

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

(Skripsi)

**Oleh
Dian Anggraini**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

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

Oleh

Dian Anggraini

Paraquat adalah salah satu bahan kimia yang memberikan kontribusi cukup besar sebagai sumber pencemaran di Indonesia. Penggunaan paraquat secara sembarangan dapat menyebabkan meningkatnya produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga mengakibatkan kerusakan berbagai macam organ penting dan gangguan sistem reproduksi seperti infertilitas. ROS di dalam tubuh dapat ditangkap oleh antioksidan. Jahe merah mengandung antioksidan yang tinggi karena terdapat senyawa aktif fenolik seperti, gingerol, shagaol, zingeron, ginggaediol, dan zingibren yang terbukti mampu melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat serangan ROS. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. Rubrum) terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang di induksi paraquat diklorida.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan masing- masing 4 ulangan. Kelompok K1 sebagai kontrol (diberi H₂O), K2 (diinduksi paraquat dengan dosis 20 mg/kg BB tanpa pemberian bahan uji), K3, K4, K5 (diinduksi paraquat dengan dosis 20 mg/kg BB dan diberi ekstrak jahe merah dengan dosis berturut-turut 6 mg/ml, 12 mg/ml, 18 mg/ml) dan K6 (Hanya diberi bahan uji ekstrak jahe merah sebanyak 18 mg/ml). Paraquat diberikan 2 kali dalam seminggu selama 21 hari dan ekstrak jahe merah diberikan selama 35 hari. Hasil analisis dengan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan pemberian ekstrak etanol jahe merah dapat meningkatkan jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa mencit akibat induksi paraquat diklorida.

Kata Kunci : *Zingiber officinale* Roxb. var rubrum, Paraquat, Jumlah, Viabilitas, Motilitas, Morfologi, *Mus musculus* L.

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

Oleh

Dian Angraini

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar SARJANA SAINS

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **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**

Nama Mahasiswa : **Dian Anggraini**

No. Pokok Mahasiswa : 1417021027

Jurusan : Biologi

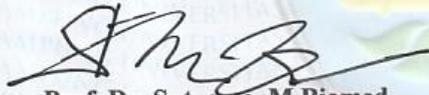
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

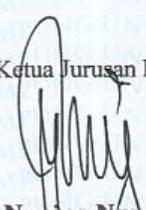
Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.
NIP 19570424 198703 1 001


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

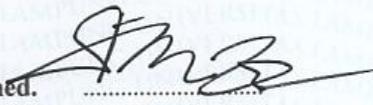

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305/199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.



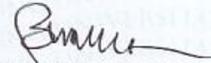
Sekretaris

: Drs. M. Kanedi, M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing : Dr. Hendri Busman, M.Biomed.



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 25 April 2018

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Sukadana Kabupaten Lampung Timur, pada tanggal 16 Agustus 1995. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara oleh pasangan Bapak Romzi dan Ibu Marhamah.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak PGRI Lampung Timur pada tahun 2001. Pada tahun 2002, penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 3 Sukadana Lampung Timur. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Labuhan Ratu Lampung Timur pada tahun 2008. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Natar Lampung Selatan.

Pada tahun 2014, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, Penulis pernah

menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi Umum Jurusan Kehutanan dan Endokrinologi. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai Anggota Bidang Sains dan Teknologi pada tahun 2014-2015. Penulis juga berpartisipasi pada kegiatan Pekan Konservasi Sumber Daya Alam XX sebagai sekretaris sub acara Olimpiade Biologi pada tahun 2016. Penulis juga aktif di lembaga kemahasiswaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) pada tahun 2015/2016 sebagai anggota Departemen PSLH.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sukajawa, Kecamatan Bumi Ratu Nuban, Kabupaten Lampung Tengah pada Januari-Maret 2017 dan melaksanakan Kerja Praktik di Balai Veteriner Lampung (BVet) Lampung pada Juli-Agustus 2017 dengan judul **“Gambaran Histopatologi Penyakit Jembrana Pada Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) di Balai Veteriner Lampung”**.

MOTTO

Where there is a will there is a way
(Dimana ada kemauan pasti disitu ada jalan)
(Pepatah Arab)

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.
Sesungguhnya
bersama kesulitan itu ada kemudahan.”*
Q.S. Al-Insyirah: 5-6

*“ALLAH akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman
diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa
derajat.”*
(Al-Mujadalah ayat 11)

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ?”
(Ar-Rahman Ayat 13)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan Rahmat, Ridho, dan Karunia-Nya yang tak henti-hentinya Dia berikan, Kupersembahkan

karya kecilku ini untuk:

Ibu dan Ayahku tercinta yang senantiasa mengucapkan namaku dalam do'a, mencurahkan kasih dan sayangNya untukku, serta selalu mendukung dan memotivasi dalam setiap langkahku,

Kedua adikku tersayang dan keluarga besarku yang juga selalu mendo'akan dan memberikan semangat,

Bapak dan Ibu Dosen yang selalu memberikanku ilmu yang bermanfaat, yang membuat diriku memahami akan kebesaran ALLAH SWT dan membantuku dalam menggapai kesuksesan,

Teman-teman seperjuangan, kakak-kakak, dan adik-adik yang selalu memberikanku pengalaman berharga, motivasi, dan semangat,

serta Almamaterku tercinta.

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin,

Puji dan syukur Penulis haturkan kepada ALLAH SWT , Dzat yang Maha Besar, Maha Memiliki Ilmu, karena atas izin dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai syarat meraih gelar Sarjana Sains.

Skripsi dengan judul **“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”** yang dilaksanakan pada bulan November 2017 - Januari 2018.

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis haturkan kepada semua pihak yang telah berperan atas dorongan, bantuan, saran, kritik, dan bimbingannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, antara lain kepada :

1. Ibu dan Ayahku tercinta atas segala kasih sayang yang telah diberikan, do'a yang terus dipanjatkan, serta tak henti-hentinya memberikan nasihat, semangat dan motivasi kepada penulis.

2. Kedua Adikku Hernani, dan Mega Zoraya, yang selalu memberikan semangat, do'a, serta tempat untuk berbagi canda tawa.
3. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. selaku Pembimbing 1 atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
4. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Pembimbing 2 atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun penyusunan skripsi.
5. Bapak Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku Pembahas atas semua ilmu, bantuan, bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun penyusunan skripsi.
6. Ibu Dra. Endang Nurcahyani, Ph.D. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan motivasi selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
7. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
8. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Ibu Nismah Nukmal, Ph.D. selaku Kepala Laboratorium Zoologi yang telah mengizinkan dan membantu penulis melaksanakan penelitian di Lab. tersebut.
11. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, terima kasih telah banyak memberikan ilmu pengetahuan selama perkuliahan.

12. Rekan seperjuangan selama penelitian Siti Umairoh, Nida Nurhanifah, dan Kamilia Tshany, terimakasih atas bantuan, kebersamaan dan kerjasamanya selama penelitian berlangsung.
13. Sahabat-sahabatku Elita, Siti Umairoh, Tika Noviana Sari, Fanisha, dan Juwita Anjelina, terimakasih telah menjadi partner terbaik, serta terimakasih atas do'a, dukungan, dan semangat yang telah diberikan.
14. Ricky Satriawan, yang selalu memberikan semangat, dukungan, do'a serta selalu bersabar dalam mendengarkan keluh kesah penulis selama pelaksanaan Penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi.
15. Teman-teman terdekatku Rizki Fitri, Nana Nurhasanah, Mesy Hervista, Pratami, Eka Ratna, Rizki Rhamadan, Mizan Sahroni, Lathifa, Anindia, Dwi Sindy, Nadia, Dewi Ayu, Victoria Agata, Nur Isfa'ni, Puput, Rahma, dan Putri Wardanis yang selama di perkuliahan selalu ada untuk membantu, memberi saran, kritik, motivasi, dan semangat, serta sudah memberikan kenangan indah di perkuliahan.
16. Teman-teman Biologi Angkatan 2014 atas keakraban, canda tawa, dukungan, dan kebersamaannya selama ini yang telah kalian berikan.
17. Teman-teman KKN Desa Sukajawa, Kecamatan Bumi Ratu Nuban, Kabupaten Lampung Tengah Harry Dharsono, Niko Prasetya, Reza Baharsyah, Rizky Isnaeni, dan Selda Rez atas bantuan dan kebersamaannya selama KKN hingga saat ini.
18. Sahabat SMA-ku dan Teman-teman kosan ceria Dewi, Ulfa, Ratih, Esya, dan Fauziah, terimakasih atas kebersamaan, bantuan, dukungan dan menemaniku saat senang maupun duka hingga terselesaikannya skripsi ini.

19. Seluruh kakak dan adik tingkat Jurusan Biologi FMIPA Unila yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas kebersamaannya di FMIPA, Universitas Lampung.
20. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah memberikan penulis dukungan, berbagai kritik dan saran,
21. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta.

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan kebaikan pula dari Allah SWT. Aamiin.

Demikianlah, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru kepada setiap orang yang membacanya.

Bandar Lampung, 25 April 2018

Dian Anggraini

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
HALAMAN PENGESAHAN	vi
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	5
C. Manfaat Penelitian	5
D. Kerangka Pemikiran	6
E. Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Radikal Bebas	8
B. Herbisida Paraquat	9
C. Gangguan Reproduksi	13
D. Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	14
1. Klasifikasi Mencit	14
2. Deskripsi Mencit	15
3. Sistem Reproduksi Mencit	16
E. Antioksidan.....	26
F. Jahe Merah (<i>Zingiber officinale Roxb. var. Rubrum</i>).....	27
1. Klasifikasi Jahe Merah	28
2. Morfologi Jahe Merah	28
3. Kandungan Jahe Merah	29
4. Peran Jahe Merah Terhadap Reproduksi.....	30
III. METODOLOGI PENELITIAN	32
A. Waktu dan Tempat Penelitian	32
B. Alat dan Bahan Penelitian	32
C. Rancangan Penelitian	33
D. Pelaksanaan Penelitian	35

E. Parameter yang diamati.....	40
F. Analisis Data	40
G. Diagram Penelitian	41
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
A. Hasil Penelitian	42
1. Analisis Perhitungan Jumlah Spermatozoa.....	42
2. Analisis Perhitungan Viabilitas Spermatozoa.....	43
3. Analisis Perhitungan Motilitas Spermatozoa.....	44
4. Analisis Perhitungan Morfologi Spermatozoa.....	45
B. Pembahasan.....	48
1. Jumlah Spermatozoa	48
2. Viabilitas Spermatozoa	51
3. Motilitas Spermatozoa	52
4. Morfologi Spermatozoa	54
V. SIMPULAN DAN SARAN	58
A. Simpulan	58
B. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perlakuan dan Parameter yang Diamati	33
Tabel 2. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Jumlah Spermatozoa Mencit	69
Tabel 3. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Viabilitas Spermatozoa Mencit	71
Tabel 4. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Motilitas Spermatozoa Mencit	74
Tabel 5. <i>One Way</i> ANOVA Rerata Morfologi Spermatozoa Mencit	77

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Paraquat.....	11
Gambar 2. Mencit (<i>Mus musculus</i> L)	15
Gambar 3. Organ Reproduksi Mencit Jantan.....	17
Gambar 4. Morfologi Abnormalitas Spermatozoa	26
Gambar 5. Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> Roxb. Var. Rubrum)	27
Gambar 6. Diagram Alur Penelitian.....	41
Gambar 7. Grafik Perhitungan Jumlah Spermatozoa.....	42
Gambar 8. Grafik Perhitungan Viabilitas Spermatozoa.....	43
Gambar 9. Grafik Perhitungan Motilitas Spermatozoa.....	44
Gambar 10. Grafik Perhitungan Morfologi Spermatozoa.....	45
Gambar 11. Hasil Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa	47
Gambar 12. Larutan. NaCl 0,9%.....	80
Gambar 13. Alkohol 96%	80
Gambar 14. Larutan Eosin	80
Gambar 15. Larutan Giemsa	80
Gambar 16. Haemocytometer	80

Gambar 17. Slide Glass.....	80
Gambar 18. Mikroskop	81
Gambar 19. Mikropipet.....	81
Gambar 20. Ekstrak Etanol Jahe Merah.....	81
Gambar 21. Induksi Hewan Uji	82
Gambar 22. Pengambilan Organ Epididimis	82
Gambar 23. Sekresi Spermatozoa	82
Gambar 24. Pengamatan Mikroskopis	82

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Di Indonesia, tingkat pencemaran lingkungan semakin tinggi dan kompleks. Pencemaran ini diakibatkan oleh maraknya penggunaan bahan-bahan kimia berbahaya di tengah-tengah masyarakat maupun industri, serta belum baiknya sistem pengelolaan terhadap limbah yang dihasilkan. Salah satu bahan kimia yang memberikan kontribusi cukup besar sebagai sumber pencemaran adalah herbisida. Herbisida adalah salah satu jenis pestisida yang mengandung senyawa kimia beracun dan digunakan untuk mengendalikan gulma atau tumbuhan pengganggu yang tidak dikehendaki (Ledoh dkk., 2010).

Laporan Organisasi Pangan Persatuan Bangsa-Bangsa menyatakan bahwa lebih dari 70.000 pestisida beredar di seluruh dunia dan dipergunakan secara aktif oleh para petani. Salah satu jenis pestisida yang penggunaannya meningkat di dunia adalah herbisida yaitu dari 20% pada tahun 1960 menjadi 48% pada tahun 2005 (Iudiana, 2013).

Adanya paparan herbisida yang berulang dapat menyebabkan meningkatnya produksi Reactive oxygen spesies (ROS) atau radikal bebas yang berasal dari reaksi metabolisme menggunakan oksigen yang menghasilkan molekul

oksigen sangat reaktif, salah satu herbisida yang meningkatkan produksi ROS adalah paraquat (Ortiz dkk,2016).

Herbisida paraquat (1,1'-dymethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) merupakan herbisida yang dapat mematikan jaringan tumbuhan yang terkontaminasi dan beracun pada sel-sel tumbuhan yang hidup (Sriyani, 2008). Paraquat adalah herbisida golongan bypyridium yang digunakan diseluruh dunia (Fukushima dkk, 2002). Lebih dari 120 negara menggunakan herbisida jenis paraquat (Oliviera dkk, 2008). Di Indonesia paraquat telah digunakan sejak tahun 1973 yang dijual dengan merek dagang Gramoxone digunakan untuk tanaman pangan, hortikultura dan perkebunan (Julianto,2016).

Di negara berkembang, paraquat sering digunakan secara bebas, tidak memperhatikan bahaya dan label peringatan sehingga menyebabkan angka keterpaparan yang tinggi. Paparan herbisida baik secara inhalasi maupun ingesti dapat menyebabkan keracunan. Keracunan herbisida merupakan permasalahan kesehatan masyarakat di negara berkembang dengan perkiraan sekitar 300.000 kematian di regional Asia-Pasifik.(Ginting dkk, 2012).

Penggunaan paraquat di Indonesia sebenarnya telah dibatasi, namun karena ketergantungan perkebunan terhadap herbisida ini sangat besar dengan alasan keefektifan dan keekonomisannya menyebabkan penggunaan paraquat masih sangat tinggi. Tingginya intensitas dan jumlah herbisida yang diaplikasikan dikhawatirkan menimbulkan pencemaran residu. Sehingga residu tersebut terakumulasi pada lingkungan maupun berbagai organisme (Sriyani dan salam 2008).

(Ebrahimi dan Shamabadi, 2007) menyatakan bahwa studi terbaru menunjukkan senyawa sintetik tertentu termasuk pestisida dapat mengganggu fungsi sistem endokrin dan memiliki kemampuan menginduksi kelainan perkembangan dan reproduksi pada manusia dan hewan. Pestisida dapat mengganggu aktivitas sistem endokrin secara normal melalui efek antiestrogenik, antiandrogenik, antitiroid dan antigonadotropik. Gangguan fungsi endokrin yang disebabkan oleh paparan kronis organofosfat (seperti pestisida dan herbisida) secara signifikan dapat menurunkan kadar testosteron. (Arafa dkk 2013).

(Afaf dkk.,2009) Melaporkan bahwa pestisida dan herbisida kelompok organofosfat–dicofol terbukti menyebabkan meningkatnya produksi radikal bebas baik melalui intraseluler maupun ekstraseluler sehingga mengakibatkan penurunan jumlah sperma dan infertilitas. Para ilmuwan juga menerangkan tentang hubungan antara bahan kimia ini dengan kelainan dan penyakit pada manusia termasuk penurunan jumlah sperma, kanker payudara, kanker testis, kanker prostat, gangguan neurologis termasuk efek kognitif dan neurologis (Markey dkk., 2003 dan Lemaire dkk., 2004).

(Bagchi dan Puri,1998) Menyatakan bahwa radikal bebas dapat diatasi dengan antioksidan yang merupakan suatu molekul stabil yang dapat memberikan elektron kepada radikal bebas dan menetralkannya

Jahe merah memiliki zat antioksidan yang kuat dan mampu mengurangi serta mencegah terbentuknya radikal bebas dan dianggap sebagai obat herbal yang aman dengan efek samping yang sangat minimal. Sebagai hasil dari aktivitas

antioksidannya, jahe akan memacu aktivitas androgenik untuk organ testis sebagai hasil dari peningkatan hormon LH, FSH, dan testosterone (Ali *et al.*, 2008).

Pemanfaatan tanaman rempah-rempah merupakan salah satu alternatif dalam upaya meningkatkan kualitas dan kuantitas spermatozoa pada hewan jantan. Menurut Damosaputro (2007), kandungan aktif yang terdapat dalam tanaman jahe merah (*Zingiber officinale roscoe var. rubrum*) dapat mengatasi ejakulasi dini pada manusia, memperkuat daya tahan sperma, serta mencegah kemandulan. Pendapat yang sama juga disampaikan oleh Hariana (2006) yang menyatakan bahwa efek farmokologis yang dimiliki oleh *Zingiber officinale roscoe var. rubrum* antara lain dapat merangsang ereksi dan meningkatkan aktivitas kelenjar endokrin. Selain itu, *Zingiber officinale roscoe var. rubrum* juga memiliki efek farmokologis untuk memperlambat proses penuaan, merangsang regenerasi sel kulit, dan sebagai bahan pewangi (Hadad, 2003).

Kandungan aktif rimpang jahe merah yang berpengaruh terhadap aktivitas reproduksi adalah arginin. Arginin merupakan asam amino non - esensial yang berperan dalam sistem ketahanan tubuh dan imunitas seluler. Selain itu, arginin juga berperan aktif dalam proses pembentukan spermatozoa (Srivastava dkk., 2006).

Hasil penelitian Kikuzaki dan Nakatani (1993), menunjukkan bahwa jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. Var. Rubrum) memiliki senyawa aktif fenolik seperti, gingerol, shagaol, zingeron, ginggerdiol, dan zingibren yang

terbukti memiliki aktifitas antioksidan. Jahe juga dilaporkan memiliki aktifitas androgenik karena mampu meningkatkan konsentrasi hormon testosteron dalam serum (Kamtchouing et al,2002). Hormon testosteron berfungsi untuk mengontrol proses spermatogenesis,memelihara sel sertoli, dan berperan dalam menentukan kualitas spermatozoa.

Berdasarkan uraian- uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. Rubrum) terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang di induksi paraquat diklorida.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. Rubrum) terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang di induksi paraquat diklorida.

C. Manfaat penelitian

penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai sumber informasi kepada masyarakat tentang jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. Rubrum) yang berpotensi sebagai antioksidan untuk digunakan sebagai alternatif pengobatan.

D. Kerangka Pemikiran

Penurunan fungsi tubuh tidak hanya terjadi karena usia, namun terjadi pula karena suatu senyawa kimia yang menjadi pengganggu sel-sel dan organ-organ dalam menjalankan fungsinya didalam tubuh. Salah satu organ yang sangat berpengaruh terhadap penurunan fungsi tubuh adalah organ testis. Penurunan fungsi pada testis tidak hanya berupa kerusakan sel- sel testis, namun terjadi pula karena penurunan kualitas testis dalam memproduksi sperma. Salah satu senyawa kimia yang menyebabkan kerusakan tersebut adalah Paraquat.

Paraquat merupakan senyawa beracun yang menginduksi terbentuknya molekul ROS melalui serangkaian proses seluler. *Reactive oxygen spesies* yang terbentuk , menyebabkan kerusakan struktur sel, DNA, lemak dan protein sehingga dapat mengakibatkan kematian sel, selain itu ROS yang terbentuk juga menyebabkan menurunnya kadar glutathion dan enzim SOD yang merupakan antioksidan alami berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Akibat yang ditimbulkan oleh ROS ini menyebabkan kerusakan pada berbagai organ penting seperti otak, paru-paru, hati, ginjal dan organ reproduksi manusia.

Menurut Wibisono (2001), cekaman panas pada testis dapat menyebabkan fragmentasi total dan berakibat pada kerusakan jaringan testis yang menyebabkan kegagalan proses spermatogenesis, sedangkan fragmentasi parsial berpengaruh terhadap spermatozoa yang dihasilkan. Walaupun sel tubuh selalu dihadapkan pada radikal bebas baik dari hasil samping produksi

metabolisme sel fagosit atau didapat dari luar, sampai batas tertentu sel masih dapat bertahan terhadap kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Hal ini disebabkan karena adanya protektor terhadap radikal bebas.

Radikal bebas di dalam tubuh dapat ditangkap oleh antioksidan. Banyak tumbuhan yang mengandung antioksidan, salah satunya adalah jahe merah. Didalam jahe merah terdapat senyawa aktif fenolik seperti, gingerol, shagaol, zingeron, ginggaerdiol, dan zingibren yang terbukti memiliki aktifitas antioksidan.

Dari uraian tersebut diketahui bahwa antioksidan di dalam jahe merah dapat mencegah radikal bebas yang terbentuk yang dapat menyebabkan gangguan sistem reproduksi terutama penurunan kualitas testis dalam memproduksi sperma oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus* L.) jantan.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. Var. Rubrum) dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang diinduksi paraquat diklorida.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, cenderung berikatan dengan electron dari molekul lain. Molekul ini sangat reaktif dan akan menyerang molekul stabil di dekatnya sehingga menjadi radikal bebas (Kothari *et al*, 2010). Dengan demikian reaksi radikal bebas ini cenderung mirip dengan reaksi berantai dan sangat reaktif sehingga radikal bebas akan memicu perubahan kimia, yang akhirnya menyebabkan kerusakan sel, seperti protein, lemak, karbohidrat dan DNA (Yoshikawa dan Naito, 2002; Neeraj dkk., 2013).

Ada dua bentuk umum dari radikal bebas yaitu ROS dan *reactive nitrogen species* (RNS). Termasuk ROS di antaranya ion *superoxide* ($O_2^{\bullet-}$), *hydrogen peroxide* (H_2O_2), *hydroxyl radical* (OH^{\bullet}), dan *peroxyl radical* (OOH^{\bullet}).

Sementara RNS sering dianggap sebagai subklas dari ROS, di antaranya *nitric oxide* (NO), *nitrous oxide* (N_2O), *peroxynitrite* (NO_3^-), *nitroxyl anion* (HNO) dan *peroxynitrous acid* (HNO_3^-) (Kothari *et al*, 2010).

ROS merupakan istilah yang digunakan untuk menyebut seluruh molekul yang dihasilkan dari metabolisme oksigen oleh sel. Molekul ini dihasilkan

oleh organisme aerob yang menggunakan oksigen untuk menjalankan metabolisme selulernya. *Reactive oxygen spesies* ada yang bersifat radikal bebas dan non radikal. Hanya ROS yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya yang disebut radikal bebas (Yhoshikawa dan Naito, 2002; Noori,2012; Dalaen dan aiman,2014).

(Khumar, Abbas, dan Fausto, 2005; Eberhardt, 2001) Meyatakan radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan tiga cara yaitu:

- a. Peroksidasi komponen lipid dari membrane sel dan sitosol, yang menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisis) yang berakibat kerusakan membran dan organel sel.
- b. Kerusakan DNA, yang berakibat mutasi DNA bahkan kematian sel
- c. Modifikasi protein teroksidasi oleh karena terbentuknya *cross linking* protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin dan histidin.

B. Herbisida Paraquat

Herbisida digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan tumbuhan. Herbisida merupakan suatu bahan atau senyawa kimia yang bersifat racun pada gulma atau tumbuhan pengganggu juga terhadap tanaman. Pemberantasan gulma terjadi karena herbisida mengubah pengaruh bahan kimia di dalam jaringan gulma, yang dapat mematikan jaringan itu atau merusak suatu sistem fisiologis yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Bila pernafasan, fotosintesis, pembelahan sel, dan pemanjangan sel terganggu

gulma akan menghabiskan cadangan energi. Tanpa fotosintesis gulma tidak akan mampu menyaingi tanaman dalam memperebutkan zat hara (Riadi, 2011).

Penggunaan herbisida secara berlebihan akan menimbulkan beberapa kerugian, antara lain yaitu residu herbisida akan terakumulasi pada produk-produk pertanian, pencemaran pada lingkungan pertanian, penurunan produktivitas, keracunan pada hewan, keracunan pada manusia yang berdampak buruk terhadap kesehatan. Manusia akan mengalami keracunan baik akut maupun kronis yang berdampak pada kematian (Kishi *et al*, 1993).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan setiap tahun terjadi 1 – 5 juta kasus keracunan herbisida pada pekerja pertanian dengan tingkat kematian mencapai 220.000 korban jiwa. Sekitar 80% keracunan dilaporkan terjadi di negara-negara sedang berkembang (Peduto *et al*, 1996).

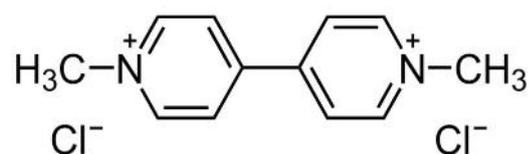
Kecepatan penyerapan herbisida ke dalam tubuh ditentukan oleh cara masuk herbisida, hal ini berpengaruh pada intensitas dan durasi keracunan. Herbisida masuk ke dalam tubuh melalui beberapa jalur yaitu : (1) oral/mulut; (2) respirasi / pernafasan; (3) penetrasi kulit/perkutan. Absorpsi herbisida dalam tubuh dapat melalui kombinasi dari beberapa jalur (Ngatidjan dan Mustofa, 2006).

Menurut O'Malley (2007) jalur utama adalah absorpsi kulit. Cara absorpsi yang paling berbahaya secara epidemiologi adalah melalui terhirup (*inhalasi*)

karena bahan berbentuk gas atau partikel, sehingga memudahkan racun masuk ke dalam peredaran darah (Suwastika, 2009).

Salah satu jenis herbisida yang banyak digunakan adalah herbisida paraquat, paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) merupakan salah satu herbisida non selektif yang digunakan untuk mengontrol hama tanaman.

Sesuai dengan namanya, paraquat merupakan herbisida golongan bipyridylum. Di Indonesia dikenal dengan merek dagang Gramoxone (Oliviera dkk, 2008 ; Julianto,2006). Paraquat memiliki rumus molekul $[C_{12}H_{14}N_2]^{2+}$ dengan struktur kimia sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur kimia $[C_{12}H_{14}N_2]Cl_2$
(Sumber: Indika dan Buckley, 2011)

Paraquat bersifat racun bagi tumbuhan dan hewan, terutama bagi mamalia dan manusia. Banyak kasus keracunan paraquat yang akut berujung pada kematian yang telah dilaporkan selama beberapa dekade terakhir. Paraquat masuk kedalam tubuh utamanya akibat tertelan atau melalui kontak langsung dengan kulit. Jika tertelan, paraquat mengakibatkan rasa terbakar ditenggorokan dan mulut, yang diikuti oleh iritasi pada saluran cerna, iritasi ini menimbulkan rasa sakit pada perut, mual, muntah dan diare. Jika terjadi kontak langsung dengan kulit, menyebabkan kulit terbakar dan dermatitis (Suntres,2002; Oliviera dkk., 2008).

Gejala dan tanda klinis keracunan paraquat tergantung dari dosis paraquat yang tertelan. Dosis ringan (<20 mg ion paraquat/kg berat badan) gejalanya meliputi gejala asimtomatik atau mual muntah dan diare, dosis sedang hingga berat (20–40 mg/kg ion paraquat/kg berat badan) beberapa pasien dapat bertahan hidup, namun sebagian besar pasien akan meninggal dalam 2–3 minggu karena gagal paru. Gejala–gejala yang dapat ditemukan diantaranya adalah muntah, diare, nyeri perut, ulserasi mulut dan tenggorokan, gagal ginjal bahkan kerusakan pada hepar, dan dosis fulminan (>40 mg/kg ion paraquat/kg berat badan) dapat mengakibatkan kematian karena kegagalan multiorgan yang dapat terjadi dalam waktu 1–4 hari (WHO, 2008).

Toksisitas paraquat disebabkan karena kemampuannya dalam menginduksi molekul ROS, seperti O_2^- , H_2O_2 dan OH^- (Franco dkk., 2009). Saat paraquat masuk kedalam sel, paraquat akan dimetabolisme oleh beberapa sistem enzim seperti *NADPH-Cytochrome p450 reductase*, *Xantin oksidase*, *NADH*, dan *ubiquinone oxireductase* serta *nitric oxide synthase* membentuk paraquat monocation radical (PQ^+), $NADP^+$ dan NAD^+ . PQ^+ secara cepat akan direoksidasi menjadi PQ^{2+} menyebabkan terbentuknya *superoxide* (O_2^-). Pada reaksi ini, O_2 berperan sebagai reseptor elektron dan $NADP$ bertindak sebagai donor elektron. Reaksi ini secara berurutan membentuk molekul ROS yang lain terutama H_2O_2 dan *Hydroxyl free radical* (HO). Paraquat secara langsung atau tidak langsung menginduksi *nitric oxide synthase* menghasilkan *Nitric Oxide* (NO). NO berikatan dengan O_2 membentuk *peroxinitrite* ($ONOO^-$) yang merupakan oksidan yang sangat kuat. Terbentuknya berbagai molekul ROS ini, menyebabkan kerusakan oksidatif

pada lemak, protein dan DNA, serta menurunnya jumlah NADPH dan Glutathion, Kondisi ini pada akhirnya menimbulkan kerusakan pada banyak organ tubuh (Fukushima dkk.,2002; Suntres, 2002; Abdollahi dkk., 2008; Gawarammana dan Buckley, 2011).

C. Gangguan Reproduksi Akibat Radikal Bebas

Radikal bebas dapat menyebabkan gangguan sistem reproduksi manusia. Adanya radikal bebas dapat menyebabkan gangguan pada spermatozoa sebesar 30-80% dari kasus infertil (Tremellen, 2008). Radikal bebas ini akan menimbulkan gangguan pada spermatogenesis dan membran spermatozoa sehingga menurunkan motilitas spermatozoa dan kemampuan untuk menembus sel telur (ovum). Gangguan membran sel ini disebabkan karena membran sel merupakan salah satu target utama kerusakan atau cedera sel yang diakibatkan oleh berbagai stimulasi dari luar termasuk radikal bebas (Sutarina dan Edward, 2004). Membran sel spermatogenik mengandung sejumlah besar asam tak jenuh rantai panjang (PUFA) sehingga rentan terhadap peroksidasi lipid (Astuti,2009).

Radikal bebas juga menyebabkan kerusakan DNA spermatozoa khususnya pada integritas DNA pada inti selanjutnya dapat menimbulkan kematian sel (Tremellen, 2008; Aitken dan Krausz, 2001). Sitoplasma sel spermatogenik mengandung sejumlah kecil scavenging enzyme, namun enzim antioksidan intra sel ini pun tidak mampu melindungi membran plasma yang melingkupi akrosom dan ekor dari serangan radikal bebas. Adanya radikal bebas mampu

menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan jaringan testis terutama tubulus seminiferus (Safarinejad, Azma dan Kohali, 2009).

D. Mencit (*Mus musculus* L.)

1. Klasifikasi Mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit merupakan mamalia yang termasuk ke dalam ordo rodentia dari famili muridae. Menurut Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (2017), mencit dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : animalia

Divisio : chordata

Sub divisio : vertebrata

Classis : mamalia

Sub Classis : Theria

Ordo : rodentia

Familia : muridae

Genus : *Mus*

Species : *Mus musculus*



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus L*)
(Dokumentasi pribadi)

2. Deskripsi Mencit (*Mus musculus L.*)

Mencit (*Mus musculus L.*) termasuk mamalia pengerat (rodensia) yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta sifat anatomi dan fisiologi nya terkarakteristik dengan baik. Mencit yang sering digunakan dalam penelitian di laboratorium merupakan hasil perkawinan tikus putih “*inbreed*” maupun “*outbreed*” (Tabakoff dan Hoffman, 2000).

Berat badan mencit jantan dewasa adalah 20-40 gram, sedangkan mencit betina dewasa berkisar antara 18-35 gram. Mencit jantan mencapai kematangan seksual dalam usia lima sampai tujuh minggu, sedangkan pada mencit betina dalam usia tiga minggu. Seekor mencit dewasa membutuhkan 15 gram makanan dan 15 ml minuman dalam satu hari per 100 gram berat badan (Malole & Pramono 1989:1994,1996 1999).

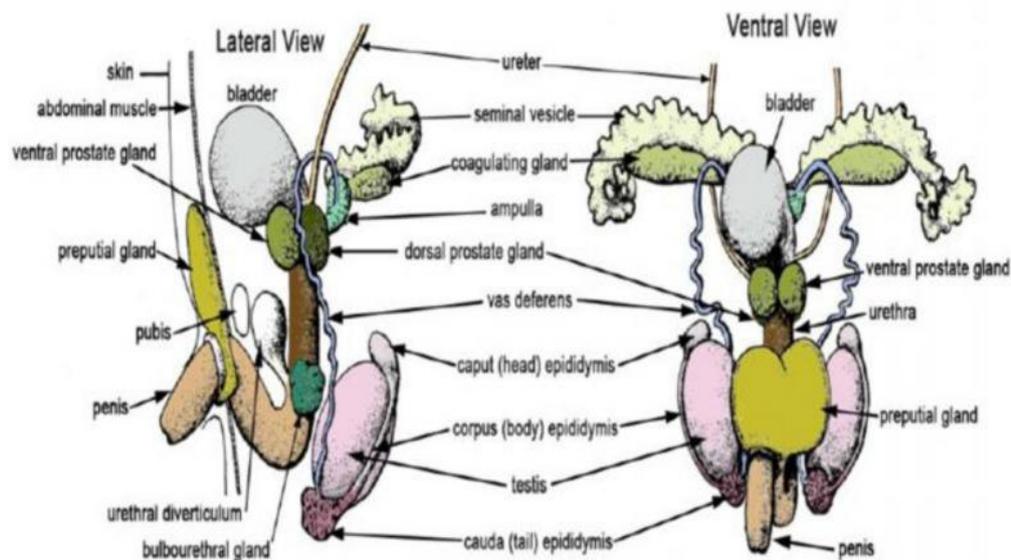
Hewan tersebut tersebar diseluruh dunia dan sering ditemukan di dekat atau di dalam gedung dan rumah yang dihuni manusia. Mencit juga banyak ditemukan di daerah lain yang tidak dekat dengan manusia, jika ada makanan dan tempat berlindung. Semua galur mencit laboratorium yang ada pada saat ini merupakan turunan dari mencit liar sesudah melalui peternakan selektif (Yuwono, 2009).

Malole dan Pramono (1989) menyatakan mencit sering digunakan dalam berbagai penelitian dalam bidang obat-obatan dan kosmetik, pemanfaatan hewan percobaan sebagai penelitian didasarkan atas aktivitas biologisnya. Menurut Arrington (1972) digunakannya hewan laboratorium sebagai penelitian dengan alasan karena biaya yang dibutuhkan tidak begitu mahal, efisien dalam waktu, kemampuan reproduksinya yang tinggi dalam waktu yang singkat serta sifat genetiknya dapat dibuat seragam.

Mencit dipilih untuk subjek eksperimental sebagai bentuk relevansinya dengan manusia. Walaupun mencit sebenarnya memiliki struktur anatomi dan fisik berbeda dengan manusia, tetapi mencit memiliki beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia (Syahrin, 2006).

3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan

Sistem reproduksi jantan terdiri atas testis yang memproduksi spermatozoa, system duktus spermatozoa, kelenjar asesori dan penis (Rugh 1968, Junquiera & Carneiro 1980, Leeson *dkk.* 1996).



Gambar 3. Organ reproduksi mencit jantan (Rugh,1968)

1. Testis

Testis merupakan organ berbentuk oval dan berjumlah dua buah yang berukuran sama besar (Toelihere 1977). Menurut Junquiera & Carneiro (1980), testis manusia dewasa memiliki panjang antara 4,1-5,2 cm dan lebar 2,5-3,3 cm, sedangkan testis tikus dewasa memiliki panjang rata-rata 4,6 cm dengan diameter 2,6 cm. Testis pada semua jenis (spesies) berkembang di dekat ginjal. Pada mamalia, testis berada dalam kantong skrotum yang terletak diluar abdomen. (Nalbandov 1990).

Menurut Leeson *dkk.* (1996), testis terdiri dari tiga lapisan, yaitu tunika vaginalis, tunika albuginea, dan tunika vaskulosa. Tunika vaginalis merupakan lapisan terluar yang menutupi permukaan lateral dan anterior testis (Junquiera & Carneiro 1980). Tunika albuginea menebal pada permukaan posterior testis dan menjorok masuk kedalam testis sebagai mediastinum testis atau lapisan tengah. Tunika vaskulosa merupakan

lapisan terdalam yang terbenam didalam jaringan ikat karang (Leeson *dkk.* 1996).

Mediastinum testis membagi testis menjadi sekitar 250 ruang-ruang piramidal yang dinamakan lobulus testis. Sekat antara lobulus tersebut tidak sempurna sehingga seringkali terbentuk hubungan antara lobulus-lobulus (Junquiera & Carneiro 1980, Leeson *dkk.* 1996).

Tiap-tiap lobulus terdiri dari 1-4 tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus merupakan saluran berkelok dengan diameter lebih kurang 150-250 μm dan panjang 30-70 cm. Tubulus seminiferus merupakan tempat berlangsungnya spermatogenesis (Junquiera & Carneiro 1980).

Tubulus seminiferus terdiri atas tunika propria fibrosa, lamina basalis, dan epitel germinativum. Tunika propria fibrosa merupakan lapisan fibroblas yang terletak diatas lamina basalis (Junquiera & Carneiro 1980). Lapisan tersebut terdiri atas sel-sel mioid yang dapat mengubah diameter tubulus seminiferus dan membantu gerakan spermatozoa sepanjang tubulus. epitel germinativum. memiliki dua jenis sel, yaitu sel spermatogenik dan sel Sertoli. Sel spermatogenik akan mengalami diferensiasi menjadi sel spermatozoa. Sel Sertoli atau sel penyokong berperan dalam memberi nutrisi bagi perkembangan spermatozoa (Leeson *dkk.* 1996).

2. Sistem duktus

Sistem duktus terdiri dari rete testis, duktus eferen, epididimis, dan duktus deferen. Rete testis menghubungkan antara tubulus seminiferus dan duktus eferen. Duktus eferen membentuk tiga hingga tujuh saluran menuju epididimis. (Rugh 1968).

Epididimis terletak di bagian dorsolateral testis dan memanjang dari kranial ke kaudal testis. Epididimis terdiri atas dua duktus, yaitu duktus eferen dan duktus epididimis. Epididimis terdiri dari tiga bagian yaitu kaput (kepala), korpus (badan), dan kauda (ekor). Bagian kaput dan korpus berfungsi sebagai tempat pematangan spermatozoa dan reabsorpsi air, sedangkan bagian kauda berfungsi sebagai tempat penyimpanan spermatozoa (Hafez & Prasad 1976).

Epididimis menyalurkan spermatozoa dan cairan dari testis ke duktus deferens (Holstein 1976). Duktus deferen merupakan saluran yang berfungsi mengangkut spermatozoa dari kauda epididimis ke uretra. (Moeloek 1994).

3. Kelenjar aksesori

Kelenjar aksesori terdiri atas kelenjar vesikula seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar bulbouretra (Cowper) (Junquiera & Carneiro 1980, Campbell *dkk.* 2004). Selain itu, terdapat juga kelenjar ampula dan kelenjar preputial. Kelenjar-kelenjar tersebut berfungsi membuat cairan

semen agar sperma dapat bergerak aktif dan hidup dalam waktu tertentu (Nalbandov 1990).

Kelenjar vesikula seminalis pada mencit berjumlah sepasang dan terletak di atas kelenjar prostat (Rugh 1968). Kelenjar tersebut mensekresikan cairan kental berwarna kekuning-kuningan dan bersifat alkalis (basa) mengandung fruktosa yang menyediakan sebagian besar energi untuk sperma (Campbell *dkk.* 2004). Fruktosa juga berfungsi sebagai substrat metabolisme bagi spermatozoa bersama senyawa lainnya seperti glukosa, asam amino, vitamin C, dan prostaglandin (Ross *dkk.* 1995).

Kelenjar prostat pada mencit berjumlah sepasang dan terletak di bawah kelenjar vesikula seminalis (Rugh 1968). Kelenjar tersebut mensekresikan cairan yang mengandung enzim antikoagulan dan asam sitrat (Campbell *dkk.* 2004). Kelenjar Cowper mencit terletak di bawah kulit bagian atas penis (Rugh 1968). Kelenjar tersebut menghasilkan cairan bening dan kental yang mengandung penggumpal yang berperan dalam pembentukan sumbat vagina (Eddy 1988).

4. Alat kelamin luar (penis)

Alat kelamin luar atau organ kopulasi mencit adalah penis. Penis berfungsi sebagai alat pengeluaran urin dan perletakkan semen ke dalam saluran reproduksi betina (Moeloeck 1994). Penis mencit terdiri

dari korpus kavernosum, korpus spongiosum, dan kepala penis (Rugh 1968).

5. Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan suatu proses proliferasi dan diferensiasi sel spermatogonia menjadi spermatozoa yang terjadi di dalam tubulus seminiferus (Moeloeck 1994). Menurut Rugh (1968), spermatogenesis mencit berlangsung lebih kurang $8,63 \pm 0,25$ hari untuk satu siklus epitel seminiferus. Spermatogenesis mencit berlangsung selama empat siklus epitel seminiferus, sehingga keseluruhan proses spermatogenesis membutuhkan waktu lebih kurang 35,5 hari. Waktu tersebut terdiri atas 8 hari untuk perubahan sel spermatogonia A menjadi spermatosit primer; 12,5 hari untuk perubahan meiosis spermatosit primer dan sekunder; 9,5 hari untuk fase spermatid; dan 5,5 hari untuk fase pematangan. Spermatogenesis pada mencit pada dasarnya sama seperti pada mamalia lainnya (Rugh 1968).

Spermatogenesis terbagi menjadi tiga tahap utama, yaitu spermatositogenesis, meiosis, dan spermiogenesis. Spermatositogenesis merupakan proses pembelahan mitosis dari sel spermatogonia A menjadi spermatogonia B. Masing-masing spermatogonia B akan bermitosis menjadi spermatosit primer (Burger *dkk.* 1976). Pada tahap kedua, spermatosit primer mengalami pembelahan meiosis menjadi spermatosit sekunder. Spermatosit sekunder segera mengalami pembelahan meiosis membentuk spermatid yang haploid. Maka, tiap

spermatosit primer dapat menghasilkan empat spermatid. Tiap spermatid tersebut kemudian masuk menuju tahap spermiogenesis (Johnson & Everitt 2000).

Spermiogenesis adalah tahap perkembangan spermatid menjadi spermatozoa. Perkembangan tersebut antara lain perubahan bentuk dan komposisi spermatid, dari bulat menjadi bentuk seperti berudu yang memiliki kepala, leher, dan ekor (Moeloeck 1994).

Spermiogenesis pada mencit memiliki 16 tahap berdasarkan perubahan pada akrosom dan nukleus. Tahapan tersebut dibagi menjadi empat fase, yaitu fase golgi (tahap 1-3), fase tudung (tahap 4-7), fase akrosom (tahap-12), dan fase pematangan (tahap 13-16) (Rugh 1968). Setelah spermiogenesis kemudian dilanjutkan ke tahap spermiasi yaitu proses dilepaskannya spermatozoa ke dalam lumen tubulus seminiferus (Yatim 1988).

6. Spermatozoa

Spermatozoa terdiri atas bagian kepala, leher, dan ekor. Panjang keseluruhan spermatozoa mencit kurang lebih 1,226 μm dengan bagian kepala berbentuk kait (Rugh 1968).

Bagian kepala spermatozoa diselubungi oleh tudung protoplasmik atau galea kapitis (Nalbandov 1990). Bagian kepala spermatozoa tersebut terdiri atas inti (nukleus) dan akrosom (Browder 1984). Inti dari kepala

spermatozoa berisi materi genetik (DNA) yang berupa kromatin padat yang terkondensasi selama tahapan spermatogenesis (Ramadhani 2007).

Akrosom mengandung sejumlah enzim yang penting untuk fertilisasi, yaitu enzim hialuronidase, *corona penetrating enzyme* (CPE), dan akrosin. Enzim hialuronidase berfungsi untuk menembus *cumulus oophorus* yaitu lapisan terluar ovum. *Corona penetrating enzyme* (CPE) berfungsi untuk menembus *corona radiata* yaitu lapisan tengah ovum. Akrosin berfungsi untuk menembus zona pelusida yaitu lapisan dalam ovum (Zaneveld & Polakoski 1976).

Spermatozoa mengalami pematangan di epididimis baik secara morfologi, fisiologi, biokimia, maupun metabolisme. Perubahan morfologi antara lain proses hilangnya *cytoplasmic droplet* pada spermatozoa. *Cytoplasmic droplet* adalah sisa sitoplasma yang masih berada di spermatozoa (Hafez & Prasad 1976).

Menurut Purwaningsih (1996), masih adanya *cytoplasmic droplet* menunjukkan spermatozoa tersebut belum matang dan dapat menyebabkan penurunan fertilitas spermatozoa. Perubahan fisiologi antara lain pematangan kemampuan spermatozoa dalam memfertilisasi sel telur. Pematangan tersebut ditandai dengan perubahan bentuk permukaan akrosom dan kapasitas motilitas progresif. Sementara itu, perubahan biokimia yaitu sel prinsipal epididimis menyekresikan lipid dalam fosfolipid yang diperlukan untuk proses pematangan spermatozoa (Hafez & Prasad 1976). Lipid akan dikatabolisme untuk

menjadi sumber energi yaitu *adenosin triphosphate* (ATP) yang berperan dalam pergerakan spermatozoa (Yatim 1988).

7. Konsentrasi spermatozoa

Semen seorang pria dianggap normal apabila konsentrasi spermatozoa > 20 jt/ml. Seorang pria dianggap infertil apabila memiliki jumlah spermatozoa < 20 jt/ml atau dianggap oligozoospermia. Jumlah spermatozoa normal mencit (*Mus musculus* L.) adalah \pm 50 jt/ml (Freund dan Peterson, 1976).

8. Motilitas spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah kualitas gerak spermatozoa yang meliputi tipe pergerakan spermatozoa dan kecepatan gerak spermatozoa (Hartanto 1985). Penilaian motilitas berdasarkan WHO (1988) dilakukan dengan menghitung spermatozoa yang termasuk kategori motil yaitu jika spermatozoa bergerak cepat lurus ke depan, bergerak lambat atau tidak lurus, dan bergerak di tempat. Seorang pria termasuk infertil apabila memiliki persentase motilitas spermatozoa kurang dari 40% atau yang disebut dengan asthenozoospermia (WHO 1988).

Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain : waktu pemeriksaan setelah ejakulasi, waktu antara ejakulasi, temperatur, komposisi ionik, radiasi elektromagnetik, *reactive oxygen species* (ROS), viskositas, pH, tekanan osmotik, aspek imunologi, serta adanya faktor stimulasi dan inhibisi motilitas. Kerusakan spermatozoa yang

disebabkan oleh ROS dapat menghambat reaksi akrosom dan kerusakan ekor yang sangat berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa (Sanocka dan Kurpiz, 2004).

Kadar ROS yang tinggi akan dapat merusak membran mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya fungsi potensial mitokondria yang akan mengganggu motilitas spermatozoa karena energi motilitas sperma disuplai dalam bentuk ATP yang disintesis oleh mitokondria pada badan ekor (Aryosetyo, 2009).

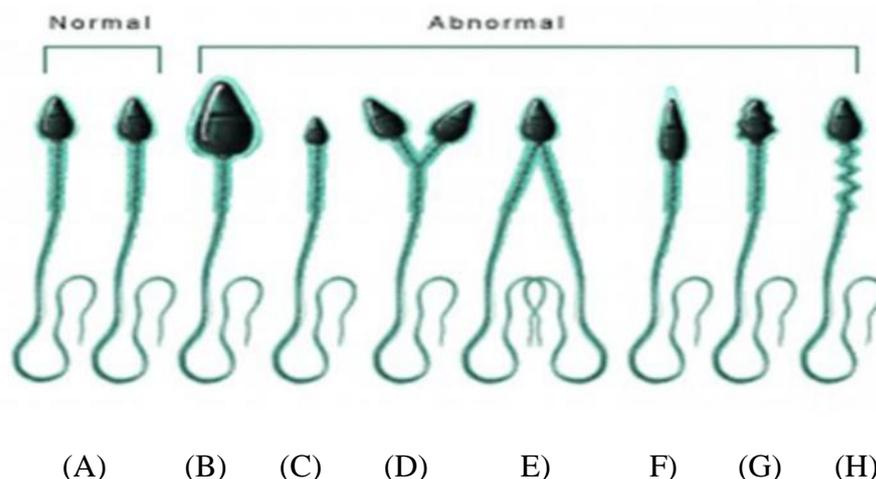
9. Viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah proporsi spermatozoa hidup dalam semen. Penilaian viabilitas dilakukan dengan prinsip pewarnaan supravital yaitu sel mati memiliki membran sel yang rusak sehingga dapat dimasuki zat warna. Banyaknya spermatozoa hidup tetapi tidak motil dapat menunjukkan adanya kelainan struktur pada flagel spermatozoa (WHO 1988).

10. Morfologi spermatozoa

Penyimpangan dari spermatozoa normal dianggap sebagai abnormalitas (Nalbandov 1990). Abnormalitas dapat berupa abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi pada spermatogenesis, antara lain kepala besar, kepala kecil, kepala rangkap, ekor rangkap, dan ekor menggulung. Abnormalitas sekunder terjadi pada proses pematangan di epididimis, antara lain masih terdapatnya *cytoplasmic*

droplet pada spermatozoa. Spermatozoa dianggap fertil apabila memiliki spermatozoa abnormal dibawah 40%. Morfologi spermatozoa normal yang kurang dari 50% disebut teratozoospermia (WHO 1988).



Gambar 4. Bentuk spermatozoa abnormal mencit : a) sperma normal, b) kepala besar, c) kepala kecil, d) kepala dua, e) sperma ekor dua, f) kepala gepeng, g) kepala ada sisa sitoplasma, h) letak ekor abaxial (Ogg *et al.*,2006).

E. Antioksidan

Secara biologis antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkap dan meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat terhambat (Winarsi,2007).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (GSH-Px), katalase dan glutation peroksidase (GSH-Px). Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas yang terbentuk menjadi molekul yang

kurang aktif. Antioksidan sekunder merupakan antioksidan eksogenous atau non ezimatis (Winarsi,2007).

Menurut Soewoto (2001), antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, beta karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Akibatnya radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler (Winarsi,2007). Kelompok antioksidan tersier meliputi system enzim DNA-repair dan metioin sulfoksida reduktase, dimana enzim- enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

F. Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb.var. Rubrum)



Gambar 5. Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb. var Rubrum)
(Dokumentasi pribadi)

1. Klasifikasi jahe merah

Klasifikasi Jahe merah menurut Hapson (2008) adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Monocotyledoneae
Bangsa : Zingiberales
Suku : Zingiberaceae
Marga : *Zingiber*
Jenis : *Zingiber officinale* Roxb.var. Rubrum

2. Morfologi jahe merah

Secara morfologi, tanaman jahe terdiri atas akar, rimpang, batang, daun, dan bunga. Perakaran tanaman jahe merupakan akar tunggal yang semakin membesar seiring dengan umurnya, hingga membentuk rimpang serta tunas-tunas yang akan tumbuh menjadi tanaman baru. Akar tumbuh dari bagian bawah rimpang, sedangkan tunas akan tumbuh dari bagian atas rimpang. Jahe termasuk tanaman tahunan, berbatang semu, dan berdiri tegak dengan ketinggian mencapai 0,75 m. Batang pada tanaman jahe merupakan batang semu yang tumbuh tegak lurus, berbentuk bulat pipih, tidak bercabang tersusun atas seludang-seludang dan pelepah daun yang saling menutup sehingga membentuk seperti batang. Bagian luar batang berkilap dan mengkilap, serta mengandung banyak air, berwarna hijau pucat, dan bagian pangkal biasanya berwarna kemerahan (Suprapti, 2003).

Rimpang jahe termasuk kelas Monocotyledonae, bangsa Zingiberales, suku Zingiberaceae, marga *Zingiber*. Tanaman ini sudah lama dikenal baik sebagai bumbu masak maupun untuk pengobatan (Gholib, 2008).

Akar jahe berbentuk bulat, ramping, berserat, berwarna putih sampai coklat terang. Jahe merah memiliki rimpang kecil, ramping, tidak banyak mengandung air, berwarna merah atau jingga, dan rasanya pedas. Jahe ini juga dikenal dengan sebutan jahe sunti. Kadar minyak atsiri pada jahe pedas di atas 3 ml tiap 100gram rimpang (Lukito,2007).

Berdasarkan hasil penelitian para ahli, baik dari dalam negeri maupun luar negeri, jahe berkhasiat sebagai obat dan mampu memperkuat khasiat obat lain yang dicampurkannya. Ada tiga jenis jahe di Indonesia, yaitu jahe gajah (*Zingiber officinale* var *officinarum*), jahe emprit (*Zingiber officinale* var *amarum*), dan jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*). Salah satu jenis jahe yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan yaitu jahe merah. Hal ini dikarenakan rimpang jahe merah berserat lembut, beraroma tajam, dan berasa pedas meskipun ukuran rimpangnya kecil tetapi memiliki kandungan gizi cukup tinggi (Rukmana, 2000).

3. Kandungan bahan kimia jahe merah

Eksrak jahe merah memiliki kandungan aktivitas antioksidan dan androgenik, serta mampu meningkatkan daya tahan tubuh yang direfleksikan dalam sistem kekebalan inang terhadap mikroba yang masuk ke dalam tubuh, hal ini diakibatkan karena ekstrak jahe dapat memacu proliferasi limfosit dan menekan limfosit yang mati serta meningkatkan aktivitas makrofag, selain itu jahe mampu menaikkan salah satu aktifitas sel darah putih dalam melisiskan sel targetnya yang berupa sel tumor dan sel yang terinfeksi virus (Gufon,2001).

Produk utama tanaman jahe adalah rimpang jahe, yang mengandung oleoresin dan minyak atsiri (Sudarsono, 1996).

Secara umum komponen senyawa kimia yang terkandung dalam jahe terdiri dari minyak menguap (volatile oil), minyak tidak menguap (non volatile oil) dan pati. Minyak atsiri termasuk jenis minyak menguap dan merupakan suatu komponen yang memberi bau khas. Kandungan minyak tidak menguap disebut oleoresin, yakni suatu komponen yang memberikan rasa pahit dan pedas. Jahe merah memiliki aroma yang tajam dan rasa yang sangat pedas. Di dalam rimpang jahe merah terkandung zat gingerol, oleoresin, dan minyak atsiri yang tinggi, sehingga lebih banyak digunakan sebagai bahan baku obat. Efek farmakologis jahe merah dapat memperkuat khasiat bahan lain yang dicampurkan pada proses pembuatan obat (Herlina, 2004).

4. Peran jahe merah terhadap reproduksi

Pada penelitian yang dilakukan oleh Morakinyo A. O dkk. (2008), pemberian ekstrak jahe merah memiliki pengaruh positif pada fungsi reproduksi hewan jantan. Pengaruh tersebut berupa peningkatan jumlah dan motilitas sperma, jumlah testosteron, dan penurunan level malonhydiyaldehyde. Peningkatan berat testis dan epididimis juga terlihat signifikan, sejalan dengan meningkatnya biosintesis androgen yang dibuktikan dengan meningkatnya level testosteron serum pada tikus.

Penelitian yang dilakukan oleh Khaki *et al.*, (2009), jahe memiliki pengaruh yang baik terhadap spermatogenesis dan parameter sperma, pemberian jahe dengan dosis 100mg/kg/hari secara signifikan dapat meningkatkan presentasi sperma, viabilitas, motilitas dan juga total serum testosterone. Rimpang jahe merah mengandung minyak atsiri sekitar 2,58-2,73% berfungsi memberikan efek perlindungan secara dominatif dari kerusakan DNA yang diakibatkan oleh hidrogen peroksida (H₂O₂) serta dapat bertindak sebagai scavenger (penangkap) radikal oksigen (Khaki *et al.*, 2009).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 – Januari 2018. Pemeliharaan hewan uji, penginduksian zat toksik paraquat, pemberian ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. Var Rubrum) serta pembedahan dilakukan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Unila.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit terbuat dari plastik yang ditutup dengan ring kawat, tempat makan dan minum mencit. Alat gelas yang digunakan seperti gelas beaker, Erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, objek glass, alat lain yang digunakan adalah timbangan analitik, tabung reaksi, mikropipet, sonde lambung, mikroskop dan perangkat bedah.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat rata-rata 30-40 gram yang didapat dari Balai Veteriner Lampung (BVet), Bahan lain yang digunakan adalah Ekstrak jahe

merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. Rubrum), aquadest, alcohol murni 96%, NaCl 0,9%, pakan pellet standar, larutan giemsa, eosin Y 0,05% nigrosin, *gramoxone* dan minyak emersi.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan variasi dosis ekstrak jahe merah. Data disajikan dalam bentuk *mean* dan *standard deviation*. Pada penelitian ini jumlah perlakuan yang diberikan adalah 6 perlakuan, besar ulangan yang digunakan adalah 4 ekor mencit perkelompok perlakuan, sehingga besar sampel yang diperlukan untuk percobaan sebanyak 24 ekor mencit pada 6 kelompok perlakuan. Perlakuan dan parameter yang diamati disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan dan parameter yang diamati

Perlakuan		Parameter			
Dosis Paraquat	Konsentrasi ekstrak jahe	Konsentrasi (jt/ml)	Mortalitas (%)	Viabilitas (%)	Morfologi (%)
kontrol	Kontrol				
20 mg/kg BB	-				
20 mg/kg BB	200 mg/kg BB				
20 mg/kg BB	400 mg/kg BB				
20 mg/kg BB	600 mg/kg BB				
-	600 mg/kg BB				

Perlakuan diberikan selama 35 hari berdasarkan siklus spermatogenesis yang berlangsung (Rugh,1968). Pemberian paraquat dilakukan pada hewan uji selama 2 kali dalam 1 minggu (Ortiz, dkk) selama 21 hari pada hari ke-1,4,8,12,16 dan 20. Pemberian ekstrak jahe merah diberikan setiap hari selama 35 hari. Hewan uji dikelompokkan menjadi 4 kelompok setiap kelompok mempunyai perlakuan yang berbeda yaitu :

1. Kelompok perlakuan 1 sebagai kelompok kontrol (H₂O)
2. Kelompok perlakuan 2 diinduksi paraquat dengan dosis 20 mg/kg BB tanpa pemberian bahan uji.
3. Kelompok perlakuan 3 diinduksi paraquat dengan dosis 20 mg/kg BB 2 kali dalam seminggu selama 21 hari dan diberi ekstrak jahe merah sebanyak 6 mg/ml selama 35 hari.
4. Kelompok perlakuan 4 diinduksi paraquat dengan dosis 20 mg/kg BB 2 kali dalam seminggu selama 21 hari dan diberi ekstrak jahe merah sebanyak 12 mg/ml selama 35 hari
5. Kelompok perlakuan 4 diinduksi paraquat dengan dosis 20 mg/kg BB 2 kali dalam seminggu selama 21 hari dan diberi ekstrak jahe merah sebanyak 18 mg/ml selama 35 hari
6. Kelompok perlakuan 5 Hanya diberi bahan uji ekstrak jahe merah sebanyak 18 mg/ml selama 35 hari.

Masing-masing kelompok perlakuan diberi paraquat secara oral.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Kandang

Sebelum penelitian dilaksanakan, terlebih dahulu disiapkan kandang mencit yang terbuat dari bak plastic kemudian ditutupi dengan ring kawat.

2. Pemeliharaan Mencit

Mencit yang digunakan sebagai hewan uji adalah 24 ekor mencit jantan yang berumur kurang lebih 2-3 bulan dengan berat badan kurang lebih 30-40 gram yang diperoleh dari Balai Veteriner Lampung (BVet). Hewan uji kemudian diaklimatisasi selama satu minggu dalam kondisi laboratorium yang bertujuan untuk penyesuaian mencit terhadap lingkungan. Mencit dikelompokkan kedalam 6 kelompok tiap kelompok berisi 4 ekor mencit dan diberi perlakuan sesuai dengan rancangan percobaan.

3. Penyediaan Ekstrak Jahe Merah dan Paraquat

a) Pembuatan dan Penentuan Dosis Ekstrak Jahe Merah

Ekstrak dibuat di Laboratorium Zoologi FMIPA Universitas Lampung. Proses pembuatan ekstrak jahe merah dalam penelitian ini menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Ekstraksi dimulai dari penimbangan jahe merah. Selanjutnya jahe dipotong tipis-tipis, kemudian dibuat serbuk dengan menggunakan blender. Etanol teknis dengan kadar 96% ditambahkan untuk melakukan ekstraksi dari serbuk ini selama 24 jam . Setelah masuk ke tahap filtrasi, akan diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang didapat akan diteruskan ke tahap evaporasi sehingga akhirnya diperoleh ekstrak kental. Dosis normal

jahe merah untuk mencit adalah mencit 400 mg/kgBB (Mdidea, 2007). Pada penelitian ini dosis jahe merah yang digunakan adalah setengah dosis normal, dosis normal, peningkatan dosis normal untuk mengetahui dosis yang paling efektif. Selanjutnya penentuan dosis jahe merah yang digunakan pada mencit dengan berat badan rata-rata 30 gram adalah :

Perlakuan 1

$$\begin{aligned} &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 200 \text{ mg/grBB} \times 30\text{gr} \\ &= 6 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Perlakuan 2

$$\begin{aligned} &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 400 \text{ mg/grBB} \times 30\text{gr} \\ &= 12 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Perlakuan 3

$$\begin{aligned} &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 600 \text{ mg/grBB} \times 30\text{gr} \\ &= 18 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Ekstrak jahe merah diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan dengan cara dicekok (secara oral) menggunakan sonde lambung.

b. Dosis Paraquat

Menurut Ortiz (2016), mencit yang termasuk kelompok perlakuan paraquat diberi *paraquat* dengan dosis 20 mg/kg BB. Mencit yang digunakan pada penelitian ini memiliki berat badan rata-rata sekitar 30 gram sehingga dosis yang diberikan pada mencit dengan berat badan rata-rata 30gram adalah :

Perlakuan

Dosis x Berat Badan

=20 mg/kg BB x 0,03kg

= 0.6 mg/ 30gr BB

Herbisida yang digunakan dipasaran dikenal dengan merk dagang *Gramoxone*. *Gramoxone* mengandung paraquat sebesar 276mg/ml, sehingga untuk mendapatkan 1 ml larutan paraquat dengan dosis 0,6 mg/30gBB diperlukan 0,002 ml gramoxone ditambah aquades sebanyak 0,998 ml.

4. Pembedahan Hewan Uji

Mencit yang telah diberi perlakuan, dibius menggunakan klorofom sebelum dibedah, lalu mencit dibedah dengan menggunakan peralatan bedah kemudian spermatozoa diambil dari *cauda epididimis*. Untuk mendapatkan spermatozoa di dalam sekresi *cauda epididimis* dilakukan menurut (Soehadi dan Arsyad, 1983).yaitu : Setelah 35 hari perlakuan, hari ke-36 masing-masing hewan coba dikorbankan. Kemudian organ *Cauda epididimis* dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 1,0 ml garam

fisiologis 0,9% bersuhu 37-40°C kemudian dipotong dengan gunting kecil sampai halus dan diaduk dengan gelas pengaduk sehingga diperoleh suspensi spermatozoa yang homogen. Suspensi spermatozoa yang diperoleh dapat digunakan untuk analisis kuantitas dan kualitas spermatozoa.

5. Analisis Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa

a. Konsentrasi Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dihitung dengan menggunakan bilik hitung *improved Neubauer* (hemositometer). Suspensi spermatozoa yang telah diencerkan dengan 1 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) diambil 10 μ L kemudian diletakkan ke dalam bilik hitung (hemositometer), setelah itu ditutup dengan gelas penutup. kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400. jumlah spermatozoa dihitung dengan rumus :

jumlah sel/mL = jumlah spermatozoa (n) x 10^4 x pengenceran. (Bijanti *et al.*, 2002; Soehadi dan Arsyad, 1982; Wirawan *et al.*, 1988)

b. Motilitas Spermatozoa

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 400 \times , motilitas spermatozoa dikelompokkan ke dalam kategori sel spermatozoa (A), bergerak dan (B), tidak bergerak, (Astuti, 2009). Persentase motilitas itu dihitung berdasarkan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{A}{A + B} \times 100\%$$

c. Morfologi Spermatozoa

Satu tetes suspensi sperma ditetaskan pada kaca objek, lalu dibuat sediaan oles dengan menggeserkan kaca objek lain di atasnya, setelah itu dikeringanginkan, lalu difiksasi dengan metanol 96% selama 5 menit dan diwarnai dengan larutan giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan air mengalir. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Morfologi spermatozoa abnormal dapat diketahui dengan menghitung 100 spermatozoa. Spermatozoa mencit normal terdiri atas bagian kepala (*caput*) yang bentuknya bengkok seperti kait, bagian tengah (*middle piece*) yang pendek, dan bagian ekor (*cauda*) yang sangat panjang. (Astuti,2009).Persentase morfologi spermatozoa:

$$\frac{A}{A + B} \times 100\%$$

Keterangan:

A: jumlah morfologi abnormal

B: jumlah morfologi normal

d. Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan mengambil 1 tetes suspense sperma, kemudian ditetaskan pada gelas objek kemudian dicampurkan larutan eosin negrosin. Apusan tipis dibuat secara merata, kemudian dikering anginkan. Viabilitas sperma dihitung menggunakan

mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x berdasarkan jumlah sperma utuh yang tidak menyerap warna (jernih) dibagi jumlah total sperma lalu dikali 100% (Astuti,2009).

$$\frac{\text{Jumlah sperpatozoa hidup}}{\text{Jumlah sperpatozoa hidup + Mati}} \times 100\%$$

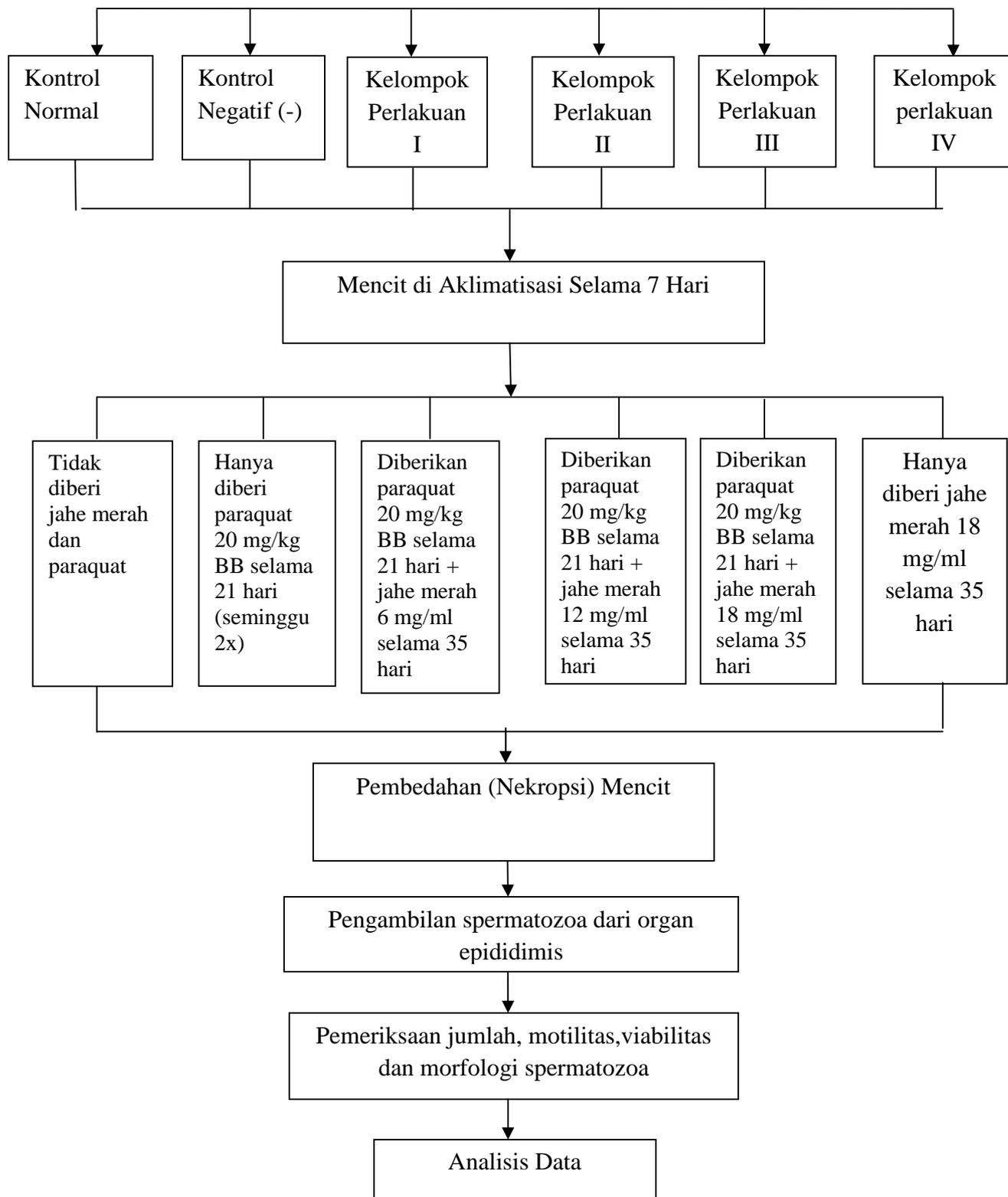
E. Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang telah diinduksi paraquat secara oral selama 21 hari dan pemberian ekstrak etanol jahe merah selama 35 hari.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (Anova, $\alpha = 0,05$) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur, Apabila terdapat perbedaan nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji *post hoc* LSD (*least significant different*) dengan nilai signifikasi $p < 0,05$. (Sokal & Rohlf, 1996).

G. Diagram Penelitian



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- a) Ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* roxb Var. Rubrum) dapat memperbaiki jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi paraquat diklorida.
- b) Ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* roxb Var. Rubrum) dapat memperbaiki viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi paraquat diklorida.
- c) Ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* roxb Var. Rubrum) dapat memperbaiki motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi paraquat diklorida.
- d) Ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* roxb Var. Rubrum) dapat memperbaiki morfologi abnormal spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) dari kerusakan akibat induksi paraquat diklorida.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan mengamati lebih lanjut toksisitas pada variabel lainnya seperti gangguan perkembangan janin. mencit yang diinduksi paraquat diklorida.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan mengamati toksisitas dan efektivitas jahe merah pada kualitas dan kuantitas sel spermatozoa mencit (*Musmusculus L.*) tua dan muda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahi, M., A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar, A. Rezaie. 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit* 10 (6):141-147
- Afaf A, El-Kashoury F, Afrah SI, Adel S, Rania A. 2009. Animal model study of reproductive toxicity of the chronic exposure of dicofol. *Life Sci.* 6(3):33-41
- Aitken, R.J. and S. Garner. 2001. Oxidative Stress, DNA Damage and Y Chromosome. *J. Reproduction.* 122(4): 497-506.
- Aladakatti, R.H., R.N. Ahmed, and G. Ghoseawar. 2002. Sperm Parameters Changes Induced by *Azadirachta indica* Root on Albino Rat. *J. Basic and Clin Physiol. Pharmacol.* 12(1):3-9.
- Ali, BH., Blunden G., Tanira MO., Nemmar A. 2008. Some Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Properties of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food Chem Toxicol* (46) hal 409–420.
- Arafa A, Mie A, Nervana S. 2013. Evaluation of adverse health effects of pesticides exposure [biochemical & hormonal] among Egyptian Farmers. *J App Sci Res.* 9(7):4404-9
- Arrington, L.R. 1997. *Introductory Laboratory Animal Science, The Breeding, Care and Management of Experimental Animal.* The Interstate Printers and Publishers. Danville.
- Astuti, A. 2009. *Profil Antioxidant Copper, Zinc-Superoxide Dismutase (Cu, Zn, dan SOD) Pada tubuli Seminiferi Testis Tikus Yang Diberi Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn), dan Vitamin E.* http://lemlit.Unila.ac.id/file_arsip 2010. Prossiding Dies Natalis Sussi Astuti FP. Pdf. Diakses September 2017.
- Bagchi, K., S.Puri. 1998. Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan dan Penyakit. *Kesehatan Mediterania Jurnal Timur.* 4:350-360.

- Burger, H.G., D.M. de Kretser, & B. Hudson. 1976. Spermatogenesis and its endocrine control. *Dalam: Hafez, E.S.E. (eds.). 1976. Human semen and fertility regulation in men.* The C.V. Mosby Company, Saint Louis: 3-16.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. 2004. *Biologi*. Terj. dari *Biology*, oleh W. Manalu. Penerbit Erlangga, Jakarta: xxi + 501 hlm
- Dalaen, S.M.A and Aiman, I.Q. 2014. Oxidative stress versus antioxidants. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2(5):60-71
- Eberhardt, M.K. 2001. *Reaction of Reactive Oxygen Metabolites with Important Biomolecules*. In : *Reactive Oxygen Metabolites. Chemistry and Medical Consequences*. CRC Press. London.
- Ebrahimi M and Shamabadi N. 2007. Endocrine disrupting chemicals in pesticides and herbicide in Fars Province, Iran. *Pakistan J Bio Sci* ;10:3175-79
- Eddy, E.M. 1988. Duct system and accessory glands of the male reproductive tract. *Dalam: Lamb, J.C. & P.M.D. Foster (eds.). 1988. Physiology and toxicology of male reproduction.* Academic Press Incorporation, San Diego: 35--69.
- Faranita, Olivia Vina. 2009. Kualitas Spermatozoa pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Militus. *Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah*. Tidak Diterbitkan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Fitriana, R. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Roxb var *Rubrum*) terhadap Motilitas dan Morfologi Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Strain Sprague Dawley yang Dipapar Asap Rokok. Artikel Ilmiah. Universitas Lampung. Lampung.
- Franco, R., R.S Olea , E.R. Reyes, M.I. Panayiotidis. 2009. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: ménage a trios. *Mutation Research*. 674 (2009):3-22
- Fukushima, T., k. Tanaka, H. Lim, M. Moriyama. 2002. Mechanism of cytotoxicity of paraquat. *Environmental Healt and Preventive Medicine* . 7: 89:94
- Gawarammana, I.B and N.A Buckley. 2011. Medical management of paraquat ingestion. *Br J Clin Pharmacol*. 72 (5):745-57
- Gazali, Muhammad dan Tambing, Surya N. 2002. Ulasan Kriopreservasi Sel Spermatozoa. *Jurnal Hayati*. 9 (1):27-32

- Gholib, I. 2008. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* ginjal *Ratus Novergicus* yang dipapar Herbisida Paraquat (skripsi). Malang. Universitas Brawijaya
- Ginting AW, Endang, Marpaung S, Ginting F, Kembaren T, Rahimi A, Ginting J.); 2012. Intoksikasi Herbisida Paraquat. IKAAPDA (Ikatan Keluarga Asisten Penyakit Dalam.
- Guyton, Arthur. 1994. *Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan Dharma Adji dan Lukmanto. EGC. Jakarta
- Hadad E.A., N. Bermawie., B. Martono., N. Ajijah., dan S.F. Syahid. 2003. Status Pemuliaan Tanaman Jahe. Perkembangan Teknologi TRO. Volume XV. Nomor 2. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Hafez, E.S.E. & Prasad. 1976. Functional aspects of the epididymis. *Dalam: Hafez, E.S.E. (ed.). 1976. Human semen and fertility regulation in men.* The C.V. Mosby Company, Saint Louis: 31-43.
- Hapson, H.Y. dan E. Julianti. 2008. *Budidaya dan Teknologi Pascapanen Jahe*. USU Press, Medan, hal. 1,3.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada ternak. Penerbit Laboratorium Ilmu Kemajiran Jurusan Reproduksi dan Kebidanan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya Hal 61-72 ; 177-179 ; 299-300.
- Hariana, H. 2006. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Seri Agrisehat. Seri 1, hal 135. Wibisono, M. 2001. Pemanfaatan Vitamin C untuk Meningkatkan Jumlah Spermatozoa pada *Mus musculus* yang Dipapar Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Med.Medika*. Fakultas Kedokteran. Juli- September 2002. Universitas Brawijaya No.3 (20).
- Hartamto, H. 1985. Analisis semen. *Dalam: Moeloek, N. & A. Tjokronegoro (eds.). 1985. Proses produksi, kesuburan, dan seks dalam perkawinan.* Balai Penerbit FKUI, Jakarta: 161-167.
- Herlina, R. 2004. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah si Rimpang Ajaib*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta
- Herrero M.B. dan C. Gagnon. 2001. Urology riset arch laboratory royal victoryal. Canada Jurnal of andrology vol. 2 dan 3 on 2001
- Indika G and Buckley. 2011. Medical management of paraquat ingestion. British Journal of Clinical Pharmacology: University of New South Wales, Sydney, Australia. Tersedia dari :<http://www.nebi.nlm.nih.gov/>. Diakses tanggal 02 februari 2018.

- Iudiana V. Pengaruh Bentonit terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) jaringan Johnson, M.H. & B.J. Everitt. 2000. *Essential reproduction*. 5th ed. Blackwell Science, Oxford: xvi + 285 hlm.
- Julianto. Pemerintah perketat pengawasan pestisida terbatas . Tabloid Sinar Tani. 01 Mei 2016 [http://m.tabloid sinartani.com](http://m.tabloid.sinartani.com).
- Junquiera, L.C. & J. Carneiro. 1980. *Basic histology*. 3rd ed. Lange Medical Publication, Canada: xiii + 504 hlm.
- Kamtchouing, P., Mbongue, G.Y., Dimo, T. dan Jatsa, H.B. 2002. Evaluation of androgenic activity of *Zingiber officinale* and *Pentadiplandra brazzeana* in male rats. *Asian J. Androl.* 4(4): 299
- Karim D. Pengaruh paparan asap rokok elektrik terhadap motilitas, jumlah sperma dan kadar MDA testismencit (*Mus musculus L.*) [tesis]. 2013. Universitas Sumatera Utara. Medan 2013:1,60-1.
- Khaki, A., Fathiazad F., Nouri M., Khaki AA., Ozanci CC., Novin MG., dkk. 2009. The Effect of ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* (7) (1) pp 7 – 12.
- Kikuzaki, H.K dan Nakatani, N. 1993. Antioxodant Effects of Some Ginger Constituents. *Journal of Food Sciens.* 58(6): 1407-1410
- Kishi, Hirschhorn, Djajadisastra, Satterlee, Strowman, Dilts. 1993. Relationship of Pesticide Spraying to Sign and Symptoms in Indonesia Farmers. *Scand J. Work Environment Health*.
- Kothari, S., A. Thompson, A. Agarwal, dan S. Plessis. 2010. Free Radical: Their Beneficial and Detrimental Effects on Sperm Function. *Indian Journal of Experimental Biology.* 48: 425-435.
- Kumalaningsih, Sri. 2007. *Antioksidan Alami*. Trubus Agrisarana. Surabaya:
- Kumar, V., A. Abbas, and N. Fausto. 2005. *Hypertensive Vascular Deases: Phatologic basic of Deases*. Elseviers sanders. Philadelphia.
- Ledoh, S.M.F., Hermania, E.W. dan Siti, A.S.A. 2010. Laju Adsorpsi dan Desorpsi Paraquat pada Tanah Pertanian Desa Oesao Kecamatan Kupang Timur, Jurusan Kimia, Fakultas Sain dan Teknik Universitas Nusa Cendana, Kupang-NTT, *Molekul*, 5 (1): 1 – 9.
- Leesson, C.R., T.S. Leeson, & A.A. Paporo. 1996. *Buku ajar histology*. Ed. Ke-5. Terj. dari *Textbook of Histology*. 5th ed., oleh Tambajong.J. & Wonodirekso (eds.). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta: ix + 622 hlm.

- Lemaire G, Terouanne B, Mauvais P, Michel S, Rahmani R. 2004. Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation *in vitro*. *Toxicol App Pharm*;196:235-46
- Levine, R. 1991 Recognized and Possible Effects of Pesticides in Human. In: *Handbook of Pesticides Toxicology*. Hayes, JW ed & Laws, ER ed. Pp 318- 343. Academic Press Inc. California.
- Lukito, A. M. 2007. *Petunjuk Praktis Bertanam Jahe*. Agromedia Pustaka. Jakarta. Malole, M.B. dan C.S.U. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di laboratorium*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Sotp AM. 2003. Mammalian development in a changing environment: Exposure to endocrine disruptors reveals the development plasticity of steroid hormone target organs. *Evol Dev* ;5:67-75
- Moeloek, N. 1994. Sistem reproduksi jantan/pria. *Dalam: Syahrums, M.H., Kamaludin, & A. Tjokrenegoro (eds.). 1994. Reproduksi dan embriologi: Dari satu sel menjadi organisme*. Balai Penerbit FKUI, Jakarta: 9-16.
- Morakinyo, A.O., Adeniyi O.S., and Arikawe. 2008. Effect of Zingiber officinale on Reproductive Functions in the Male Rat. *African Journal of Boomedical Research*. 11:329-334
- Nalbandov, A.V. 1990. *Fisiologi reproduksi pada mamalia dan unggas*. Ed. ke-3. Terj. dari *Reproductive physiology of mammals and birds*, oleh Keman, S. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta: xx + 378 hlm.
- Neeraj, J.P.,S. Singh. 2013. Role of free radicals and antioxidants in human health and disease. In *Cur Rev*.5(19):14-22
- Ngatidjan dan Mustofa. 2006. *Toksikologi: Racun, Keracunan, dan Terapi Keracunan*. Edisi 1. Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Noori, S.2012. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. *Open Acces Scientific Reports*. 1(8):1-9
- Nugraheni, T., O.P. Astirin, & T. Widiyanti. 2003. Pengaruh vitamin C terhadap perbaikan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) setelah pemberian ekstrak tembakau (*Nicotiana tabacum L.*). *Biofarmasi* 1(1): 13-19
- O'Mailey, M. 2007. *Pesticides*. In *Current Occupational & Environmental Medicine*. Pp 544. 4th Ed. Ladou, J. Ed Mc Graw Hill Medical. California.

- Ogg CL & L.D.Schulze.2006.*Managing the risk of pesticide poisoning and understanding the sign and symptoms*. The board of regents of the university of Nebraska on behalf of the University of Nebraska-Lincoln extention. Nebraska, United States of America.
- Oliviera, R.J.D., J.A. Duarte, A.S. Navarro, F. Remiao, M.L. Bastos, F. Carvalho. 2008. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features and treatment. *Clinical Reviews in Toxicology*. 38: 13-71
- Ortiz, M.S., KM, Forti, E.B.S. Martinez, L.G. Munoz,k. Husain, W.H. Muniz. 2016. Effectts of antioksidant N-acetylcysteine against paraquat induced oxidative stress in vital tissues of mice. *Int J Sci Basic Appl Res*. 26 (1): 26-46
- Pedersen, H. & D.W. Fawcett. 1976. Functional anatomy of the human spermatozoon. *Dalam: Hafez, E.S.E. (eds.). 1976. Human semen and fertility regulation in men*. The C.V. Mosby Company, Saint Louis: 65-75.
- Peduto,V.A., R. D'uva, M. Piga. 1996. Carbamate and Organic Phosphorus Poisoning. *Minerva Anesthesiol*. 62:33-54.
- Purwaningsih, E. 1996. Morfologi spermatozoa: Adakah kaitannya dengan keberhasilan kehamilan? *Jurnal Kedokteran YARSI* 4(1): 54-63.
- Raji Y, Udoh US, Mewoyaka OO, Ononye FC, Bolarinwa AF. 2003. Implication of reproductive endocrine malfunction in male antifertility efficacy of *Azadirachta indica* extract in rats. *Afri. J. Med.Med.Sci* 32:159-165.
- Ramadhani, D. 2007. Pengaruh pemberian ekstrak *Pimpinella pruatjan* Molkenb. (Purwoceng) fraksi kloroform secara oral terhadap kualitas spermatozoa *Mus musculus* L. (mencit) jantan galur DDY. Skripsi S-1. Departemen Biologi FMIPA-UI, Depok: xi + 93 hlm.
- Riadi M. 2011. Bahan ajar kuliah: Herbisida dan aplikasinya. Makassar: Universitas Hasanudidn.
- Ross, M.H., L.J. Romrell, & G.I. Kaye. 1995. *Histology: A text and atlas*. 3rd ed. Williams & Wilkins Publisher, Baltimore: xiii + 823 hlm.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its reproduction and developmental*. Burgess Publishing Company, Minneapolis: iv + 430 hlm.
- Rukmana, R. 2000. *Usaha Tani Jahe*. Kanisius. Yogyakarta.
- Safarinejad, M.R., K. Azma, and A.Kohali.2009. The Effects of Intensive, Long-Term Treadmill Running on Reproductive Hormones, Hypothalamus Pituitary-Testis Axis, and Semen Quality: A Randomized Controlled Study. *J. of endocrine*. Vol 200(3):259-271

- Sanocka, D. & M. Kurpisz. 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2:12.
- Sekiwa Y, Kubota K, Kobayashi A. 2000. Isolation of novel glycosides from ginger and their antioxidative activity. *J. Agr. Food Chem.*, 8: 373-379.
- Septiana. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe (*Zingiber Officinale* Rosc) Pada Asam Linoleat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 9 (2): 105-110
- Soewoto, H. 2001. *Antioksidan Eksogen Lini Pertahanan Kedua dalam Menanggulangi Peran Radikal Bebas. dalam: Materi Kursus Penyegar Radikal Bebas dan Antioksidan dalam kesehatan: Dasar, Aplikasi dan pemanfaatan Bahan Alam.* Fakultas Kedokteran UI. Jakarta
- Srivastava, S., Desai, P., Coutinho, E. and Govil, G. 2006. Mechanism Of Action Of Arginine On The Vitality Of Spermatozoa Is Primarily Through Increased Biosynthesis Of Nitric Oxide. *Tata Institute of Fundamental Research.India.*(74) hal 954-958.
- Sriyani ,N. and Salam, A.K.2008. Penggunaan metode bioassay untuk mendeteksi pergerakan herbisida pascatumbuh paraquat dan 2,4-D dalam tanah. *J. Tanah Trop* 13(3):199-208
- Sukmaningsih A. 2009. Penurunan jumlah spermatosit pakiten dan spermatid tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*) yang dipaparkan asap rokok. *Jurnal Biologi.*12:31-2.
- Suntres, Z.E. 2002. Role of antioxidants in paraquat toxicity. *Toxicology.*180:65-77
- Suprapti, L. 2003. *Tepung Ubi Jalar, Pembuatan, dan Pemanfaatannya.* Kanisius.Yogyakarta.
- Susilowati, suherni. 2008. Komplek Insulin Like Growth Factor-1 Mempengaruhi Membran Plasma Uterus dan Kadar Melondealdehid Spermatozoa. *Jurnal Viteriner.* 9 (4) : 168-175
- Sutarina, N.,T Edward. 2004. Pemberian Suplemen pada Olahraga. *Majalah Giz Mindo.* Vol. 3(9) 14-15
- Suwastika, I. 2009. Faktor Lingkungan, Hyegine Perorangan, Perilaku Penggunaan Pestisida dan Tingkat Keracunan pada Petani Jeruk di Kabupaten Timor Tengah Selatan. *Tesis.* Program Studi Ilmu Kesehatan Kerja Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Toelihere, M.R. 1979. *Fisiologi reproduksi pada ternak.* Penerbit Angkasa, Bandung: 327 hlm.

- Tremellen, K. 2008. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Human Reproduction update*. 14(3):243-258
- WHO (=World Health Organization). 1988. *Penuntun laboratorium WHO untuk pemeriksaan semen manusia dan interaksi semen-getah servik*. Terj. dari *WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction*, oleh Tadjudin, M.K. Balai Penerbit FK UI, Jakarta: xiv + 81 hlm.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta
- World Health Organization. 2008. *Children's health and environment. WHO Training Package for the Health Sector*. Tersedia dari: www.who.int/ceh. Diakses tanggal 10 September 2014.
- Yatim, W. 1988. Efek anti-fertilitas gossipol dan gula berkhlor terhadap tikus jantan (*Rattus novergicus*) dan implikasi prospeknya sebagai kontraseptif pria. Disertasi S3 Universitas Padjajaran, Bandung: xxiii + 432 hlm.
- Yoshikawa, T. and Naito, Y. 2002. What is oxidative stress? *JMAJ*.45 (7). 271:276
- Yuwono. 2009. *Mencit Strain CBR Swiss derived*. Pusat Penelitian Penyakit Menular Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Zaneveld, L.J.D.& K.L. Polaskoski. 1976. *Biochemistry of human spermatozoa*. Dalam. Hafez, E.S.E. (eds).1976. *Human semen and fertility regulation in men*. The C.V. Mosby Company, Saint Louis :167- 175