

SUPLEMEN KECAMBAH KACANG HIJAU TERHADAP MORFOLOGI SPERMA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI PARAQUAT

Auliya A'yuni. Q^{a,*}, Taufiqurrachman ^b, Chodidjah ^b

^a Progam Studi Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Kudus, Indonesia

^b Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

^b Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

*email: qurrotuayuni@umkudus.ac.id

Abstrak

Latar Belakang: Paparan paraquat menjadi suatu penyebab *Oxidative stress* yang akan berdampak pada morfologi sperma. Kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak kecambah kacang hijau mampu mencegah terjadinya *Oxidative stress* akibat paparan paraquat. Tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau terhadap morfologi sperma pada tikus galur wistar jantan yang diinduksi paraquat. Metode: *True eksperimental*, rancangan penelitian *post test only control group design* menggunakan sampel 25 ekor tikus wistar jantan dibagi 5 kelompok secara random. Penelitian selama 15 hari yaitu P0 pemberian pakan standar, P1 pemberian paraquat 4 mg/g, P2 pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau dosis 21,6 mg/g dan paraquat 4 mg/g 6 hari, P3 pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau dosis 43,2 mg/g dan paraquat 4 mg/g 6 hari, P4 pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau dosis 86,4 mg/g dan paraquat 4 mg/g 6 hari. Data dianalisis menggunakan *Shapiro Wilk* dan *Levene Test*, ($P>0.05$) menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD*. Hasil: Uji *post hoc* LSD menunjukkan P4 lebih tinggi secara signifikan $P<0,05$ dalam meningkatkan morfologi sperma, kemudian disusul oleh kelompok P3, dan kelompok P2. Kesimpulan: Suplemen ekstrak kecambah kacang hijau meningkatkan morfologi sperma tikus wistar jantan yang diinduksi herbisida paraquat.

Kata Kunci: Kecambah kacang hijau, Morfologi sperma

Abstract

Background: Paraquat exposure is a cause of oxidative stress which will have an impact on sperm morphology. The ability of green bean sprouts extract activity is able to prevent oxidative stress due to exposure to paraquat. Objective to know the Supplement addition effect of mung bean sprout extract on sperm morphology in male Wistar strain mice induced by paraquat herbicides. Method: True experimental, post-test only control group research design using a sample of 25 male Wistar mice which were divided into 5 groups randomly. Research for 15 days, P0 was given standard feed, P1 present paraquat 4 mg/ g, P2 present a supplement mung bean sprouts extract dose of 21.6 mg / g and paraquat 4 mg / g 6 days, P3 present supplement mung bean sprouts extract dose of 43.2 mg / g and paraquat 4 mg / g 6 days, P4 present a supplement mung bean sprouts extract dose of 86.4 mg / g and paraquat 4 mg / g 6 days. Data were analyzed using Shapiro Wilk and Levene Test, ($P> 0.05$) using One Way Anova and Post Hoc LSD Result: The post hoc LSD test showed a significantly higher P4 with $P <0.05$ in increasing sperm morphology then followed by groups P3, and P2. Conclusion: Mung bean sprout extract supplement increased the sperm morphology of male Wistar rats induced by the paraquat herbicide.

Keywords: *Mung bean sprout, Sperm morphology*

I. PENDAHULUAN

Ketidak suburran (*infertility*) seseorang merupakan ketidak mampuan untuk mencapai kehamilan setelah melakukan hubungan seks antara pria dengan wanita selama 12 bulan tanpa menggunakan alat kontrasepsi (Ismael, Al-Anbari and Mossa, 2017). Berdasarkan data BKKBN tahun 2011, bahwa kasus infertilitas di Indonesia pria mencapai 30-35% (Prayoga, 2015). WHO 2014 juga melaporkan terjadinya kasus ketidak suburran pria didunia sekitar 50% kasus (Yusoff, Budin and Taib, 2017). Penyebab infertilitas pria yaitu adanya peningkatan kadar *Reactive oxygen species* (ROS) didalam tubuh yang menimbulkan *Oxidative stress* (Durairajanayagam *et al.*, 2018).

Paraquat diketahui memicu peningkatan kadar ROS dengan cara mengoksidasi NADPH sehingga merusak metabolisme seluler dan pertahanan stres oksidatif didalam tubuh (Gawarammana and Buckley, 2011). Herbisida juga dapat merusak kualitas sperma karena bersifat genotoksik pada sel benih. Genotoksik tersebut dikaitkan dengan *Oxidative stress* yaitu terjadinya transfer satu elektron dari oksigen tereduksi untuk membentuk ion superokside (Aparecida, Campos Ventura- Camargo and Miyuki, 2013). Berdasarkan data penelitian adanya suatu hubungan yang signifikan pada kadar hormon reproduksi (FSH, LH, DHEA, dan testosteron) dengan konsentrasi sperma, motilitas sperma, dan morfologis sperma (Ismael, Al-Anbari and Mossa, 2017).

Kecambah kacang hijau terdapat kandungan antioksidan vitamin C dan vitamin E yang mempunyai mekanisme sebagai *Free radical scavenger* sehingga menghambat peroksidasi lipid akibat dari radikal bebas. Antioksidan tersebut mendonorkan satu atom ion hidrogennya ke radikal peroksil yang akan mencegah kerusakan rantai asam lemak (Hidayat, Susanti and Marianti, 2017). Penelitian kecambah sejauh ini sudah ada yang meneliti bahwa pemberian variasi dosis ekstrak tauge kacang hijau terhadap tikus jantan memberikan pengaruh terhadap pertambahan berat testis, jumlah spermatogenia, dan skor spermatogenesis

(Anishinta, 2014). Paraquat akan dinetralkan dengan antioksidan pada ekstrak kecambah kacang hijau dengan menghambat pembentukan radikal bebas, sehingga mencegah infertilitas pada pria.

II. LANDASAN TEORI

A. Landasan Teori Variabel I

Spermatogenesis manusia terjadi dimulai saat masa pubertas di lumen tubulus seminiferus. Spermatogenesis merupakan proses sel berdiferensiasi dimulai dari germ sel (Damayanthi Durairajanayagam, Anil K. Rengan, 2015). Spermatogenesis diatur oleh Hipotalamus-Hipofisis-Gonad (HPG). *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) oleh hipotalamus untuk melepaskan FSH dan LH (Damayanthi Durairajanayagam, Anil K. Rengan, 2015). FSH bertindak didalam tubulus seminiferus sedangkan LH yang merangsang sintesis testosteron, sehingga pensinyal pada hormon FSH dan testosteron menjadi target utama dalam spermatogenesis (Ismael, Al-Anbari and Mossa, 2017).

B. Landasan Teori Variabel II

Kandungan antioksidan vitamin C dan vitamin E meningkat saat proses perkecambahan (Zhai *et al.*, 2016). Antioksidan vitamin E mengalami peningkatan saat perkecambahan sekitar 1,53 mg/ 10 g (H Winarsih, 2007). Antioksidan tersebut berperan sangat dalam menghambat peroksidasi lipid akibat dari induksi radikal bebas. Vitamin E melindungi asam lemak tak jenuh dari oksidasi dan dapat menjaga keseimbangan intraseluler (Hidayat, Susanti and Marianti, 2017). Peran antioksidan vitamin C yaitu sebagai pertahanan keaktifan senyawa bioaktif pada vitamin E (Zhai *et al.*, 2016).

III. METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan *True eksperimental design*, rancangan penelitian *The Post test Only Control Group Design*. Populasi penelitian tikus galur wistar jantan. Sampling penelitian randomisasi. Sampel penelitian tikus jantan galur wistar yang sudah memenuhi kriteria inklusi yaitu sehat, BB 250 gram, jantan. Besar sampel penelitian 5 ekor

tikus perkelompok. Penelitian dilakukan bulan Agustus-September 2019 di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

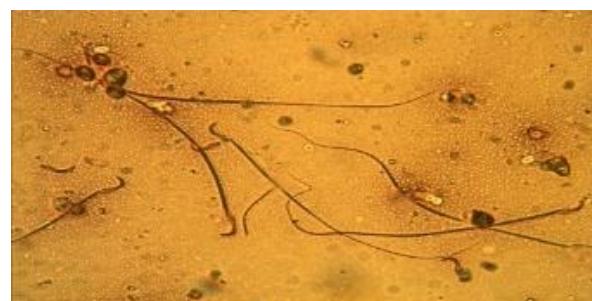
Alat yang digunakan dalam penelitian ini *Gavage*, spuit ukuran 1 cc, bak bedah, dissecting set, batang pengaduk, *waterbath*, cawan petri, pipet tetes, *Objek glass*, mikro plate, mikro pipet, *yellow tipe*, *blue tipe*, Mikroskop cahaya Olympus tipe CX41.

Analisis data penelitian yaitu menggunakan uji normalitas *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas *Levene Test* pada morfologi spermatozoa P ($>0,05$) artinya data berdistribusi normal dan homogen sehingga data diuji menggunakan uji parametrik. Uji parametrik menggunakan uji *One way anova* dengan uji lanjutan yaitu uji *Post hoc* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1) Gambar Morfologi Sperma Abnormal



Gambar 1. Lost Head, Lost Tail, dan ekor bengkok

2) Diagram

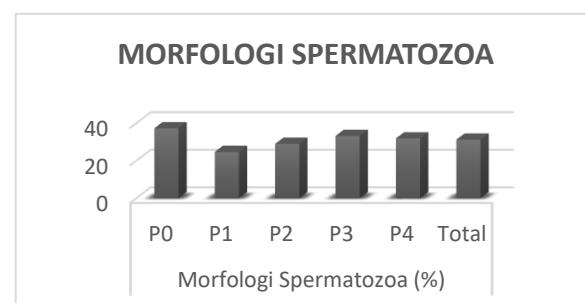


Diagram 1. Kualitas Spermatozoa

3) Tabel

Variabel	P0 (n=5) (Mean±SD)	P1 (n=5) (Mean±SD)	P2 (n=5) (Mean±SD)	P3 (n=5) (Mean±SD)	P4 (n=5) (Mean±SD)
Morfologi Spermatozoa (%)	74,60±3,05	49,40±2,40	58,00±3,53	63,80±3,34	66,40±2,70
<i>Shapiro wilk</i>	0,823	0,787	0,801	0,976	0,692
<i>Levene test</i>	0,437				
<i>Anova</i>	0,000				

Tabel 1. Prosentase Kualitas Sperma

Morfologi Spermatozoa

suplemen ekstrak kecambah kacang hijau dosis 86,4 mg/ gram BB (P4) memiliki hasil yang paling baik dalam meningkatkan morfologi spermatozoa, kemudian disusul dosis 43,2 mg/ gram BB (P3), dan disusul dosis 21,6 mg/ gram BB (P2).

B. pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau berpengaruh terhadap peningkatan morfologi sperma pada tikus wistar jantan yang diinduksi herbisida paraquat. Pengaruh

induksi herbisida paraquat secara peroral dosis 4 mg/ gram pada kelompok P1 memperoleh kualitas sperma yang rendah jika dibandingkan dengan kelompok P2, P3, dan P4. Paraquat menginduksi adanya radikal bebas dalam tubuh dengan merusak pensinyalan sumbu hipotalamus-hipofisis-testis. Penelitian Anggraini (2018) dengan pemberian paraquat secara peroral dosis 20 mg/ Kg BB terjadi penurunan kualitas spermatozoa pada mencit jantan (Anggraini and Biologi, 2018). Perbedaan penelitian sebelumnya paraquat menurunkan kualitas spermatozoa akan tetapi pada penelitian ini

paraquat mampu menurunkan morfologi pada tikus wistar jantan hal ini menunjukan penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya.

Paparan paraquat meningkatkan kadar *Reactive oxygen species* (ROS) didalam tubuh, hal ini penyebab terjadinya *Oxidative Stress*. *Oxidative Stress* pada metabolismenya menghasilkan radikal mono-cation (PQ^+) dengan hasil akhir superoksida (O_2^-). O_2^- dan NADPH akan menimbulkan pembentukan *Hydroxyl Free Radical* (HO). *Oxidative Stress* juga memicu aktivasi *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) yang ditranslokasi ke dalam nukleus yang menginduksi transkripsi sitokin proinflamatori (IL-1 β , IL-6, TNF- α) dan kemokin yang berlanjut pada kondensasi nuklear dan DNA fragmentasi yang menimbulkan apoptosis akibatnya mengganggu haemostasis dan terjadi kegagalan pada organ (Gawarammana and Buckley, 2011).

Apoptosis pada sel sperma mempengaruhi jumlah spermatozoa terlihat adanya peningkatan fas-positif (Mahdi, Rajender and Shukla, 2012). Peningkatan tersebut karena sel sertoli tidak mampu mensekresi fas-ligan sehingga terjadi apoptosis abortif dan membawa kelainan DNA, mengenai hal tersebut terjadi abnormalitas morfologi pada sel sperma. Kecacatan saat penerjemahan mRNA pra-P2 (protami-2) juga yang mendasari abnormalitas morfologi sel sperma (Singh and Agarwal, 2011), (Piomboni *et al.*, 2012).

Tikus normal mendapat pakan standar pada kelompok P0 mempunyai kualitas sperma yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok P1, P2, P3, dan P4. Aktivitas antioksidan pada ekstrak kecambah mempengaruhi, yaitu kelompok P0 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding P1, P2, P3, dan P4 sehingga menangkal reaksi berantai akibat ROS. Aktivitas antioksidan memberikan pengaruh terhadap poros Hipotalamus-Hipofisis-Testis terhadap pelepasan FSH dan LH sehingga berdampak juga pada spermatogenesis (Oduwole, Peltoketo and Huhtaniemi, 2018), (Prasad, Bb and Bb, 2018).

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengaruh pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau dengan dosis 21,6 mg/ gram BB/ hari, 43,2 mg/ gram BB/ hari, dan 86,4 mg/ gram BB/ hari, dapat meningkatkan morfologi sperma pada tikus wistar jantan yang diinduksi herbisida paraquat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D. Jurnal Biologi. Pengaruh pemberian ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale roxb var rubrum*) terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi paraquat diklorida. (2018). doi: 10.23960/j-bekh.v5i2.2169.
- Anishinta, M. A. (2014) ‘Pengaruh pemberian ekstrak tauge kacang (*Vigna radiata L.*) terhadap berat testis, jumlah spermatozoa, Dan skor spermatogenesis tikus jantan (*Rattus norvegicus, L.*)’.
- Damayanthi Durairajanayagam, Anil K. Rengan, R. K. S. and A. A. A. Sperm Biology from Production to Ejaculation. *Unexplained Infertil.* (2015). doi.org/10.1007/978-1-4939-2140-9_5.
- D. Durairajanayagam, S. Darbandi, M. Mc Lachlan, Darren Katz, R. C. Male Infertility 2 At a Glance. 1–47 (2004). doi: 10.1186/s12958-018-0406-2.
- Gawarammana, I. B. and Buckley, N. A. (2011) ‘Medical management of paraquat ingestion’, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 72(5), pp. 745–757. doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04026.x.
- Hidayat, E., Susanti, R. & Marianti, A. Protein Profile and Mda Spermatozoa Levels of Hyperglycemic Mice Fed By Bean Sprouts Extract. *Indones. J. Pharm.* 26, 192 (2017). doi: <http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjpharm26iss4pp192>.
- H. Winarsih. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius; (2007).
- Ismael, Z. K., Al-Anbari, L. A. & Mossa, H. A. L. Relationship of FSH, LH, DHEA and testosterone levels in serum with

- sperm function parameters in infertile men. *J. Pharm. Sci. Res.* 9, 2056–2061 (2017).doi:<http://www.meritresearchjournals.org/mms/index.htm>.
- Mahdi, A. A., Rajender, S. and Shukla, K. K. (2012) ‘Apoptosis , spermatogenesis and male infertility’, (January). doi: 10.2741/E415.
- Oduwole, O. O., Peltoketo, H. and Huhtaniemi, I. T. (2018) ‘Role of Follicle-Stimulating Hormone in Spermatogenesis’, *Frontiers in Endocrinology*, 9(December), pp. 1–11. doi: 10.3389/fendo.2018.00763.
- Piomboni, P., Focarelli, R., Stendardi, A., Ferramosca, A. & Zara, V. The role of mitochondria in energy production for human sperm motility. 109–124 (2012). doi:10.1111/j.13652605.2011.01218.x.
- Prasad, S. V., Bb, G. and Bb, N. (2018) ‘Role of Oxidative Stress and Vitamin C, E on Male Fertility: Mini Role of Oxidative Stress and Vitamin C, E on Male Fertility: Mini Riview’, (December 2017).
- Prayoga, P. R. (2015) ‘The Effect of Tomato (*Lycopersicum esculentum* mill) to Amount, Motility, and Morphology of Spermatozoa in Cigarettes-induced Infertility Patients’, 4, pp. 60–66.
- Singh, A. & Agarwal, A. The Role of Sperm Chromatin Integrity and DNA Damage on Male Infertility. 65–71 (2011). doi: [10.2174/1874255601103010065](https://doi.org/10.2174/1874255601103010065).
- Yusoff, N. A., Budin, S. B. & Taib, I. S. Pesticide Exposures Induce Male-Mediated Reproductive Toxicity: A Review. *J. Agric. Sci.* 9, 122 (2017). doi:10.5539/jas.v9n13p122.
- Zhai, L. et al. (2016) ‘Bioactive compounds and antioxidant activity of mung bean (*Vigna radiata* L.), soybean (*Glycine max* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination process’, *Czech Journal of Food Sciences*, 34(No. 1), pp. 68–78. doi: 10.17221/434/2015-cjfs.