

PENGARUH PEMBERIAN JUS KECAMBAH KACANG HIJAU (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA DAN SPERMATOGENESIS MENCIT JANTAN GALUR SWISS

Yance Anas¹⁾, Nur Chakim²⁾, Suharjono³⁾

¹⁾Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

²⁾Program S-1 Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

³⁾Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

INTISARI

Khasiat kecambah kacang hijau sebagai peningkat kesuburan alami pada pria masih belum banyak diteliti dan dipublikasikan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian jus kecambah kacang hijau terhadap kualitas spermatozoa dan spermatogenesis mencit jantan Galur Swiss. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan randomized matched two-group *post test only design*. Sebanyak 30 ekor mencit jantan dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol (CMC 25 mL/kgBB/hari); kelompok d- α -tocopherol 556 IU/kgBB/hari; dan tiga kelompok jus kecambah kacang hijau (33, 66 dan 132) mg/kgBB/hari. Sediaan uji diberikan tiap hari secara per oral selama 20 hari. Pada hari ke-21, semua mencit dibunuh, testis dan epididimis dipisahkan untuk pengukuran kualitas (jumlah, motilitas dan morfologi) spermatozoa dan spermatogenesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian jus kecambah kacang hijau 33, 66 dan 132 mg/KgBB/ hari selama 20 hari tidak terbukti mampu meningkatkan kesuburan mencit jantan galur Swiss. Skor spermatogenesis, jumlah spermatozoa dan morfologi spermatozoa normal mencit jantan galur Swiss yang mendapatkan perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Sebaliknya, pemberian jus kecambah kacang hijau justru dapat menurunkan motilitas progresif spermatozoa mencit jantan galur Swiss ($p < 0,05$).

Kata kunci: Jus kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R.Wilczek), kualitas spermatozoa; spermatogenesis.

ABSTRACT

Efficacy of mung bean sprouts as natural fertility enhancer for men was not widely investigated and published. The objective of this study is to investigate the effect of mung bean sprout's juice on male Swiss mice spermatozoa quality and spermatogenesis. An experimental study performed with randomized matched two-group *post test only design* approach. Thirtymale mice were divided into five groups randomly, which consist of a control group (CMC 25 mL/kg BW/day); d- α -tocopherol group (556 IU/kg BW/day) and three mung beans sproutjuice groups (33, 66 and 132) mg/kg BW/day. Mice treated every day for 20 days orally. Mice were sacrificed; testis and epididymis were collected and examined. The spermatozoa quality (count, progressive motility and normal morphology) and spermatogenesis observed. The results showed that mung bean sprouts juice treatment (33, 66 and 132) mg/Kg BW/day for 20 days did not enhance male Swiss strain mice fertility. Spermatogenesis score, count and normal morphology spermatozoa that receive treatment with mung bean sprout juice was not significantly different to the control group ($p > 0.05$). Conversely; mung bean sprouts juice treatment lead to decrease male Swiss strain mice spermatozoa progressive motility ($p < 0,05$).

Keywords: Mung bean sprouts (*Vigna radiata* (L.) R.Wilczek) juice, spermatozoa quality, spermatogenesis.

PENDAHULUAN

Infertilitas (ketidaksuburan) merupakan salah satu masalah serius yang dihadapi oleh sebagian masyarakat. Pada umumnya, kegagalan pasangan suami istri untuk memperoleh keturunan disebabkan karena infertilitas pada pria (Miyamoto, *et.al.*, 2012). Di Indonesia, diperkirakan sekitar 20% pria

mengalami gangguan infertilitas. Menurut Stuart dan Howard (1995), penyebab pasti infertilitas pada pria masih belum banyak diketahui. Oleh karena itu, rencana pengobatan yang rasional untuk memperbaiki patologi infertilitas pada pria masih sulit untuk dikembangkan. Organisasi Kesehatan Dunia WHO pada tahun 2010 mengatakan bahwa

pada beberapa banyak kasus yang terjadi, penyebab infertilitas pada pria diakibatkan oleh keadaan azoospermia non-obstruktif. Keadaan ini merupakan sedikitnya volume sperma yang diproduksi dan terjadinya penurunan sekresi *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) (Kobayashi, *et.al.*, 2012).

Di Indonesia, terdapat beberapa tumbuhan dan sayuran yang diyakini oleh masyarakat sebagai peningkat kesuburan alami. Salah satu sayuran yang telah digunakan oleh masyarakat untuk meningkatkan kesuburan pria adalah kecambah kacang hijau (*tauge*). Masyarakat mengkonsumsi kecambah kacang hijau ini dalam bentuk sayuran (mentah/dimasak) atau dibuat dalam bentuk jus.

Telah lama diketahui, kecambah kacang hijau kaya akan kandungan vitamin E, C dan selenium yang merupakan senyawa antioksidan alami. Kombinasi vitamin E, C dan selenium tersebut dapat melindungi berbagai sel di dalam tubuh sel dari oksidasi radikal bebas, termasuk sel sperma.

Berdasarkan sifat vitamin E yang merupakan vitamin larut lemak dan konsumsi kecambah kacang hijau dalam bentuk sayuran ataupun jus segar, sangat sulit untuk dipercayai bahwa mengkonsumsi kecambah kacang hijau dalam bentuk segar akan dapat berkhasiat meningkatkan kesuburan pria. Sejauh ini, khasiat kecambah kacang hijau dalam meningkatkan kesuburan masih belum banyak diteliti dan dipublikasikan. Penelitian ini mencoba untuk membuktikan khasiat kecambah kacang hijau sebagai sayuran peningkat kesuburan pria melalui uji pra-klinik dengan menggunakan hewan percobaan yang diberikan jus kecambah kacang hijau. Penelitian bertujuan untuk melihat pengaruh jus kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* (L.)R. Wilczek) terhadap dua parameter kesuburan, yaitu kualitas spermatozoa (jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa) dan spermatogenesis pada mencit jantan galur Swiss.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* yang menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Bahan Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan Galur Swiss yang diperoleh dari Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri Semarang. Kriteria inklusi mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur Swiss, umur \pm 2 bulan, berat badan 20-30 gram; dan kriteria eksklusi: tidak terdapat abnormalitas fisik pada mencit dan mencit mati selama percobaan karena kesalahan perlakuan. Kecambah kacang hijau diperoleh dengan cara di budidayakan sendiri. Bahan lain yang digunakan adalah d- α -tocopherol (Dalfarol[®]) dari Daria-varia, larutan CMC 1%, klorofrom 99,0 % (Brataco), NaCl fisiologis (Otsuka), reagen giemsa, dan larutan etanol 70%, formalin 10%, etanol bertingkat, xilol, parafin, *albumin meyer* dan *haematoxylin-eosin* (HE).

Alat yang digunakan

Polibek, nampan, alat semprot air, blender (*philips*), timbangan elektrik (*cook master*), botol plastik, jarum oral, seperangkat alat gelas, seperangkat alat bedah, kamar hitung *haemocytometer* (Neubauer), *objek glass*, *deck glass*, *hand counter*, laptop, vial, alat potong mikrotom (Shandon finesse 325), *objek glass* dan mikroskop trinokuler (N-400 M).

Jalan Penelitian

Pembuatan Media Tanam dan Budidaya Kecambah Kacang Hijau

Sebanyak tiga gram benih kacang hijau direndam selama satu malam dan selanjutnya benih kacang hijau disebar pada media tanam. Penyiraman dilakukan sebanyak tiga kali sehari (pagi, siang dan sore hari). Media tanam diletakkan pada tempat terlindung dari cahaya. Kecambah yang berumur dua hari dengan panjang sekitar 4-5 cm dipanen dan digunakan dalam penelitian.

Pembuatan Jus Kecambah Kacang Hijau

Pembuatan jus kecambah kacang hijau dilakukan setiap hari. Jus kecambah kacang hijau dibuat dalam tiga stok konsentrasi yaitu (2,0; 4,0 dan 8,0) mg/mL. Untuk membuat konsentrasi 2,0 mg/mL, sebanyak 1,0 gram kecambah kacang hijau ditambah 500,0 mL air dan diblender, kemudian dipindahkan ke dalam wadah plastik untuk langsung

digunakan dalam penelitian. Jus kecambah kacang hijau stok 4,0 dan 8,0 mg/mL dibuat dengan cara yang sama dengan larutan stok 2,0 mg/mL.

Pembuatan Suspensi d- α tocopherol (556 IU/mL)

Dosis d- α -tocopherol yang digunakan dalam penelitian ini adalah 556 IU/kgBB/hari. Sebanyak dua kapsul Dalfarol[®] (200 IU) diambil dengan menggunakan jarum suntik sampai isi dalam kapsul habis, selanjutnya, ditampung dalam *beker glass* kemudian

Perlakuan Hewan Uji

Mencit dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan, mencit diadaptasikan terlebih dahulu dalam suasana laboratorium selama satu minggu. Pemberian pakan dilakukan tiga kali setiap hari (pagi, siang dan sore) hari menggunakan pakan standar BR2 dan minum *ad libitum*. Tiga peringkat dosis jus kecambah kacang hijau (33, 66 dan 132) mg/kgBB/hari; d- α – tokoferol 556 IU/kgBB/hari dan CMC 1,0% 25,0 L.Kg/BB/hari diberikan secara oral satu kali sehari selama 20 hari. Pemejanaan sediaan uji dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 09.00 WIB.

Pengambilan Testis dan Epididimis

Pada hari ke 21, mencit dikorbankan dengan cara disklokasi tulang belakang. Bagian bawah perut mencit dibasahi dengan kapas alkohol 70%, dan selanjutnya dipotong melintang hingga terlihat epididimis dan testis. Selanjutnya, satu buah organ testis dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% untuk keperluan pemeriksaan spermatogenesis. Epididimis diurut/diplirit menggunakan pinset untuk mengeluarkan spermatozoa sehingga tersuspensi ke dalam larutan NaCl 0,9%. Pengamatan mikroskopis terhadap kualitas sperma dilakukan dalam jangka waktu yang tidak melebihi dari 60 menit (WHO, 2010). Pemeriksaan kualitas sperma yang dilakukan meliputi jumlah, motilitas dan morfologi sperma

Pemeriksaan Jumlah Sperma

Sebanyak 10 μ L sampel sperma, ditetaskan di sisi kamar hitung Neubauer yang sudah ditutup dengan kaca penutup, dan dibiarkan selama 5 menit (agar sel-sel

campur dengan larutan CMC 1,0% sedikit demi sedikit sambil diaduk-aduk sampai volume 15,0 mL.

Pembuatan Larutan CMC 1,0%

Sediaan CMC 1,0% digunakan sebagai larutan pensuspensi dan sebagai bahan uji pada kelompok kontrol negatif. Larutan CMC 1,0% dibuat dengan menimbang sebanyak 1,0 gram serbuk CMC dan dilarutkan dalam akuades (dengan bantuan pemanasan dan pengadukan) sedikit demi sedikit sampai volume 100,0 mL.

spermatozoa mengendap) untuk memudahkan perhitungan. Jumlah sperma diamati di bawah mikroskop trinokuler dengan perbesaran 400x. Hasil perhitungan jumlah sperma kemudian dimasukkan ke dalam rumus berdasarkan sesuai penelitian yang dilakukan oleh Suparni (2009), persamaan 1.

$$\text{Jumlah sperma} = \frac{\div 2}{\times 10^5 \text{ sperma/mL}} \dots (1)$$

N = jumlah sperma yang dihitung pada 25 kotak

Pengamatan Motilitas Sperma

Satu tetes sampel sperma ditetaskan ke atas *objek glass* kemudian ditutup dengan deg *glass*. Pengamatan motilitas dilakukan di bawah mikroskop trinokuler dengan perbesaran 200x. Pengamatan dilakukan sedikitnya pada lima lapang pandang. Setiap satu lapang pandang direkam selama 20 detik, kemudian dilakukan pengklasifikasi motilitas sperma yang meliputi *motilitas progresif* (sperma bergerak cepat dan lurus), *non-progresif* (sperma bergerak ditempat) dan *immotil* (sperma tidak bergerak/mati). Perhitungan % motilitas sperma progresif, non-progresif dan immotil dilakukan sesuai dengan persamaan 2-4.

$$\% \text{ sperma progresif} : a/n \times 100\% \dots (2)$$

$$\% \text{ sperma non-progresif} : b/n \times 100\% \dots (3)$$

$$\% \text{ sperma Immotil} : c/n \times 100\% \dots (4)$$

a = Jumlah sperma dengan motilitas *progresif*

b = Jumlah sperma dengan motilitas *non-progresif*
c = Jumlah sperma dengan motilitas *immotil*
n = Jumlah sperma pada lima lapang pandang

Pengamatan Morfologi Sperma

Satu tetes sampel sperma dan giemsa dibuat dalam bentuk hapusan pada obyek glass, kemudian dikering anginkan. Selanjutnya, sediaan hapusan ditetesi dengan etanol 70% dan dibiarkan selama 15 menit hingga kering. Pengamatan dilakukan terhadap 100 sperma dibawah mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400x. Selanjutnya, dilakukan perhitungan persentase antara sperma normal dengan abnormal sesuai penelitian yang dilakukan oleh Suparni(2009). Penentuan bentuk morfologi sperma normal dan abnormal dilakukan berdasarkan hasil penelitian Anggrahini (2009).

Pemeriksaan Spermatogenesis

Testis yang telah diambil difiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% dengan cara merendam testis dalam vial yang

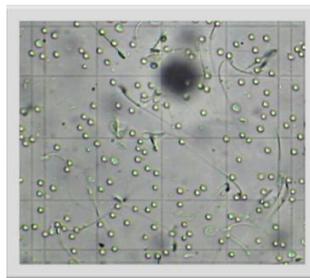
HASIL PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Jus Kecambah Kacang Hijau Terhadap Jumlah Sperma Mencit Jantan Galur Swiss

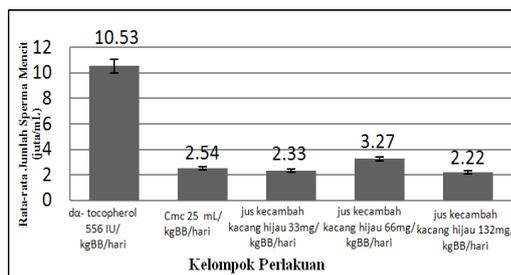
Parameter kecambah kacang hijau dalam mempengaruhi jumlah sperma pada penelitian ini adalah apabila jumlah sperma mencit pada kelompok perlakuan jus kecambah kacang hijau lebih tinggi atau lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Gambar sebaran sperma dalam perhitungan jumlah sperma menggunakan kamar hitung *Neubeur* dapat di lihat pada gambar 1. Perbandingan rata-rata jumlah sperma antar kelompok perlakuan tersaji pada gambar 2.

berisi larutan formalin 10,0% (Zulham, 2009). Testis direndam minimal selama 24 jam, kemudian dicuci dengan air dan dilanjutkan dengan melakukan dehidrasi menggunakan pelarut etanol bertingkat. Tahap selanjutnya adalah mengeluarkan cairan pembening dari testis dan diganti dengan parafin. Pengecoran testis dilakukan dengan membuat blok parafin agar mudah dipotong dengan mikrotrom. Hasil potongan tersebut kemudian dipindahkan ke penangas air dengan suhu 60°C dan diletakkan di atas *objek glass* yang telah diolesi albumin meyer. Proses analisa preparat jaringan organ testis dilakukan dengan cara mewarnai hasil irisan dengan Heatoksilin-Eosin (HE) dan diamati di bawah mikroskop trinokuler. *Hematoxylin*akan mewarnai inti sel sedangkan eosin mewarnai sitoplasma (Zulham, 2009). Penilaian spermatogenesis dilakukan berdasarkan penilaian skor spermatogenesis yang mengacu pada skor spermatogenesis Johnson

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan jus kecambah kacang hijau pada mencit selama 20 hari tidak mampu meningkatkan jumlah sperma mencit. Jumlah sperma mencit yang telah mendapatkan perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau 33 – 132 mg/KgBB/hari selama 20 hari adalah sebanyak 2,22 – 3,27 juta/mL. Jumlah sperma tersebut tidak berbeda bermakna dengan jumlah sperma mencit yang mendapatkan perlakuan dengan kontrol CMC 1,0% 25 mL/KgBB/hari ($p>0,05$). Sebaliknya, jumlah sperma mencit yang mendapatkan perlakuan dengan d- α -tokoferol 556 IU/KgBB/hari adalah sebanyak 10,53 juta/mL, lebih tinggi secara signifikan dari kelompok kontrol ($p<0,05$).



Gambar 1. Sebaran jumlah pada kamar hitung *Neubeur*



Gambar 2. Perbandingan rata-rata jumlah sperma mencit setelah mendapat perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau selama 20 hari. Jumlah sperma merupakan nilai rata-rata \pm SEM (n=5). Hasil uji *Mann-Witney* dengan taraf kepercayaan 95%, tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif (CMC) ($p>0,05$).

Pengaruh Pemberian Jus Kecambah Kacang Hijau Terhadap Motilitas Sperma Mencit Jantan Galur Swiss

Motilitas sperma digunakan untuk menilai tingkat keaktifan pergerakan sperma. Dalam penelitian ini, motilitas sperma diklasifikasikan menjadi tiga yaitu: motilitas progresif, motilitas non progresif serta immotil. Motilitas progresif ditandai dengan spermatozoa bergerak aktif, baik linier atau di lingkaran besar. Sperma memiliki motilitas non-progresif jika bergerak dengan jalur yang abnormal, misalnya berenang di lingkaran kecil, atau hanya mengerakkan flagellar yang dapat diamati. Sperma yang immotil ditandai dengan tidak adanya gerakan. Hasil perbandingan motilitas sperma (*progresif*,

non- progresif dan *immotil*) mencit jantan galur swiss setelah perlakuan selama 20 hari tersaji pada tabel I.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa % sperma dengan motilitas progresif pada mencit yang mendapatkan perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau (33 – 132) mg/KgBB/hari selama 20 hari berkisar (0,00 – 13,30) %. Persentase jumlah sperma dengan motilitas progresif ini jauh lebih kecil bila dibandingkan dengan mencit kelompok kontrol (52,15%) dan d- α -tokoferol 556 IU/KgBB/hari (80,90%) ($p<0,05$). Oleh karena itu, penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian jus kecambah kacang hijau selama 20 hari dapat menurunkan motilitas sperma progresif mencit jantan galur Swiss.

Tabel I. Perbandingan rata-rata persentase motilitas sperma mencit setelah mendapatkan perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau (33, 66, dan 132) mg/kgBB/hari selama 20 hari. Motilitas sperma merupakan nilai rata-rata (%) (n=5). *Hasil uji *Man-Whitney* menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol negatif (CMC) ($P<0,05$).

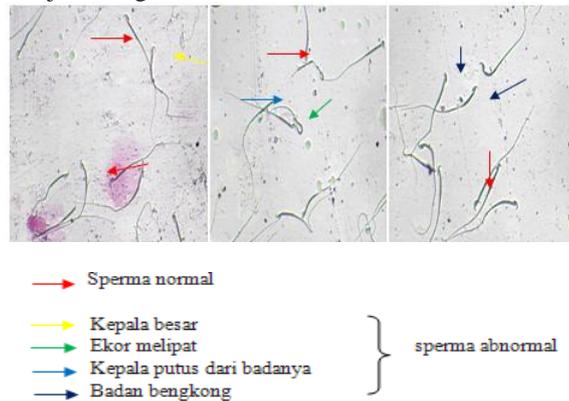
Parameter motilitas Sperma	Kelompok Perlakuan	(%) Motilitas Sperma	Signififikasi (p)*
Progresif	CMC 25 mL /kgBB /hari	52,15	-
	do-tocopherol 556IU/kgBB /hari	80,90	0,053
	Jus kecambah kacang hijau 33 mg/ kgBB /hari	13,30	0,009
	Jus kecambah kacang hijau 66 mg/ kgBB /hari	0,00	0,005
	Jus kecambah kacang hijau 132 mg/ kgBB /hari	0,00	0,005
Non-progresif	CMC 25 mL /kgBB /hari	25,88	-
	do-tocopherol 556IU/kgBB /hari	5,23	0,053
	Jus kecambah kacang hijau 33 mg/ kgBB /hari	41,29	0,251
	Jus kecambah kacang hijau 66 mg/ kgBB /hari	0,00	0,005
	Jus kecambah kacang hijau 132 mg/ kgBB /hari	0,00	0,005
Immotil	CMC 25 mL /kgBB /hari	21,96	-
	do-tocopherol 556IU/kgBB /hari	13,58	0,655
	Jus kecambah kacang hijau 33 mg/ kgBB /hari	45,40	0,175
	Jus kecambah kacang hijau 66 mg/ kgBB /hari	100,0	0,005
	Jus kecambah kacang hijau 132 mg/ kgBB /hari	100,0	0,005

Pengaruh Pemberian Jus Kecambah Kacang Hijau terhadap Morfologi sperma mencit jantan Galur Swiss

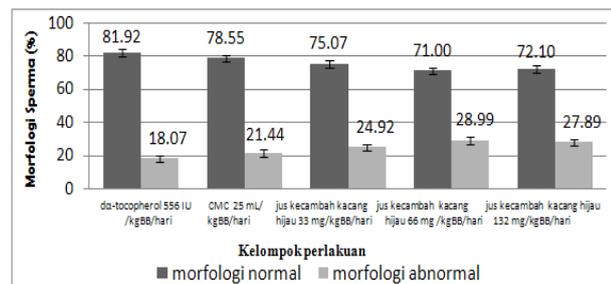
Dalam penelitian ini, parameter kecambah kacang hijau dalam mempengaruhi morfologi sperma adalah apabila morfologi

sperma normal pada mencit kelompok perlakuan jus kecambah kacang hijau lebih tinggi atau lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (CMC). Gambar morfologi sperma normal dan abnormal pada mencit jantan galur swiss

setelah perlakuan selama 20 hari dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3. Hasil perbandingan persentase morfologi sperma normal dan abnormal pada mencit jantan galur Swiss tersaji pada gambar 4.



Gambar 3. Morfologi Sperma mencit dengan perbesaran 400x



Gambar 4. Perbandingan (%) rata-rata morfologi sperma mencit setelah mendapat perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau (33, 66, dan 132) mg/kgBB/hari selama 20 hari. Morfologi sperma merupakan nilai rata-rata (%) \pm SEM (n=5).

Hasil uji Anova dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara % morfologi sperma normal dengan kelompok kontrol negatif (CMC) ($P>0,05$).

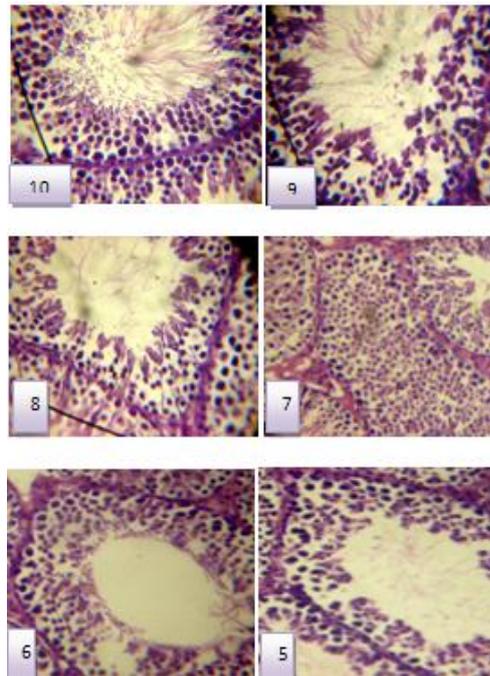
Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase morfologi sperma normal mencit yang mendapat perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau (33, 66 dan 132) mg/KgBB/hari selama 20 hari berturut-turut adalah sebesar 75,07%, 71,00% dan 72,10%. % morfologi sperma normal ini tidak berbeda bermakna dengan mencit kelompok kontrol

Pengaruh Pemberian Jus Kecambah Kacang Hijau terhadap Spermatogenesis Mencit Jantan Galur Swiss

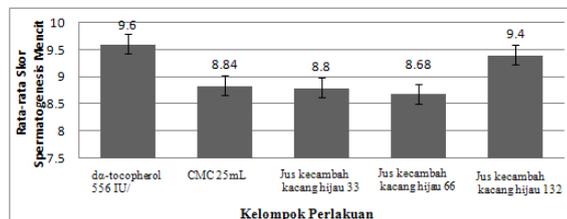
Gambaran penilaian skor spermatogenesis pada preparat jaringan organ testis atau penampang tubulus semineferus

(78,55%) ($p>0,05$) dan mencit yang mendapatkan perlakuan dengan d- α -tocopherol 556 IU/KgBB/hari (81,92%). Oleh karena itu, penelitian ini menyimpulkan bahwa perlakuan jus kecambah kacang hijau 33 – 132 mg/KgBB/ selama 20 hari tidak meempengaruhi morfologi sperma mencit jantan galur Swiss.

mencit jantan galur Swiss dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 5. Dari preparat ini selanjutnya dilakukan perhitungan skor spermatogenesis. Perbandingan hasil penilaian skor spermatogenesis pada preparat jaringan testis mencit dilakukan berdasarkan kriteria Johnson dan tersaji pada gambar 6.



Gambar 5. Penampang tubulus seminiferus mencit jantan yang dipotong melintang untuk penilaian klasifikasi spermatogenesis sesuai skor Johnson. keterangan: Skor Johsen bernilai 10. Skor Johsen bernilai 9. Skor Johsen bernilai 8. Skor Johsen bernilai 7. Skor Johsen bernilai 6. Skor Johsen bernilai 5.



Gambar 6. Perbandingan nilai rata-rata skor spermatogenesis mencit setelah mendapat perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau selama 20 hari. Nilai spermatogenesis merupakan nilai rata-rata \pm SEM (n=5). Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna skor spermatogenesis kelompok yang mendapat perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$).

Hasil penelitian, menunjukkan bahwa skor spermatogenesis mencit yang diberi perlakuan dengan d- α -tocopherol memiliki skor yang paling tinggi yaitu sebesar 9,6; sedangkan skor spermatogenesis kelompok kontrol negatif (CMC) adalah sebesar 8,84 ($p > 0,05$). Skor spermatogenesis mencit yang diberi perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau (33, 66 dan 132) mg/kgBB/hari adalah sebesar 8,80, 8,68 dan 9,4. Skor spermatogenesis tersebut tidak beebeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Oleh karena itu, pemberian

jus kecambah kacang hijau 33 – 132 mg/KgBB/hari selama 20 hari tidak mempengaruhi spermatogenesis mencit jantan galur Swiss ($p > 0,05$).

Diskusi dan Pembahasan

Salah satu sayuran yang telah digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk meningkatkan kesuburan pria adalah kecambah kacang hijau (tauge). Masyarakat mengkonsumsi kecambah kacang hijau ini dalam bentuk sayuran (mentah/dimasak) atau dibuat dalam bentuk jus.

Kecambah kacang hijau diketahui kaya akan kandungan vitamin E, C dan selenium yang merupakan senyawa antioksidan alami. Kombinasi senyawa antioksidan tersebut dapat melindungi berbagai sel di dalam tubuh sel dari oksidasi radikal bebas, termasuk sel sperma. (Astawan, 2005). Pada penelitian terdahulu, vitamin E telah dilaporkan mampu melindungi spermatozoa terhadap kerusakan peroksidatif dan penurunan motilitas (Therond *et al.*, 1996). Vitamin E juga dapat menetralkan hidroksil, peroksida, dan radikal hidrogen peroksida dan mencegah aglutinasi sperma (Agarwal, *et.al.*, 2005). Vitamin E juga diduga akan mampu mempertahankan fertilitas pria dengan cara melindungi beberapa sel penyusun tubulus seminiferus di dalam testis dari kerusakan akibat serangan radikal bebas yang terjadi secara alami di dalam tubuh (Ardini, 2005). Regina dan Traber (1999) menyatakan bahwa defisiensi vitamin E pada tikus menyebabkan degenerasi epitel tubuli seminiferi dan menghentikan produksi spermatozoa. Selain itu, pemberian vitamin E secara oral pada pasien astenospermia dilaporkan mampu meningkatkan motilitas spermatozoa secara signifikan (Suleiman *et al.*, 1996).

Kandungan beberapa protein dan vitamin E pada kecambah kacang hijau juga diduga kuat dapat meningkatkan kualitas sperma dan spermatogenesis pada mamalia. Penelitian ini mencoba untuk membuktikan penggunaan empiris kecambah kacang hijau sebagai peningkat kesuburan alami. Tiga peringkat dosis jus kecambah kacang hijau (33, 66 dan 132) mg/KgBB/hari diberikan pada mencit jantan galur Swiss selama 20 hari. Pada hari ke-21 setelah perlakuan jus kecambah kacang hijau dilakukan pemeriksaan kualitas spermatozoa dan spermatogenesis. Kualitas spermatozoa digambarkan oleh jumlah, motilitas progresif dan morfologi spermatozoa normal; sedangkan spermatogenesis digambarkan oleh skor spermatogenesis berdasarkan pengamatan preparat jaringan testis mencit jantan galur Swiss dengan menggunakan skor Johnson.

Secara keseluruhan, penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian jus kecambah kacang hijau 33 – 132 mg/KgBB/hari selama 20 hari tidak terbukti mampu meningkatkan kesuburan mencit jantan galur Swiss. Skor spermatogenesis, jumlah spermatozoa dan morfologi sperma normal

mencit jantan galur Swiss yang mendapatkan perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau selama 20 hari tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Hal ini mungkin disebabkan karena vitamin E yang terkandung di dalam jus kecambah kacang hijau tidak mencukupi untuk berperan sebagai antioksidan dalam melindungi sperma pada saat spermatogenesis. Jumlah vitamin E (tokoferol) yang terkandung dalam kecambah kacang hijau sekitar (7 $\mu\text{g/g}$) (Purwono dan Hartono, 2005). Jumlah vitamin E pada kecambah kacang hijau yang sangat sedikit ini kemungkinan tidak mampu melindungi saat produksi sperma, selain itu, vitamin E merupakan vitamin yang tidak larut air, sehingga pemberian sediaan kecambah kacang hijau dalam bentuk jus tidak dapat melarutkan vitamin E dan absorpsinya ke dalam sirkulasi sistemik juga relatif sedikit. Selain itu, perlakuan pemberian jus kecambah kacang hijau dalam penelitian ini hanya dilakukan selama 20 hari. Apabila lama perlakuan dilakukan lebih dari 20 hari mungkin saja akan mendapatkan hasil yang lebih akurat. Hal ini sangat berhubungan dengan siklus spermatogenesis. Satu siklus spermatogenesis pada mencit membutuhkan waktu antara 40-60 hari (Hafez 1970). Selain siklus spermatogenesis, umur hewan uji yang mempengaruhi proses spermatogenesis, dimana pada usia tertentu tingkat kesuburan hewan akan mulai menurun secara perlahan-lahan disebabkan karena perubahan dan penurunan fungsi organ reproduksi (Khaidir, 2011).

Penelitian ini juga menyimpulkan bahwa pemberian jus kecambah kacang hijau justru dapat menurunkan motilitas progresif spermatozoa mencit jantan galur Swiss. Penurunan motilitas sperma mencit kemungkinan dipengaruhi oleh senyawa lain selain senyawa vitamin E yang terkandung di dalam kecambah kacang hijau. Senyawa lain yang belum diketahui ini, kemungkinan besar berperan dalam merusak membran sel mitokondria, karena plasma membran mitokondria sperma tersusun atas asam lemak tak jenuh yang rentan terhadap serangan radikal bebas (O'Connell *et al.*, 2002). Sekitar 50% asam lemak tidak jenuh yang ditemukan dalam sebuah sel spermatozoa adalah dekosahexaenoat (DHA). Asam lemak ini yang bersifat sangat rentan terhadap oksidasi dan mudah mengalami kerusakan akibat reaksi

berantai antara radikal bebas dengan asam lemak tidak jenuh, sehingga meningkatkan peroksidasi lipida (Sanocka dan Kurpisz, 2004). Peroksidasi lipida dilaporkan Villegas *et.al.*, (2003) berkorelasi dengan penurunan fosforilasi protein pada aksonem dan berkurangnya ATP intrasel. Menurut Tremellen (2008), terjadinya proses peroksidasi pada spermatozoa akan diikuti oleh perubahan struktur membran plasma spermatozoa sehingga mengubah kestabilan dan fungsi membran, serta menurunkan fluiditas membran spermatozoa. Rusaknya membran plasma mitokondria spermatozoa mengakibatkan terganggunya metabolisme sel spermatozoa, sehingga menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa. Penelitian ini belum bisa mengidentifikasi senyawa yang mempengaruhi penurunan motilitas sperma, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Berbeda dengan jus kecambah kacang hijau, pemberian vitamin E (d- α -tokoferol) 556 IU/KgBB/ hari selama 20 hari ternyata mampu meningkatkan jumlah spermatozoa dan motilitas sperma progresif ($p < 0,05$). Walaupun demikian, pemberian d- α -tokoferol belum berhasil meningkatkan jumlah morfologi spermatozoa normal dan spermatogenesis mencit jantan galur Swiss ($p > 0,05$). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa pemberian vitamin E pada hewan mampu meningkatkan jumlah sperma secara nyata (Ilyas, 2011).

KESIMPULAN

Pemberian jus kecambah kacang hijau 33 – 132 mg/KgBB/ hari selama 20 hari tidak terbukti mampu meningkatkan kesuburan mencit jantan galur Swiss. Skor spermatogenesis, jumlah spermatozoa dan morfologi sperma normal mencit jantan galur Swiss yang mendapatkan perlakuan dengan jus kecambah kacang hijau selama 20 hari tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Sebaliknya, pemberian jus kecambah kacang hijau justru dapat menurunkan motilitas progresif spermatozoa mencit jantan galur Swiss ($p < 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

Agarwal, A., Prabakaran, A. and Said, T.M., 2005. Prevention of Oxidative Stress Injury to Sperm, *J. Androl*, **26**: 654-600.

Anggrahini S. 2009. *Pengaruh Lama Pengecambahan terhadap Kandungan α -Tokoferol dan Senyawa Proksimat Kecambah Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L.)*.

<http://patpijogja.wordpress.com/2009/08/27/>. Diakses tanggal 19 Januari 2012

Ardini, S.D. 2005. Efek Pemberian Kombinasi Vitamin C dan Vitamin E terhadap Kadar Nitric Oxide pada Preklampsia. *Tesis*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Astawan M. 2005. *Kacang Hijau, Antioksidan yang Membantu Kesuburan Pria*. http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde_ntrtrnhlth_kacanghijau.php. Diakses tanggal 19 Januari 2012

Hafez E.S.E., 1970, *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal*. Lea and Febiger, Philadelphia

Ilyas S., 2011, Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Jumlah, Morfologi Dan Motilitas Sperma Serta Kadar Malondialdehyde (MDA) Testis Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus L*) yang Mendapat Latihan Fisik Maksimal, *Skripsi*, Universitas Sumatra Utara.

Kobayashi, H., Koichi, Nagao, K. and Nakajima, K., 2012, Focus Issue on Male Infertility, *Adv. Urol*, **01**, 2012.

Miyamoto, T., Tsujimura, A., Miyaqawa, Y., Koh, E., Namiki, M. and Senqoku, K., 2012, Male Infertility and Its Causes in Human, *Adv. Urol*, **2012** : 2012.

O'Connell M., McClure, N. and Lewis, S.E., 2002. Mitochondrial DNA Deletions and Nuclear DNA Fragmentation in Testicular and Epididymal Human Sperm. *Hum. Reprod.* **17**(6):1565-1570.

Purwono dan Hartono, R., 2005, *Kacang Hijau*; Penebar Swadaya; Indonesia, Hal. 8

Regina, B.F. and Traber, .G., 1999. Vitamin E: Function and Metabolism. *Faseb J.* **13**:1145-1155.

Sanocka, D. and Kurpisz, M., 2004. Reactive Oxygen Species and Sperm Cells.

- Reprod. Biol. Endocrinol.* **23**(2) : 12.
- Stuart, S. and Howard, M.D., 1995, Treatment of Male Infertility, *N. Eng. J. Med.* **332**, 312-317
- Suleiman, S.A., Ali, M.E., Zaki, Z.M., El-Manik, E.M. and Nasr, M.A., 1996. Lipid Peroxidation and Human Sperm Motility: Protective Role of Vitamin E. *J. Androl.* **17**:530-537.
- Suparni, 2009, Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Jumlah Sperma dan Morfologi Sperma Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus* L.) yang dipaparkan Monosodium Glutamat (MSG), *Tesis*, Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatra Utara.
- Therond, P., Auger, J., Legrand, A. and Jouannet, P., 1996. Alpha-tocopherol in Human Spermatozoa and Seminal Plasma Relationship with Motility Antioxidant Enzymes and Leukocytes. *Mol. Hum. Reprod.* **2**: 739-744.
- Tremellen, K. 2008. Oxidative Stress and Male Infertility – a Clinical Perspective. *Hum. Reprod. Update* **14**(3):243-258.
- Villegas, J., Kehr, K., Soto, L., Henkel, R., Miska, M. and Sanchez, R., 2003. Reactive Oxygen Species Induce Reversible Capacitation in Human Spermatozoa. *Androlog*, **35** : 227-232.
- Zulham, 2009, *Penuntun Praktikum Histoteknik*, Departemen Histologi FKUSU, Medan, Hal. : 2, 5-8, 15.