

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau terhadap kualitas (jumlah, morfologi, viabilitas, dan motilitas) spermatozoa mencit. Hasil penelitian tersebut diuraikan pada sub-sub bab berikut.

4.1.1 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Jumlah spermatozoa dihitung di bawah mikroskop cahaya dengan menggunakan bilik hitung *Improved Neubauer* (hemositometer) dengan perbesaran 400x. Hasil penghitungan jumlah spermatozoa mencit antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 1, sedangkan rerata jumlah spermatozoa mencit ditampilkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Rerata jumlah spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 2- ME dan ekstrak etanolik kecambah kacang hijau berbagai dosis

Perlakuan	Jumlah spermatozoa (juta sel/ml) pada kelompok perlakuan
Kontrol negatif (Kn)	5,49±0,23 ^a
Kontrol positif (Kp)	3,31±0,25 ^b
Perlakuan 1 (P1)	3,66±0,18 ^c
Perlakuan 2 (P2)	4,34±0,27 ^d
Perlakuan 3 (P3)	5,56±0,19 ^a

Keterangan :

Notasi huruf yang sama pada rerata menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 (berdasarkan uji BNT).

Kontrol negatif (Kn) : diberi aquades 0,1 ml selama 40 hari

- Kontrol positif (Kp) : diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan (BB) satu kali sehari selama 5 hari, kemudian diberi aquades 0,1 ml selama 35 hari
- Perlakuan (P1,P2,P3) : diberi 2-ME dosis 200 mg/kg BB satu kali sehari selama 5 hari, kemudian diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau dosis berturut-turut 0,5 ; 1 ; dan 2 g/kg BB selama 35 hari

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa jumlah spermatozoa mencit setelah pemberian 2-ME pada kelompok kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan yang telah diberi ekstrak etanolik kecambah (P1 dan P2) lebih rendah daripada kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* 5,49±0,23 juta sel/ml menjadi sebesar 3,31±0,25 ; 3,66±0,18 dan 4,34±0,27 juta sel/ml. Sedangkan pada P3 jumlah spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn), yaitu sebesar 5,56±0,19 juta sel/ml.

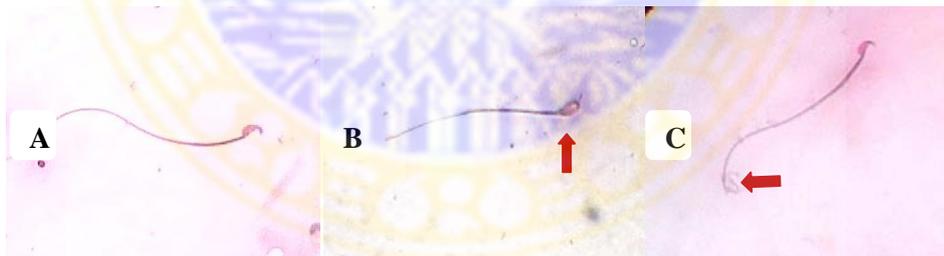
Jumlah spermatozoa yang diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau setelah terpapar 2-ME (P1, P2, dan P3) lebih tinggi daripada kontrol positif (Kp) yang terpapar 2-ME, yaitu dari *mean* 3,31±0,25 juta sel/ml menjadi 3,66±0,18; 4,34±0,27 dan 5,56±0,19 juta sel/ml. Peningkatan jumlah spermatozoa seiring dengan penambahan dosis ekstrak etanolik kecambah kacang hijau yang diberikan.

Hasil analisis data jumlah spermatozoa dengan menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME ($P < 0,05$) (Lampiran 5a). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp) dan perlakuan (P1, P2, dan P3).

Setelah diketahui adanya pengaruh antara kelompok kontrol negatif (Kn), kontrol negatif (Kp) dan perlakuan (P1, P2, dan P3), maka dilanjutkan dengan uji statistika BNT untuk mengetahui perbedaan *mean* antar kelompok perlakuan. Hasil uji BNT terhadap jumlah spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada beberapa kelompok perlakuan, kecuali kelompok Kn (diberi aquades 0,1 ml) dengan P3 (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan dan kecambah kacang hijau 2 g/kg berat badan) tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($P > 0,05$) terhadap jumlah spermatozoa (Lampiran 5a).

4.1.2 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Morfologi spermatozoa mencit diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.



Gambar 4.1. Morfologi spermatozoa mencit. A. Spermatozoa normal; B-C spermatozoa dengan kelainan morfologi pada bagian kepala dan ekor.

Kelainan morfologi spermatozoa dapat terjadi di bagian kepala, leher, ekor, atau kombinasi antara bagian-bagian tersebut. Pada morfologi spermatozoa yang diamati, terdapat kelainan yang terjadi pada bagian kepala dan ekor, yaitu bentuk kepala yang tidak beraturan, ukuran kepala mengecil,

kepala membesar (Gambar 4.1.B), tidak memiliki kepala, ekor patah, melingkar (Gambar 4.1.C), atau bercabang dan terdapat *cytoplasmic droplet*.

Hasil pengamatan morfologi spermatozoa mencit antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 2, sedangkan rerata pengamatan morfologi normal spermatozoa mencit antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Rerata morfologi spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME dan ekstrak etanolik kecambah kacang hijau berbagai dosis

Perlakuan	Rerata morfologi normal spermatozoa (%) pada kelompok perlakuan
Kontrol negatif (Kn)	82,10±1,19 ^a
Kontrol positif (Kp)	73,53±1,13 ^b
Perlakuan 1 (P1)	74,02±0,68 ^b
Perlakuan 2 (P2)	75,40±0,40 ^c
Perlakuan 3 (P3)	83,18±1,26 ^a

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa morfologi normal spermatozoa mencit setelah pemberian 2-ME pada kelompok kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2) lebih rendah daripada kontrol kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* 82,10±1,19 menjadi 73,53±1,13; 74,02±0,68 dan 75,40±0,40. Sedangkan pada P3 morfologi normal spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn), yaitu sebesar 83,18±1,26.

Morfologi normal spermatozoa yang diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau setelah terpapar 2-ME (P1, P2, dan P3) lebih tinggi daripada positif (Kp) yang terpapar 2-ME, yaitu dari *mean* 73,53±1,13 menjadi 74,02±0,68; 75,40±0,40 dan 83,18±1,26. Morfologi normal spermatozoa meningkat seiring

dengan penambahan dosis ekstrak etanolik kecambah kacang hijau yang diberikan.

Hasil analisis data morfologi spermatozoa dengan menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME ($P < 0,05$) (Lampiran 5b). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).

Hasil uji BNT terhadap morfologi spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada beberapa kelompok perlakuan, kecuali kelompok Kp (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan) dengan P1 (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan dan kecambah kacang hijau 0,5 g/kg berat badan), dan kelompok Kn (diberi aquades 0,1 ml) dengan P3 (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan dan ekstrak kecambah kacang hijau 2 g/kg berat badan) tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($P > 0,05$) terhadap morfologi normal spermatozoa (Lampiran 5b).

4.1.3 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Viabilitas spermatozoa diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dengan menghitung persentase spermatozoa yang hidup dan yang mati . Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa mencit antara kelompok kontrol

dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 3, sedangkan rerata viabilitas spermatozoa mencit ditampilkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Rerata viabilitas spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME dan ekstrak etanolik kecambah kacang hijau berbagai dosis

Perlakuan	Rerata viabilitas spermatozoa (%) pada kelompok perlakuan
Kontrol negatif (Kn)	64,25±0,16 ^a
Kontrol positif (Kp)	59,95±0,31 ^b
Perlakuan 1 (P1)	60,73±0,73 ^c
Perlakuan 2 (P2)	63,72±0,58 ^d
Perlakuan 3 (P3)	64,60±0,24 ^a

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa mencit setelah pemberian 2-ME pada kelompok kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2) lebih rendah daripada kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* 64,25±0,16 menjadi 59,95±0,31 ; 60,73±0,73 dan 63,72±0,58. Sedangkan pada P3 viabilitas spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn), yaitu sebesar 64,60±0,24.

Viabilitas spermatozoa yang diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau setelah terpapar 2-ME (P1, P2 dan P3) lebih tinggi daripada kontrol positif (Kp) yaitu dari *mean* 59,95±0,31 menjadi 60,73±0,73 ; 63,72±0,58 dan 64,60±0,24. Viabilitas spermatozoa meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak kecambah kacang hijau yang diberikan.

Hasil analisis data viabilitas spermatozoa dengan menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan adanya bahwa pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME ($P < 0,05$) (Lampiran 5c). Hal ini menunjukkan ada

perbedaan antara kelompok kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).

Hasil uji BNT terhadap viabilitas spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada beberapa kelompok perlakuan, kecuali kelompok Kn (diberi aquades 0,1 ml) dengan P3 (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan dan ekstrak kecambah kacang hijau 2 g/kg berat badan) tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($P > 0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa (Lampiran 5c).

4.1.4 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Motilitas spermatozoa mencit diukur dengan menggunakan mikrometer yang terdapat pada lensa okuler mikroskop cahaya. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa mencit antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 4, sedangkan rerata motilitas spermatozoa mencit ditampilkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Rerata motilitas spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME dan ekstrak etanolik kecambah kacang hijau berbagai dosis

Perlakuan	Rerata motilitas spermatozoa ($\mu\text{m}/\text{detik}$) pada kelompok perlakuan
Kontrol negatif (Kn)	7,41 \pm 0,31 ^a
Kontrol positif (Kp)	6,23 \pm 0,50 ^b
Perlakuan 1 (P1)	6,25 \pm 0,58 ^b
Perlakuan 2 (P2)	7,57 \pm 0,38 ^a
Perlakuan 3 (P3)	8,28 \pm 0,68 ^c

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa mencit setelah pemberian 2-ME pada kelompok kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan (P1) lebih rendah daripada kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* $7,41 \pm 0,31$ $\mu\text{m}/\text{detik}$ menjadi $6,23 \pm 0,50$ dan $6,25 \pm 0,58$ $\mu\text{m}/\text{detik}$. Sedangkan pada P2 dan P3 motilitas spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn), yaitu sebesar $7,57 \pm 0,38$ dan $8,28 \pm 0,68$ $\mu\text{m}/\text{detik}$.

Motilitas spermatozoa yang diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau setelah terpapar 2-ME (P1, P2, dan P3) lebih tinggi daripada kontrol positif (Kp), yaitu dari *mean* $6,23 \pm 0,50$ $\mu\text{m}/\text{detik}$ menjadi $6,25 \pm 0,58$: $7,57 \pm 0,38$ dan $8,28 \pm 0,68$ $\mu\text{m}/\text{detik}$. Motilitas spermatozoa meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak kecambah kacang hijau yang diberikan.

Hasil analisis data motilitas spermatozoa dengan menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME ($P < 0,05$) (Lampiran 5d). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp) dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3).

Hasil uji BNT terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada beberapa kelompok perlakuan, kecuali kelompok Kp (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan) dengan P1 (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan dan kecambah kacang hijau 0,5 g/kg berat badan), dan kelompok Kn (diberi aquades 0,1 ml) dengan P2 (diberi 2-ME dosis 200 mg/kg berat badan dan ekstrak kecambah kacang hijau 1 g/kg berat badan) tidak

menunjukkan perbedaan secara signifikan ($P > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa (Lampiran 5d).

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Jumlah spermatozoa mencit yang diberi 2-ME (Kp) mengalami penurunan dari kelompok kontrol negatif (Kn) yang hanya diberi aquades, yaitu dari *mean* $5,49 \pm 0,23$ juta sel/ml menjadi sebesar $3,31 \pm 0,25$ juta sel/ml. Penurunan jumlah spermatozoa ini disebabkan oleh senyawa MAA yang merupakan hasil metabolit 2-ME. Senyawa MAA menyebabkan degenerasi pada sel spermatogenik, terutama spermatosit pakhiten dan spermatid (Rumanta *et al.*, 2001). Sel spermatogenik yang telah rusak diabsorpsi oleh sel Sertoli sehingga mengakibatkan berkurangnya jumlah spermatozoa. Faktor lain yang dapat menjadi penyebab berkurangnya jumlah spermatozoa adalah terjadinya apoptosis pada spermatosit pakhiten. Sel spermatosit pakhiten adalah sel yang paling aktif mensintesis RNA. MAA menghambat sintesis DNA dan RNA sehingga menyebabkan fragmentasi DNA dengan apoptosis pada spermatosit pakhiten. Degenerasi spermatosit pakhiten menyebabkan berkurangnya jumlah spermatid dan spermatozoa (Gray *et al.*, 1985; Rumanta *et al.*, 2001).

Setelah diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau jumlah spermatozoa kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) mengalami peningkatan dari kelompok kontrol positif (kelompok yang terpapar 2-ME) seiring dengan

pertambahan dosis. Peningkatan pada P1, P2 dan P3 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (berdasarkan uji BNT). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau sebesar 0,5 g/kg berat badan (P1) mampu meningkatkan jumlah spermatozoa mencit. Dibandingkan dengan jumlah spermatozoa kelompok kontrol negatif ($5,49 \pm 0,23$ juta sel/ml), kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan, jumlahnya lebih rendah yaitu sebesar $3,66 \pm 0,18$ dan $4,34 \pm 0,27$ juta sel/ml. Berdasarkan uji BNT, kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan yang signifikan dari kelompok kontrol negatif (Kn). Sedangkan pada P3 jumlah spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn) walaupun perbedaannya tidak signifikan, yaitu sebesar $5,56 \pm 0,19$ juta sel/ml. Hal ini menunjukkan bahwa dosis pemberian ekstrak kecambah kacang hijau sebesar 2 g/kg berat badan (P3) adalah dosis yang dapat memulihkan sel-sel spermatozoa yang telah terpapar 2-ME yang ditunjukkan dengan peningkatan jumlah spermatozoa pada kelompok P3 dari kelompok Kn walaupun perbedaannya tidak signifikan.

Peningkatan jumlah spermatozoa setelah pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau ini disebabkan oleh kandungan antioksidan yang ada dalam ekstrak kecambah kacang hijau dapat menangkal radikal bebas yang ditimbulkan oleh 2-ME. Vitamin E merupakan antioksidan yang kandungannya paling besar dalam kecambah kacang hijau (Winarsi, 2007). Vitamin tersebut larut dalam lemak dan dapat mencegah peroksidasi lipid dan stress oksidatif. Terhentinya stress oksidatif menyebabkan pertumbuhan spermatosit tidak terganggu sehingga proses spermatogenesis dapat berlangsung normal.

Prasetyastuti dan Sunarsih (2008) menyatakan bahwa, vitamin E adalah sebuah pelindung *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) pada membran sel. Radikal bebas umumnya mengkatalisis peroksidasi PUFA di membran sel. Vitamin E bereaksi dengan radikal bebas untuk mencegah kerusakan membran sel. Kemudian Siddiq *et al.* (2002) menjelaskan bahwa, vitamin E dapat membantu produksi hormon yang tepat dan meningkatkan jumlah spermatozoa.

4.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau terhadap morfologi spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Morfologi normal spermatozoa mencit yang diberi 2-ME (Kp) mengalami penurunan dari kelompok kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* $82,10 \pm 1,19$ menjadi $73,53 \pm 1,13$. Mekanisme yang menyebabkan terjadinya penurunan morfologi spermatozoa adalah meningkatnya jumlah *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang disebabkan oleh adanya gangguan epididimis. Menurut Quratul 'aini (2006), menyatakan bahwa terjadinya kelainan pada morfologi spermatozoa adalah dikarenakan adanya gangguan pada sel-sel Sertoli yang menyebabkan adanya kelainan pada proses maturasi dari sel spermatozoa yang terjadi pada epididimis. Senyawa MAA menghambat produksi asam laktat pada sel Sertoli di dalam testis yang mengganggu pertumbuhan spermatosit (Gray *et al.*, 1985). Terganggunya pertumbuhan spermatosit menyebabkan degenerasi spermatogenik. Degenerasi sel spermatogenik menyebabkan berkurangnya diameter dan ketebalan sel epitel germinal pada tubulus seminiferus sehingga terbentuk vakuola. Vakuolisasi di dalam sitoplasma tubulus seminiferus adalah salah satu indikasi

berkurangnya aktivitas sel Sertoli (Rumanta *et al.*, 2001). Sel Sertoli tidak dapat memfagositosis *cytoplasmic droplet* sehingga menyebabkan morfologi tidak normal pada spermatozoa. Stres oksidatif juga mengakibatkan penurunan kualitas sperma melalui pembentukan lipid peroksida (LPO).

Setelah diberi ekstrak etanolik kecambah kacang hijau, kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) mengalami peningkatan dari kelompok kontrol positif seiring dengan pertambahan dosis. Pada P1 perbedaannya tidak signifikan dengan kelompok kontrol positif, sedangkan pada P2 dan P3 perbedaannya signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau sebesar 1 g/kg berat badan (P2) mampu meningkatkan morfologi normal spermatozoa mencit. Dibandingkan dengan morfologi normal spermatozoa kelompok kontrol negatif ($82,10 \pm 1,19$), kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan yang signifikan (berdasarkan uji BNT), jumlahnya lebih rendah yaitu sebesar $74,02 \pm 0,68$ dan $75,40 \pm 0,40$. Sedangkan pada P3 morfologi normal spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif walaupun perbedaannya tidak signifikan, yaitu sebesar $83,18 \pm 1,26$. Hal ini menunjukkan pada dosis pemberian ekstrak kecambah kacang hijau sebesar 2 g/kg berat badan (P3) terjadi pemulihan sel-sel spermatozoa yang telah terpapar 2-ME yang ditunjukkan dengan peningkatan morfologi normal spermatozoa pada kelompok P3 dari kelompok Kn walaupun perbedaannya tidak signifikan.

Radikal bebas atau stres oksidatif yang ditimbulkan 2-ME meningkatkan kerusakan morfologi spermatozoa mencit. Seperti yang dijelaskan oleh

Pasqualotto *et al.*, (2000) bahwa, morfologi, konsentrasi, dan motilitas sperma secara signifikan berkurang akibat pengaruh stres oksidatif atau ROS (*Reactive Oxygen Species*). Stres oksidatif juga mengakibatkan hasil produksi spermatozoa yang abnormal (Shen dan Ong, 2000). Efek dari ROS tersebut dapat ditanggkalkan dengan adanya antioksidan dalam ekstrak kecambah kacang hijau seperti vitamin E dan fitosterol. Vitamin E bekerja sebagai scavenger radikal bebas oksigen, peroksi lipid, dan oksigen singlet (Winarsi, 2007). Vitamin E yang ada dalam kecambah kacang hijau dapat mengendalikan peroksida lemak dengan menyumbangkan hidrogen kedalam reaksi, menyekat aktivitas tambahan yang dilakukan oleh peroksida, sehingga memutus reaksi berantai dan bersifat membatasi kerusakan (Haryatmi, 2004). Sedangkan fitosterol juga bekerja sebagai scavenger radikal bebas dan secara fisik sebagai penyetabil membran (Yoshida dan Nikki, 2003).

4.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Viabilitas spermatozoa mencit yang diberi 2-ME (Kp) mengalami penurunan dari kelompok kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* $64,25 \pm 0,16$ menjadi $59,95 \pm 0,31$. Senyawa 2-ME berpengaruh pada viabilitas spermatozoa, menurunkannya viabilitas spermatozoa karena adanya MAA yang menyebabkan stress oksidatif yang meningkatkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kadar ROS yang tinggi menyebabkan kerusakan sel spermatozoa karena terjadinya oksidasi pada lipid, protein dan DNA. Oksidasi lipid pada membran spermatozoa

menghasilkan senyawa malondialdehyde (MDA), yang bersifat toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan membran spermatozoa (Hayati, 2006). Senyawa ini dipakai sebagai indikator kerusakan lipid pada membran plasma.

Setelah diberi ekstrak kecambah kacang hijau, kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) mengalami peningkatan dari kelompok kontrol positif seiring dengan pertambahan dosis. Peningkatan pada P1, P2 dan P3 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (berdasarkan uji BNT). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau sebesar 0,5 g/kg berat badan (P1) mampu meningkatkan viabilitas spermatozoa mencit. Dibandingkan dengan viabilitas spermatozoa kelompok kontrol negatif ($64,25 \pm 0,16$), P1 dan P2 mengalami penurunan yang signifikan (berdasarkan uji BNT), jumlahnya lebih rendah yaitu sebesar $60,73 \pm 0,73$ dan $63,72 \pm 0,58$. Sedangkan pada P3 viabilitas spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn) walaupun perbedaannya tidak signifikan, yaitu sebesar $64,60 \pm 0,24$. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis pemberian ekstrak kecambah kacang hijau sebesar 2 g/kg berat badan (P3) terjadi pemulihan sel-sel spermatozoa yang telah terpapar 2-ME yang ditunjukkan dengan peningkatan viabilitas spermatozoa pada kelompok P3 dari kelompok Kn walaupun perbedaannya tidak signifikan.

Meningkatnya viabilitas spermatozoa tersebut disebabkan oleh kandungan antioksidan yang terdapat pada ekstrak kecambah kacang hijau. Menurut Sikka (2004), menyatakan bahwa sebagai antioksidan, vitamin E berperan dalam memperlambat berlangsungnya reaksi peroksidasi lipid karena mampu menangkap radikal bebas dan memutus berantai proses peroksidasi lipid di dalam

membran sel. Permeabilitas membran berkaitan erat dengan transportasi nutrisi, yang sangat berperan dalam metabolisme sel. Dengan mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas membran spermatozoa, maka kebutuhan akan nutrisi tidak terhambat dan sel spermatozoa tersebut dapat bertahan lama sehingga mampu meningkatkan viabilitas spermatozoa. Aksi vitamin E adalah dengan menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas yang dibutuhkan untuk menstabilkan sebuah elektron yang tidak berpasangan akibat pembentukan radikal bebas. Hal ini menyebabkan terbentuknya radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak, serta menghentikan reaksi rantai propagasi yang bersifat merusak pada proses peroksidasi lipida (Almatsier, 2001).

4.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak kecambah kacang hijau terhadap kecepatan motilitas spermatozoa mencit setelah terpapar 2-ME

Motilitas spermatozoa mencit yang dipapar 2-ME (Kp) mengalami penurunan dari kelompok kontrol negatif (Kn), yaitu dari *mean* $7,41 \pm 0,31$ $\mu\text{m}/\text{detik}$ menjadi $6,23 \pm 0,50$ $\mu\text{m}/\text{detik}$. Penurunan ini disebabkan oleh meningkatnya permeabilitas membran spermatozoa oleh MAA yang menyebabkan kerusakan pada mitokondria karena penumpukan ion Ca^{2+} (Ca^{2+} overload). Melimpahnya ion Ca^{2+} dapat menghambat fosforilasi oksidatif sehingga cadangan energi (ATP) menjadi berkurang karena dipakai untuk memompa Ca^{2+} overload keluar. Cadangan energi yang berkurang menyebabkan menurunnya kecepatan motilitas pada spermatozoa (Rumanta et al., 2001). Faktor

lain yang dapat menjadi penyebab menurunnya kecepatan motilitas spermatozoa adalah morfologi abnormal pada spermatozoa sehingga spermatozoa tidak dapat bergerak lurus dan cepat. Anggraini (2006), menyatakan hilangnya ATP dapat mengakibatkan kerusakan aksonema (tubulus sentral tidak ada, mikrotubulus luar berkurang atau tidak ada sama sekali), menurunkan viabilitas, dan meningkatkan morfologi abnormal spermatozoa sehingga menurunkan kapasitas, reaksi akrosom, dan menghambat motilitas. Hal ini menyebabkan kerusakan membran sel dan mengganggu proses metabolisme sel spermatozoa akibat rusaknya membran sel spermatozoa, yang meningkatkan proses peroksidasi lipida sehingga motilitas spermatozoa menurun (Astuti *et al.*, 2009). Penurunan konsentrasi motilitas spermatozoa juga dapat disebabkan oleh senyawa radikal yang diduga dapat mengganggu enzim ATP-ase pada membran sel spermatozoa. Menurut Sikka (2004), menyatakan ATP-ase berfungsi sebagai pompa ion yang dapat mempertahankan konsentrasi nutrisi dan ion yang sangat tergantung pada membran.

Setelah diberi ekstrak kecambah kacang hijau, kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) mengalami peningkatan dari kelompok kontrol positif seiring dengan penambahan dosis. Pada P1 perbedaannya tidak signifikan dengan kelompok kontrol positif, sedangkan pada P2 dan P3 perbedaannya signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis pemberian ekstrak etanolik kecambah kacang hijau sebesar 1 g/kg berat badan (P2) mampu meningkatkan motilitas spermatozoa mencit. Dibandingkan dengan motilitas spermatozoa kelompok kontrol negatif ($7,41 \pm 0,31 \mu\text{m/detik}$), P1 mengalami

penurunan yang signifikan (berdasarkan uji BNT) menjadi $6,25 \pm 0,58$ $\mu\text{m}/\text{detik}$. Sedangkan pada P2 dan P3 motilitas spermatozoa lebih tinggi daripada kontrol negatif (Kn) yaitu sebesar $7,57 \pm 0,38$ dan $8,28 \pm 0,68$ $\mu\text{m}/\text{detik}$. Pada P2 perbedaannya tidak signifikan sedangkan pada P3 perbedaannya signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis pemberian ekstrak kecambah kacang hijau sebesar 1 g/kg berat badan (P2) dan 2 g/kg berat badan (P3) terjadi pemulihan motilitas spermatozoa yang telah terpapar 2-ME, yang ditunjukkan dengan peningkatan motilitas spermatozoa pada kelompok P2 dan P3 dari kelompok Kn.

Motilitas spermatozoa sangat tergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme. Spermatozoa membutuhkan energi untuk memperoleh kemampuan gerak, yang diperoleh dari proses respirasi dalam mitokondria (Astuti *et al.*, 2009). Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kondisi mitokondria. Kondisi mitokondria yang optimum juga menciptakan sperma dengan kondisi gerak yang baik, sehingga membantu spermatozoa melakukan gerakan yang lurus dan agresif (Ruiz-Pesini *et al.*, 1998). Meningkatnya motilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh kandungan antioksidan yang terdapat dalam ekstrak kecambah kacang hijau. Dengan terhambatnya pembentukan radikal bebas, menyebabkan pompa ion oleh enzim ATPase tidak terganggu sehingga dapat menghasilkan energi (ATP) yang digunakan untuk motilitas spermatozoa.