

Pengaruh Semangka (*Citrullus vulgaris* Schrad.) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Dipaparkan Asap Rokok

¹Maya Stia Ningrum, ²Rudy Agung Nugroho, ²Sudiastuti

¹Laboratorium Fisiologi, Perkembangan dan Molekuler Hewan, Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Mulawarman

²Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Mulawarman

*Corresponding Author: rudysatriana@yahoo.com

Abstrak Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis optimum 1365 mg/kgBB, 2730 mg/kgBB dan 4095 mg/kgBB semangka dalam meningkatkan kualitas spermatozoa mencit (jumlah, motilitas dan morfologi) yang dipaparkan asap rokok. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Subyek penelitian sebanyak 35 ekor mencit jantan yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok: kelompok K(-) tidak diberi perlakuan, kelompok K(+) dipaparkan asap rokok 2 batang/hari, kelompok P1 dipaparkan asap rokok 2 batang/hari dan semangka dosis 1365 mg/kg BB, kelompok P2 dipaparkan asap rokok 2 batang/hari dan semangka dosis 2730 mg/kg BB, kelompok P3 dipaparkan asap rokok 2 batang/hari dan semangka dosis 4095 mg/kg BB. Perlakuan diberikan selama 35 hari. Hasil kualitas spermatozoa yang diperoleh disajikan dalam bentuk Mean \pm Standar Error (SE) dengan uji ANOVA dan untuk melihat beda nyata tiap perlakuan menggunakan uji DMRT pada taraf kepercayaan 95%. Berdasarkan hasil penelitian terjadi penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa ($p>0,05$) serta peningkatan morfologi abnormalitas spermatozoa ($p<0,05$) antara kelompok K(-) dengan kelompok K(+). Setelah diberi variasi dosis semangka terjadi peningkatan jumlah dan motilitas spermatozoa serta penurunan morfologi abnormalitas spermatozoa. Pemberian buah semangka terhadap mencit mampu meningkatkan kualitas spermatozoa meliputi peningkatan jumlah dan motilitas, serta penurunan morfologi abnormalitas spermatozoa mencit yang dipaparkan asap rokok seiring dengan pemberian dosis buah semangka secara bertingkat. Dosis optimum buah semangka terdapat pada kelompok P3 dengan pemberian semangka dosis 4095 mg/kg BB.

Kata-kata kunci Rokok, semangka, mencit, kualitas spermatozoa.

Pendahuluan

Merokok merupakan bahaya kesehatan yang diakui secara luas dan merupakan penyebab utama kematian. Akan tetapi, banyak orang tetap memilih untuk merokok. *The Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) melaporkan bahwa sekitar 45 juta orang dewasa merokok pada tahun 2012 (Agaku *et al.*, 2014). Setiap satu batang rokok yang dibakar akan menghasilkan sekitar 4000 macam bahan kimia, diantaranya bersifat toksik seperti tar dan nikotin (Fowles & Bates, 2000). Zat dalam rokok ini masuk ke dalam tubuh melalui asap rokok dan akan langsung tersebar hampir ke seluruh tubuh melalui peredaran darah (Padmaningrum, 2007).

Penelitian mengenai efek rokok terhadap sistem reproduksi oleh Unittly *et al.*, (2014) menunjukkan adanya penurunan konsentrasi spermatozoa, viabilitas spermatozoa, peningkatan abnormalitas spermatozoa dan penurunan jumlah sel-sel spermatogenik sel tikus yang dipaparkan rokok. Merokok merupakan radikal bebas

yang menyebabkan banyak kerusakan jaringan pada tubuh, maka tubuh manusia memerlukan penangkalnya yaitu antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Cornelli, 2009). Jadi, dengan mengkonsumsi antioksidan tentu dapat membantu melindungi tubuh dalam meredam dampak negatif radikal bebas sehingga dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari luar yaitu buah semangka (Khoo *et al.*, 2011). Semangka memiliki salah satu kandungan antioksidan semangka yaitu likopen. Menurut Rao (2003), likopen sedang dipertimbangkan sebagai salah satu alternatif yang digunakan sebagai bahan fungsional karena merupakan bagian dari makanan yang memiliki efektifitas dalam pengobatan atau kesehatan, termasuk untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Penelitian dengan menggunakan likopen terhadap sistem reproduksi diantaranya oleh Tamilselvan *et al.*, (2013) bahwa likopen positif membawa

aktivitas antioksidan dan dapat mengeluarkan racun atau zat-zat yang bersifat racun di dalam tubuh akibat pemberian radikal bebas terhadap infertilitas pria. Penambahan likopen dalam air minum juga dapat meningkatkan produksi air mani, volume dan jumlah spermatozoa (Mangiagalli *et al.*, 2012).

Mengacu pada kandungan likopen dalam buah semangka maka penulis ingin membuktikan bahwa semangka dapat memperbaiki kualitas spermatozoa diantaranya jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa mencit jantan yang dipaparkan asap rokok.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober - November 2015. Pemeliharaan, perlakuan hewan uji, dan pengukuran kualitas spermatozoa dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Perkembangan dan Molekuler Hewan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Samarinda

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu kandang mencit, botol air minum, *smoking chamber* (tempat pemaparan asap rokok), neraca analitik Suntikan 10ml yang dimodifikasi dengan karet penghisap, kanul, jarum suntik 1ml (spuit), blender Philips, saringan, gelas ukur, *dissecting set*, *beaker glass*, batang pengaduk, cawan petri, *cover glass*, *obyek glass*, pipet tetes, sarung tangan, masker, pipet leukosit, bilik hitung thoma/*haemocytometer*, *handcounter*, nampan baki, mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu mencit jantan berumur 6-8 minggu sebanyak 25 ekor, air minum, pelet komersial PAR-G, sekam kayu, semangka, rokok kretek DJI SAM SOE (tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg), alkohol 70%, NaCl 0,9%, larutan Giemsa, kapas dan tisu.

Pemeliharaan Hewan Uji

Sebelum melakukan perlakuan semua mencit diadaptasikan selama satu minggu dan di tempatkan dalam kandang yang ditutup dengan kawat dan diberi sekam kayu. Pemberian pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Setelah proses pemeliharaan selama 7 hari selesai, mencit diambil secara acak dan dimasukkan dalam

lima kelompok. Satu kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberi perlakuan hanya diberi pakan dan minum, dan satu kelompok kontrol positif (K+) diberi paparan asap rokok 2 batang/hari, sedangkan tiga kelompok perlakuan diberi paparan asap rokok 2 batang/ hari dan semangka dengan dosis 1365 mg/kg BB, 2730 mg/kg BB & 4095 mg/kg BB.

Pembuatan Jus Semangka

Semangka segar dicuci bersih untuk menghilangkan berbagai kontaminan pada kulit buahnya, kemudian dipotong dan diambil daging buahnya untuk selanjutnya ditimbang sesuai dosis perlakuan masing-masing. Semangka yang telah sesuai dosis diblender dan di saring untuk memisahkan air dan ampasnya. Air semangka yang telah terpisah kemudian di berikan pada hewan uji.

Pengujian Paparan Asap Rokok dan Semangka

Diletakkan mencit pada *smoking chamber* (sebuah kotak yang dimodifikasi dengan 1 lubang sebagai jalan masuk asap rokok yang dipompakan dengan alat pompa asap rokok). Diberi pemaparan asap rokok 2 batang/hari pada pagi hari. Setelah pemberian paparan asap rokok kemudian dilanjutkan dengan pemberian jus semangka pada kelompok P1, P2 dan P3. Jus semangka yang telah disiapkan dimasukkan sesuai dosis ke dalam suntikan yang telah dilengkapi kanul (jarum oral). Mencit dipegang dengan cara menjepit kulit tengkuk mencit dan ekornya sehingga posisi mencit lurus. Selanjutnya masukkan kanul ke mulut sehingga cairan jus semangka tersebut dapat dimasukkan.

Pemeriksaan Spermatozoa Mencit Pembuatan Larutan Stok Spermatozoa

Pada hari ke 36 mencit dibedah dan diambil bagian cauda epididimis. Cauda epididimis yang telah dipisahkan diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi 1 ml NaCl 0,9%. Cauda epididimis kemudian dipotong-potong dengan gunting sampai halus dan diaduk agar tersuspensi dengan NaCl 0,9% sehingga terbentuk suspensi spermatozoa. Suspensi spermatozoa yang telah dibuat dapat digunakan untuk pengamatan kualitas spermatozoa yang meliputi jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa (Batubara *et al.*, 2013).

Pemeriksaan Jumlah Spermatozoa

Dihisap suspensi spermatozoa yang telah disiapkan dengan pipet leukosit sampai tanda 0,5 selanjutnya dihisap larutan NaCl 0,9% sampai garis tanda 11. Kocok pipet selama 15-30 detik atau sampai homogen. Teteskan suspensi tersebut pada bilik hitung *haemocytometer* yang sebelumnya telah ditutup *cover glass* dan gunakan untuk perhitungan. Hitung jumlah spermatozoa pada bidang A,B,C dan D pada bilik hitung *haemocytometer* dengan mikroskop perbesaran 400 kali. Jumlah hasil perhitungan dikali 50 dengan satuan mm^3 .

Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa

Diamati pergerakan spermatozoa pada 4 bidang pandang *haemocytometer*. Setelah dijumpai 100 sperma motil kemudian dihitung persentasenya dengan kategori sebagai berikut: kategori A: spermatozoa tidak bergerak sama sekali (mati), kategori B: spermatozoa bergerak ditempat, kategori C: spermatozoa bergerak kedepan dengan kecepatan sedang atau berputar-putar di tempat, kategori D: spermatozoa bergerak cepat lurus ke depan. Berdasarkan standar penilaian WHO, spermatozoa dikatakan normal bila persentase sperma kategori C dan D lebih besar atau sama dengan 50%. Sehingga dalam penelitian ini hanya persentase spermatozoa kategori C dan D yang dinilai yaitu dengan menjumlahkan sperma kategori C dan D kemudian dibagi dengan banyaknya spermatozoa yang diamati dan dikalikan 100%

Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa

Di ambil beberapa tetes suspensi spermatozoa dan di letakkan pada *obyek glass*. Selanjutnya *obyek glass* penutup diletakkan di atas *oyjek glass* pertama, usapkan dengan menarik *obyek glass* penutup ke samping membentuk sudut 45° kemudian di kering anginkan. Setelah kering, preparat difiksasi dengan alkohol 70% dan dikering anginkan kembali kemudian diberi pewarna giemsa selama 15 menit. Preparat kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan.

Pemeriksaan morfologi spermatozoa dilakukan dengan mengamati preparat ulas dengan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Penghitungan spermatozoa dilakukan dengan mengamati kelainan morfologi pada 100 sel sperma dan dihitung persentasenya.

Spermatozoa dikatakan abnormal apabila terdapat satu atau lebih bagian spermatozoa yang abnormal (Kepala, badan dan ekor) (Batubara *et al.*, 2013); (Pebrianti, 2013).

Analisis Data

Data jumlah, motilitas spermatozoa yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan ANAVA (*Analysis of Variance*) satu arah menggunakan program SPSS versi 22.0, SPSS., Inc., USA pada taraf uji kesalahan 5%. Apabila dijumpai adanya beda nyata antar kelompok perlakuan ($P < 0,05$), maka analisis akan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan jumlah, motilitas dan morfologi abnormalitas spermatozoa menunjukkan hasil yang signifikan setelah pemberian semangka dengan dosis bertingkat. Jumlah dan motilitas spermatozoa kelompok K(+) lebih rendah ($p > 0,05$) daripada kelompok K(-). Sebaliknya, morfologi abnormalitas spermatozoa mencit (K+) lebih tinggi ($p < 0,05$) daripada kelompok mencit (K-). Namun, setelah diberi variasi dosis semangka, terjadi peningkatan jumlah dan motilitas spermatozoa dan penurunan morfologi abnormalitas spermatozoa seiring dengan bertambahnya dosis semangka (P1, P2 dan P3). Jumlah dan motilitas spermatozoa tertinggi ($p < 0,05$) serta morfologi abnormal spermatozoa terendah ($p < 0,05$) terdapat pada kelompok P3 yang diberi paparan asap rokok dan semangka dosis 4095 mg/kg BB.

Penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa terjadi karena radikal bebas dalam asap rokok yang meningkat pesat. Asap rokok termasuk ROS jenis lipid peroksida sehingga mekanisme asap rokok mengganggu spermatogenesis yaitu dengan proses peroksidasi lipid pada membran sel (Kardi, 2015). Terbentuknya peroksidasi lipid pada membran sel menyebabkan membran sel kehilangan fungsinya dan merusak organisasi membran sel, mengakibatkan hilangnya fungsi seluler sel secara total. Kerusakan pada membran sel akibat stres oksidatif menyebabkan kerusakan pada membran sel Leydig dan sel Sertoli.

ISBN: 978-602-72658-1-3

Tabel 1. Nilai Rerata (Mean±SE) Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Pemberian Semangka (*Citrullus vulgaris* Schrad.) dengan variasi dosis selama 35 hari.

| Variabel | Kelompok | | | | |
|----------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | K(-) | K(+) | P1 | P2 | P3 |
| Jumlah spermatozoa (mm ³) | 31330,00 ± 1294,855 ^a | 18990,00 ± 2946,413 ^b | 19610,00 ± 1313,906 ^b | 22610,00 ± 1406,894 ^b | 29890,00 ± 3199,312 ^a |
| Motilitas Spermatozoa (%) | 75,40 ± 3,010 ^a | 42,20 ± 1,463 ^b | 45,00 ± 3,873 ^{bc} | 53,00 ± 2,828 ^c | 67,40 ± 4,202 ^a |
| Morfologi Abnormalitas Spermatozoa (%) | 28,80 ± 4,821 ^a | 67,80 ± 7,579 ^b | 58,60 ± 5,955 ^{bc} | 45,60 ± 8,128 ^{cd} | 25,40 ± 2,542 ^a |

tersebut diduga disebabkan oleh kandungan antioksidan yang dimiliki buah semangka. Menurut Fadillah (2012), buah semangka mengandung senyawa likopen. Jenis antioksidan ini bekerja dengan memutus ikatan radikal bebas superoksida, sehingga membentuk ikatan yang tidak reaktif dan

Rusaknya sel Leydig dan sel Sertoli akan mempengaruhi produksi hormon LH, FSH, dan testosteron. Penurunan hormon tersebut akan menyebabkan terganggunya mekanisme umpan balik antara hipotalamus–hipofisis anterior dan testis, sehingga terjadi kegagalan proses spermatogenesis yang berakibat pada penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa (Guyton & Hall, 2011).

Peroksidasi lipid asam lemak tak jenuh yang terjadi pada membran plasma kepala dan leher spermatozoa juga menyebabkan perubahan morfologi abnormal spermatozoa semakin meningkat. Apabila spermatozoa memiliki ciri-ciri morfologi abnormal, maka akan menghambat pergerakan dan keseimbangan dari ekor spermatozoa tersebut (Fitriani *et al.*, 2010).

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hargono *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa, pemaparan asap rokok 2 batang/hari menyebabkan penurunan hormon testosteron karena terhambatnya pembentukan FSH dan LH, kemudian dilihat perubahan susunan sel-sel spermatogenik tubulus seminiferus testis mencit secara mikroskopik, susunan sel-sel spermatogenik tampak longgar dan tidak teratur yang menandakan bahwa proses spermatogenesis tidak berjalan secara normal. Pada penelitian oleh Batubara *et al.*, (2013) menyatakan bahwa pemaparan 1 batang rokok selama 30 hari telah dapat memberikan efek terhadap kualitas spermatozoa meliputi penurunan konsentrasi dan motilitas spermatozoa serta meningkatkan morfologi abnormalitas spermatozoa.

Perlakuan pemberian semangka dengan dosis bertingkat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kualitas spermatozoa. Hal

reaksi berantai radikal bebas dapat terputus. Akibatnya, jumlah radikal bebas yang terbentuk dapat ditekan dan proses peroksidasi lipid berikutnya dapat digagalkan dan mencegah kerusakan membran lebih lanjut. Sehingga, mekanisme umpan balik antara hipotalamus–hipofisis anterior dan testis akan berjalan lebih optimal dalam memproduksi hormon-hormon seperti FSH dan LH serta proses spermatogenesis akan berlangsung secara normal.

Menurut penelitian oleh Krishnamoorthy *et al.*, (2013) yang menguji likopen sebagai suplemen pencegah ROS terhadap apoptosis sel Sertoli tikus albino yang dipaparkan *Polychlorinated biphenyls* selama 30 hari menyatakan bahwa likopen sebagai antioksidan yang dapat meredam ROS, mencegah terjadinya apoptosis sel, menjaga fungsi normal sel Sertoli dan membantu melancarkan produksi air mani. Selain itu likopen juga meningkatkan jumlah dan motilitas sperma dengan mengurangi stress oksidatif.

Permbelian buah semangka dengan dosis bertingkat dapat memperbaiki kualitas spermatozoa, tetapi dosis optimal terdapat pada kelompok P3 dengan pemberian buah semangka dosis 4095 mg/kg BB. Buah semangka dengan dosis 4095 mg/kg BB dapat berperan optimal sebagai antioksidan, sehingga proses spermatogenesis dapat berlangsung lebih baik dan jumlah spermatozoa yang dihasilkan juga lebih banyak serta mendekati kualitas spermatozoa kelompok mencit (K-).

Kesimpulan

Pemberian semangka terhadap mencit (*Mus musculus* L.) ternyata mampu

meningkatkan kualitas spermatozoa meliputi peningkatan jumlah dan motilitas, serta penurunan morfologi abnormalitas spermatozoa mencit yang dipaparkan asap rokok seiring dengan pemberian dosis buah semangka secara bertingkat. Dosis optimum buah semangka dalam meningkatkan kualitas spermatozoa mencit adalah sebesar 4095 mg/kgBB.

Daftar Pustaka

- Agaku, I. T., King, B. A. & Dube, S. R. 2014. Current Cigarette Smoking Among Adults, United States, 2005–2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63:29-46.
- Batubara, I. V. D., Wantouw, B. & Tendean, L. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik*, 1:330-337.
- Cornelli, U. 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27:175–194.
- Fadilah, U. N. 2012. Isolasi dan purifikasi Likopen Dari Buah Tomat Dan Semangka. *Skripsi: Universitas Indonesia*, Depok
- Fitriani, Eriani, K. & Sari, W. 2010. The Effect Of Cigarettes Smoke Exposed Causes Fertility Of Male Mice (*Mus musculus*). *Jurnal Natural*, 10:12-17.
- Fowles, J. & Bates, M. 2000. The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarette Smoke: Priorities for Harm Reduction. *A Report to the New Zealand Ministry of Health*:1-65.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2011. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke-11*. EGC, Jakarta.
- Hargono, F. R., Lintong, P. M. & Kairupan, C. F. 2013. Gambaran Histopatologik Testis Mencit Swiss (*Mus musculus*) Yang Diberi Kedelai (*Glycine max*) Dan Paparan Dengan Asap Rokok. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 1:824-829.
- Kardi. 2015. Pemberian Glutathion Pada Mencit Jantan Dewasa Yang Terpapar Asap Rokok Dapat Meningkatkan Motilitas Progresif Spermatozoa. *Skripsi: Universitas Udayana*, Denpasar
- Khoo, H. E., Prasad, K. N., Kong, K. W., Jiang, Y. & Ismail, A. 2011. Carotenoids and Their Isomer: Color pigments in Fruits and Vegetables. *Molecular Diversity Preservation International.*, 16:1710-1738.
- Krishnamoorthy, G., Selvakumar, K., Venkataraman, P., Elumalai, P. & Arunakaran, J. 2013. Lycopene Supplementation Prevents Reactive Oxygen Species Mediated Apoptosis In Sertoli Cells Of Adult Albino Rats Exposed To Polychlorinated Biphenyls. *Interdisciplinary Toxicology*, 6:83–92.
- Mangiagalli, M. G., Cesari, V., Cerolini, S., Luzi, F. & Toschi, I. 2012. Effect of Lycopene Supplementation on Semen Quality and Reproductive Performance in Rabbit. *World Rabbit Science*, 20:141-148.
- Padmaningrum, R. T. 2007. Rokok Mengandung Zat Adiktif Yang Berbahaya Bagi Kesehatan.
- Pebrianti, N. M. L. 2013. Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus*) Setelah Diberikan Monosodium Glutamat (MSG). *jurnal Simbiosis*, 1:40-50.
- Rao, N. 2003. Bioactive Phytochemicals in Indian Foods and Their Potential in Health promotion and Disease Prevention. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 12:9-22.
- Tamilselvan, P., Bharathiraja, K., Vijayaprakash, S. & Balasubramanian, M. P. 2013. Protective Role Of Lycopene On Bisphenol A Induced Changes In Sperm Characteristics, Testicular Damage And Oxidative Stress In Rats. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 4:131 - 143.
- Unitly, A. J. A., Kusumorini, N., Agungpriyon, S., S, S. A. & Boediono, A. 2014. Perubahan Kualitas Spermatozoa Dan Jumlah Sel-Sel Spermatogenik Tikus Yang Terpapar Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8:116-119.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.