoa mencit terdiri dari bagian kepala, bagian tengah dan ekor. Kepala mempunyai kait dengan panjang kira-kira 0,008 mm, bagian tengah pendek dan ekor sangat panjang (rata-rata 0,1226 mm). Pada kepala terdapat akrosom yang mengandung enzim hyluronidase yang berfungsi pada saat fertilisasi. Di dalam kepala terdapat inti. Pada bagian tengah terdapat mitokondria, aparatus golgi dan dua sentriol. Ekor menyerupai bentukan flagelum

dan digunakan untuk pergerakan terutama pada saat berada dalam alat kelamin betina.

Abnormalitas pada sperma dapat terjadi pada kepala, leher dan ekor. Toelihere (1985) mengklasifikasikan abnormalitas pada sperma dalam abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi karena gangguan spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi selama spermatozoa menyelesaikan maturasi di epididimis.



Gambar 2.2. Morfologi spermatozoa normal mencit yang diambil dari epididimis (Schimentil,2007).

2.2.4 Viabilitas spermatozoa

Viabilitas merupakan kemampuan untuk bertahan hidup sehingga memberikan waktu yang cukup lama bagi spermatozoa untuk dapat mencapai tempat fertilisasi (Krause, 2005). Aktifitas dan viabilitas spermatozoa dapat dipertahankan dalam lingkungan yang sesuai, yaitu dalam cairan semen yang kondisinya buffer basa. Medium yang sangat asam dapat mematikan spermatozoa dengan cepat (Junquiera *et al.*, 1997). Pemeriksaan viabilitas spermatozoa dengan menggunakan pewarnaan Eosin 1% dan Nigrosin 10%. Spermatozoa yang

berwarna merah menunjukkan spermatozoa yang mati dan sebaliknya yang tidak berwarna adalah yang masih hidup. Viabilitas spermatozoa dapat dilihat melalui persentase spermatozoa yang hidup dan yang mati.

2.2.5 Motilitas spermatozoa

Bagian spermatozoa yang berperan dalam motilitas adalah bagian ekor, karena di dalam ekor ini terdapat banyak mitokondria yang merupakan organel penghasil energi untuk pergerakan berupa ATP. Ekor spermatozoa tersusun atas aksonema yang terdiri atas mikrotubulus dan serabut tebal memanjang yang saling berhubungan, bagian ini menghasilkan gerakan gelombang yang bisa mendorong kepala spermatozoa maju ke depan (Hayati, 2010). Menurut Cancel (2000) dalam Hayati (2010), kecepatan motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya adalah faktor umur dan obat atau bahan kimia. Motilitas merupakan salah satu faktor yang mengindikasikan spermatozoa yang sehat karena motilitas mendukung transpor spermatozoa untuk mencapai target fertilisasi.

2.3 2-Methoxyethanol (2-ME)

2.3.1 Toksisitas 2-Methoxyethanol

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). 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).

Hasil metabolit dari 2-ME yaitu MAA dapat menyebabkan spermatozoa pakhiten dalam jumlah besar pada mencit jantan usia 18-21 hari yang belum selesai proses spermatogenesisnya (Barone *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). 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).

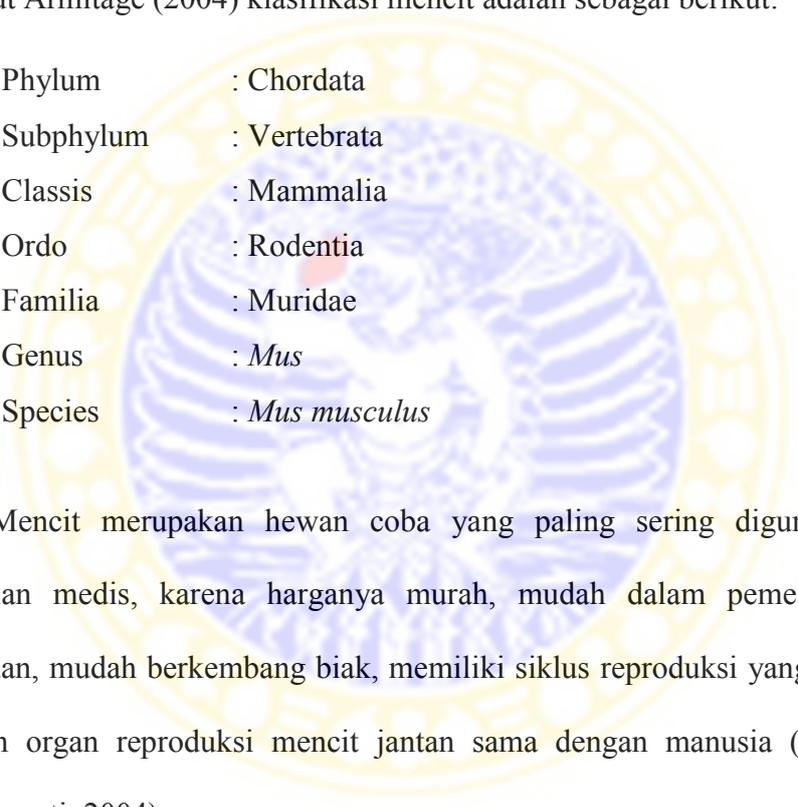
2.3.2 Mekanisme kerja 2-Methoxyethanol

MAA merupakan oksidan kuat yang dapat menyebabkan stress oksidasi pada spermatozoa. Pembentukan dari ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang berlebihan dapat melebihi pertahanan antioksidan dan menyebabkan stres 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 sperma yang abnormal (Shen dan Ong, 2000). Sedangkan peroksidasi lipid dapat mempengaruhi integritas pada membran

sel. Kadar ROS yang tinggi tidak hanya mempengaruhi integritas DNA dalam inti spermatozoa, tetapi juga kelenturan membran sel sehingga menurunkan kualitas spermatozoa (Hayati, 2010).

2.4 Tinjauan tentang mencit.

Menurut Armitage (2004) klasifikasi mencit adalah sebagai berikut:



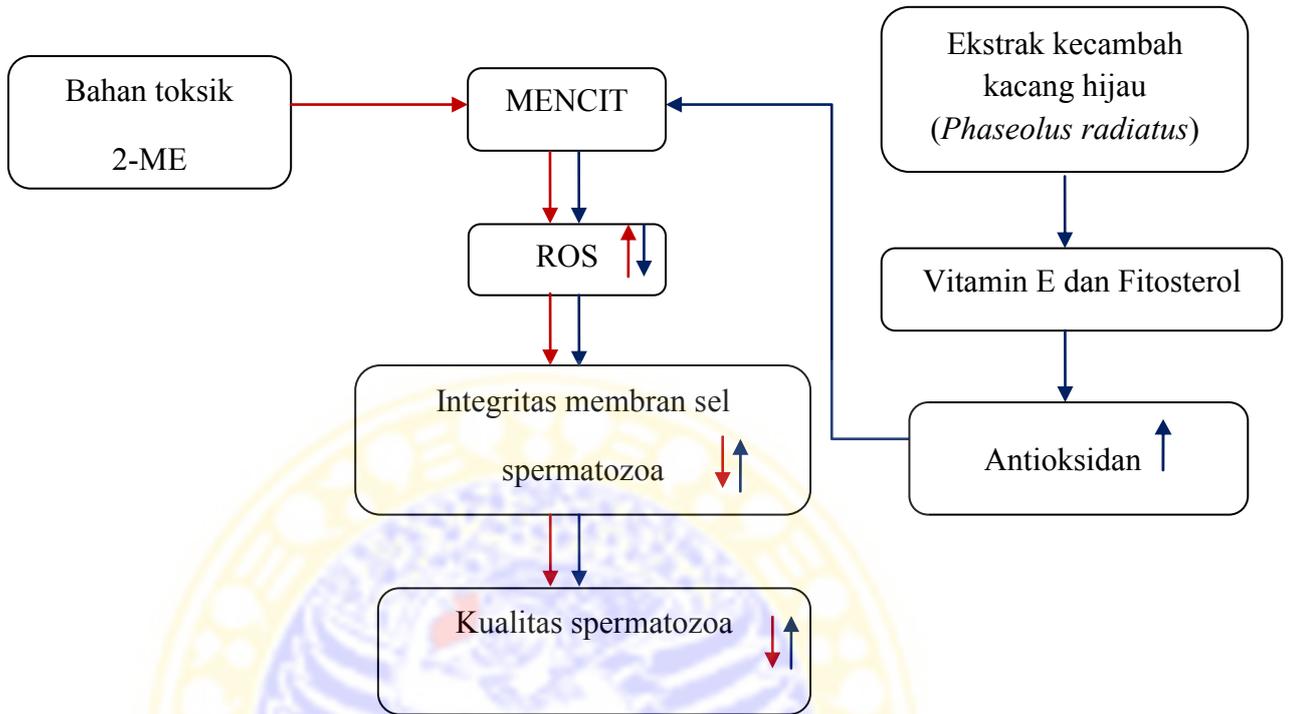
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Classis	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus</i>

Mencit merupakan hewan coba yang paling sering digunakan dalam penelitian medis, karena harganya murah, mudah dalam pemeliharaan dan perlakuan, mudah berkembang biak, memiliki siklus reproduksi yang pendek dan susunan organ reproduksi mencit jantan sama dengan manusia (Rugh, 1990; Kusumawati, 2004).

Berat badan mencit jantan dewasa 20-40 gram dan mencit betina dewasa 18-35 gram. Waktu dewasa seksual mencit kurang lebih 60 hari, dan usia maksimum mencit adalah 1-2 tahun. Masa kebuntingan mencit 19-21 hari dan jumlah anak yang dilahirkan berkisar antara 6-15 ekor. Mencit jantan dan betina dapat dibedakan dengan mudah, yaitu dengan mengamati alat kelaminnya. Betina memiliki jarak yang pendek antara anus dan lubang genital eksternalnya

(Armitage, 2004). Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari daripada siang hari (Rugh, 1990).





Gambar 2.3. Kerangka Konsep Penelitian