

PENGARUH NIKOTIN SELAMA 1-2 MINGGU TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOSIT PRIMER, SPERMATID PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Iis Rahmawati

Program Studi Ilmu Keperawatan Universitas Jember

ABSTRACT

The effect of cigarette smoke can spoil sperm viability and spermatogenesis. It can cause hormonal condition and trigger the emergence of toxic substance on sperm that it can harm male fertility. The research design employed in this study was Post Test Only Control Group Design. The samples were adult male *mus musculus*. There were four groups of research subject chosen randomly after homogenization. Two groups were the control group and the other two were the experimental group. The subjects in the experimental group were injected with nicotine subcutaneously for one week and two weeks with the same dosage namely 5 mg/kg bodyweight/day. The final observation was aimed at calculating the number of primary spermatocyte, spermatid. The result of the one way Anova showed that the primary spermatocyte, spermatid had a statistically significant difference on some experimental groups ($p < 0.05$). LSD test showed that there was significant difference between spermatocyt primary cells of P2 and K2; there was significant difference between spermatid cells of P1 and K2. The conclusion of this research was that nicotine caused a decrease in the number of primary spermatocyte, spermatid.

Keywords: nicotine, primary spermatocyte, spermatid.

ABSTRAK

Dampak Asap rokok dapat merusak viabilitas sperma, merusak proses pembuatan sperma (spermatogenesis), menimbulkan gangguan hormonal serta munculnya bahan toksik pada sperma, sehingga dapat mengakibatkan gangguan infertilitas pria. Rancangan penelitian ini bersifat eksperimental. Jenis rancangannya adalah *Post Test Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan umur dewasa. Subjek penelitian terdiri dari 4 kelompok yang dipilih secara acak dan telah dihomogenkan. 2 kelompok sebagai kontrol dan 2 kelompok lainnya sebagai kelompok perlakuan yang diberikan injeksi nikotin subkutan selama 1 minggu dan 2 minggu dengan dosis yang sama yaitu 5 mg/kgBB/hr. Pengamatan akhir adalah menghitung jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid. Hasil penelitian adalah terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid pada berbagai kelompok ($p < 0,05$). Hasil uji BNT untuk pasangan kelompok berbeda secara bermakna dari hasil sel-sel spermatosit primer adalah P2 dan K2; pasangan kelompok berbeda secara bermakna dari hasil sel-sel spermatid adalah P1 dan K2. Kesimpulan penelitian ini adalah nikotin dapat menyebabkan penurunan jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid.

Kata kunci : nikotin, spermatosit primer, spermatid

PENDAHULUAN

Faktor yang menyebabkan infertilitas salah satunya adalah rokok. Yardimci (1997) dan Yamamoto (1999) menyatakan bahwa, asap rokok menyebabkan terjadinya penurunan kadar hormon testosteron. FSH, testosteron dan LH adalah hormon yang berperan penting dalam spermatogenesis. Testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel spermatosit. Menurut Everitt and Johnson (1990) bahwa, spermatosit sangat sensitive terhadap pengaruh luar, salah satunya adalah pengaruh asap rokok dan cenderung mengalami kerusakan setelah meiosis pertama, penurunan jumlah spermatosit menyebabkan jumlah spermatid juga menurun dan akhirnya jumlah spermatozoa juga menurun. Penurunan jumlah sel-sel spermatosit terjadi karena penurunan hormon testosteron dan dampaknya dapat menimbulkan infertilitas.

Nikotin merupakan komponen utama dari rokok sebesar 50% dan cepat diabsorpsi melalui saluran pernafasan, mukosa mulut dan kulit (Hukkanen dkk, 2005). Setiap batang rokok mengandung 6-11 mg nikotin dan 1-2 mg akan diserap oleh setiap perokok, apabila setiap perokok menghisap 1 bungkus rokok perhari, maka jumlah nikotin yang dihisap sekitar 20-40 mg/hari (Durazzo, et al, 2007). Nikotin merupakan salah satu komponen dalam asap rokok yang menjadi penyebab dari kebiasaan merokok (Britton dkk, 2001).

Hasil penelitian, 60-65% sperma pria terganggu karena kebiasaan merokok. Seseorang yang terus-menerus merokok selama bertahun-tahun, darahnya akan tercemar oleh nikotin yang melalui pembuluh darah akan menyebar ke

seluruh tubuh, termasuk ke organ reproduksi, nikotin yang masuk ke dalam darah akan disaring dahulu oleh ginjal, dalam pembersihan nikotin dalam tubuh diperlukan waktu yang sangat lama (Al Mutairi et al, 2006). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mahanem et al (2006) membuktikan bahwa, adanya pengaruh asap rokok dapat menurunkan kualitas (jumlah, motilitas dan morfologi) sperma epididimis dan menyebabkan kerusakan sel-sel testis. Penelitian yang dilakukan Nor Aina (2005) menyebutkan bahwa, paparan asap rokok dapat menghambat proses spermatogenesis secara nyata yang ditandai dengan penurunan jumlah sel-sel spermatogonium, spermatosit primer, spermatid dan lapisan sel spermatogenik serta penurunan kualitas spermatozoa secara nyata yang ditandai dengan penurunan prosentase spermatozoa normal, kecepatan gerak spermatozoa, motilitas spermatozoa dan spermatozoa hidup.

Olsen melaporkan bahwa, konsentrasi spermatozoa berkurang sebanyak 50% dalam kurun waktu 50 tahun (1940-1990), yaitu adanya penurunan konsentrasi sperma dari 113 juta spermatozoa/ml menjadi 66 juta spermatozoa/ml. Data rata-rata konsentrasi spermatozoa kelompok infertil selama satu tahun di poli Andrologi FK Unair-RSUD Dr. Soetomo (1993) adalah 21,1 juta/ml (Soehadi dan Winarso, 1996).

Penelitian ini berbeda dari penelitian sebelumnya, yaitu melakukan pemajaman nikotin dengan waktu pemajaman lebih pendek dari penelitian sebelumnya dan hanya pemajaman nikotin tanpa pemajaman yang lain, maka penelitian ini perlu dilakukan dan diharapkan dapat menambah wawasan

tentang dampak nikotin yang terdapat dalam asap rokok yang dapat menimbulkan infertil pada reproduksi pria, sehingga dapat merubah perilaku untuk tidak merokok. Penelitian ini merupakan penelitian terapan yang dikerjakan secara eksperimental laboratorik dengan menggunakan hewan coba mencit sebagai model.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dipergunakan adalah *Post Test Only Control Group Design* (Sugiyono, 2008). Subjek penelitian terdiri dari 4 (enam) kelompok yang dipilih secara acak dan telah dihomogenkan. dua kelompok sebagai kontrol dan dua kelompok diberikan nikotin dengan waktu yang berbeda.

Populasi penelitian ini adalah mencit jantan, umur 4 bulan, berat sekitar 20 gram. populasi tersebut dipilih beberapa ekor secara random sebagai sampel penelitian. Sampel akan ditambahkan sebesar 10% tiap kelompok untuk menghindari kematian sehingga menjadi 7 ekor tiap kelompok, tetapi dalam perhitungan data yang diperoleh tetap dihitung 7 ekor/kelompok, sehingga jumlah hewan coba yang diperlukan secara keseluruhan adalah 28 ekor sampel.

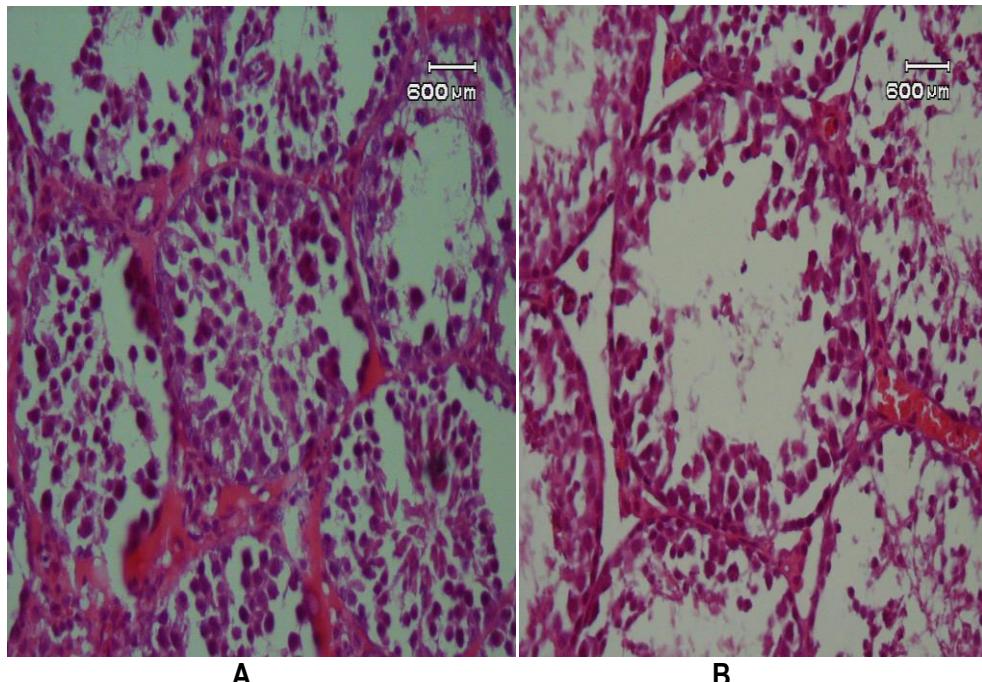
Penelitian ini menggunakan preparat histologik testis mencit jantan dengan pengamatan secara mikroskopik, menggunakan mikroskop cahaya, mulanya digunakan pembesaran 100 X kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 200 X. Setiap preparat testis mencit jantan diamati dan dihitung jumlah sel spermatosit

primer, spermatid dan sel leydig menjadi pusat penglihatan dibawah mikroskop.

Analisis data untuk mengetahui beda nilai rata-rata jumlah sel spermatosit primer, spermatid dan sel leydig pada masing-masing kelompok perlakuan dilakukan dengan uji Anova satu arah. (dengan asumsi data homogen dan terdistribusi normal) dengan tingkat kesalahan sebesar 5 %. Jika terdapat perbedaan yang bermakna maka untuk mengetahui beda antar perlakuan dipergunakan uji LSD (*Least Significant Difference*) atau uji Beda Nyata Terkecil (Dahlan, 2008; Riduan, 2009).

HASIL DAN BAHASAN

Karakteristik responden dalam penelitian ini menunjukkan bahwa keluarga pada kelompok intervensi rata-rata berusia 41,78 tahun dan keluarga pada kelompok kontrol rata-rata berusia 41,06 tahun. Rata-rata penghasilan keluarga pada kelompok intervensi sebesar Rp 1.339.060 dan rata-rata penghasilan keluarga kelompok kontrol sebesar Rp 1.469.440. Sebagian besar keluarga anak tunagrahita pada kelompok intervensi dan kelompok kontrol memiliki hubungan sebagai orang tua dari anak, berjenis kelamin perempuan, dan pendidikan terakhir SMA / sederajat. Karakteristik anak tunagrahita pada penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata usia anak pada kelompok intervensi 12,27 tahun dan pada kelompok kontrol 11,96 tahun. Rata-rata jumlah sel-sel spermatid setelah pemberian injeksi nikotin pada tiap kelompok perlakuan 1 minggu dan 2 minggu, mengalami penurunan, dapat dilihat dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol.

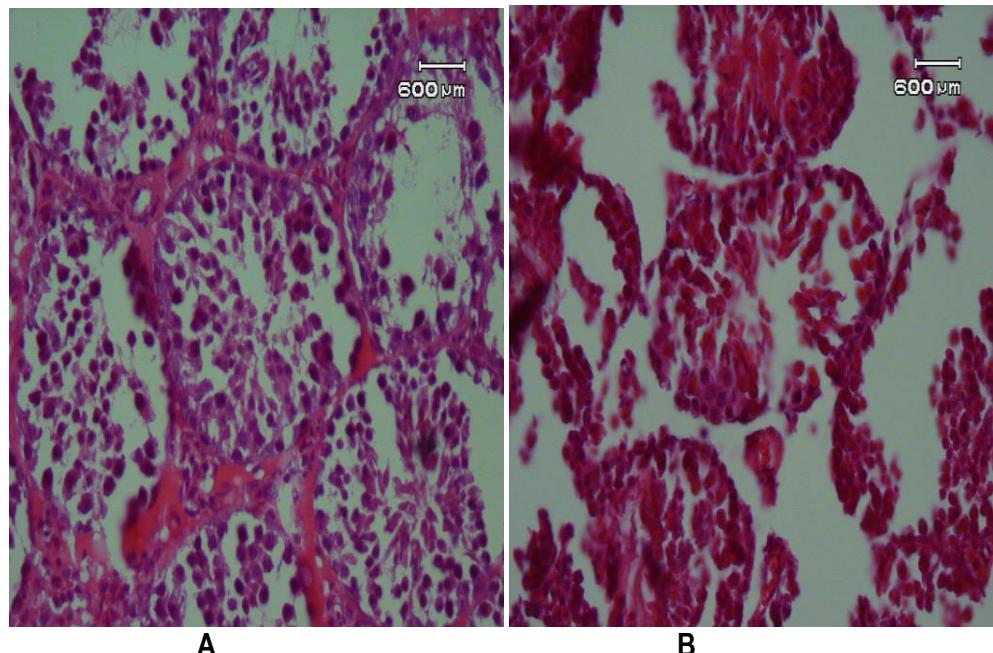


Gambar 1. Penampang melintang tubulus seminiferus testis pada kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B) selama 1 minggu dengan pewarnaan PAS dan pembesaran 400 x

Gambaran histologi kelompok kontrol selama 1 minggu dan 2 minggu dapat di lihat pada gambar 1 (A) dan 2(A) terlihat Kelompok mencit kontrol tergolong normal dengan susunan sel rapat dan kompak, terlihat perkembangan sel-sel spermatogenik mulai dari membran basalis ke arah lumen yaitu spermatogonia, spermatosit dan spermatid, lumen tampak terisi penuh oleh spermatozoa baik yang masih menempel pada sel Sertoli maupun yang telah mengalami spermiogenesis.

Gambaran histology kelompok perlakuan selama 1 minggu dan 2 minggu dapat dilihat pada gambar 1(B) dan 2 (B) terlihat kerusakan tubulus seminiferus

berupa atropi tubular, yaitu hilangnya seluruh sel didalam tubulus seminiferus, kecuali sel Sertoli, dan nekrosis tubular, yaitu kerusakan seluruh unsur sel didalam tubulus seminiferus dan terlihat adanya sisa-sisa nekrosis mengisi lumen juga hilangnya sel-sel intermedia, di dalam tubulus terlihat sel Sertoli, spermatosit primer dan spermatid. Sel-sel intermedia adalah bentuk akhir spermatogonium A sebelum berubah menjadi spermatogonium B, serta terjadi penurunan spermatogenesis yaitu paling sedikit 75% jumlah spermatozoa yang terlihat dalam lumen dengan bentuk intermedia yang utuh.



Gambar 2. Penampang melintang tubulus seminiferus testis pada kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B) selama 2 minggu dengan pewarnaan PAS, pembesaran 400 x

Hasil penelitian diketahui bahwa pemberian injeksi nikotin selama 1 minggu dan 2 minggu dapat menurunkan jumlah sel spermatosit primer, spermatid mencit jantan. Jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid mengalami penurunan pada lama perlakuan 1 minggu dan 2 minggu dengan dosis yang sama yaitu 5 mg/kg BB/hr, setelah diuji dengan Anova ternyata penurunan jumlah kedua jenis sel spermatogenik ini bermakna ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Penelitian terdahulu telah diketahui bahwa pemberian injeksi nikotin dapat menurunkan kadar testosteron, FSH dan LH (Paccifi, 1993). Hormon testosteron dihasilkan oleh sel interstitial atau sel Leydig diperlukan dalam jumlah yang tinggi untuk menjaga berlangsungnya proses spermatogenesis dalam tubulus seminiferus, perkembangan dan fungsi saluran reproduksi jantan. Testosteron berperan dalam perkembangan dan

memelihara perilaku seksual, hormon ini juga menstimuli karakteristik seksual sekunder, misalnya pertumbuhan jenggot, kumis, suara yang dalam (Hayati, 2010).

Penurunan jumlah sel-sel spermatogenik pada penelitian ini terjadi karena Penurunan hormon testosteron. *Interstitial cell stimulating hormone* (ICSH) bekerja pada reseptor spesifik diperlukan sel Leydig dan berperan dalam produksi testosteron. Testosteron merupakan androgen yang berperan dalam inisiasi dan mempertahankan spermatogenesis serta fertilisasi pada pria (Matsumoto, 2001). Penurunan jumlah sel-sel spermatogenik karena penghambatan sekresi ICSH dan testosteron, hal tersebut terjadi karena nikotin mempengaruhi kerja sistem syaraf pusat dengan cara menghambat kerja GnRH, bila tidak ada GnRH dari hipotalamus, gonadotropin dalam kelenjar hipofisis tidak menyekresikan LH dan FSH. Testosteron

disekresikan oleh sel-sel interstitial Leydig di dalam testis, tetapi hanya apabila sel-sel interstitial leydig dirangsang oleh LH dari kelenjar hipofisis yang disekresikan meningkat dengan tepat sebanding dengan LH yang tersedia dan apabila kerja GnRH terhambat karena pengaruh dari nikotin tersebut, maka pembentukan FSH dan LH juga terhambat, sehingga akan terjadi gangguan spermatogenesis. (Guven et al, 1999).

Menurut Bartlett (1999) menyatakan bahwa, perkembangan sel spermatogenik dipengaruhi oleh hormon testosteron dan FSH. FSH menstimulasi terjadinya spermatogenesis dan testosteron dalam konsentrasi intra-testikular yang tinggi akan menjaga proses spermatogenesis. Testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel spermatosit primer. Penurunan jumlah sel-sel spermatosit primer ini di dukung oleh pernyataan Everitt dan Jhonson (1990) bahwa, sel-sel spermatosit primer sangat sensitive oleh pengaruh luar dan cenderung mengalami kerusakan setelah profase meiosis, bila sel-sel spermatosit primer mengalami kerusakan seperti atrofi tubular, nekrosis tubular, hilangnya sel intermedia, maka akan mengalami degenerasi dan difagositosis oleh sel Sertoli sehingga jumlah sel-sel spermatosit primer menjadi berkurang.

Penurunan jumlah spermatosit menyebabkan jumlah spermatid juga menurun karena sel-sel spermatosit primer yang mengalami meiosis kedua menjadi spermatid juga menurun. Proses meiosis spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder dan membentuk spermatid diatur oleh testosteron dan FSH melalui aksinya pada sel sertoli. Sel Sertoli berperan dalam menyediakan laktat, *transferring* dan

androgen binding protein untuk metabolism sel germinal (Walker and Cheng, 2005). Fungsi sel Sertoli diatur oleh FSH dan testosteron. Penelitian Mc Lachlan et al (1996) menyatakan bahwa, hormon testosteron dan FSH menyebabkan spermatid terikat pada sel Sertoli. Holdcraft dan Robert (2004) menyatakan bahwa, hormon testosteron akan menjaga semua tahap perkembangan spermatid. Penurunan hormon mengakibatkan terlepasnya spermatid dari sel Sertoli ke lumen tubulus dan mengakibatkan gagalnya tahap spermiogenesis. Sel sertoli mempunyai peranan penting dalam spermiogenesis tetapi nikotin bersifat toksik terhadap fungsi sel Sertoli. menyebabkan fungsi sel Sertoli menjadi tidak optimal sehingga terjadi gangguan proses spermatogenesis, gangguan metabolisme sel germinal dan dapat menyebabkan apoptosis sel (Henriksen et al, 1996)

Hasil penelitian untuk kelompok kontrol atau kelompok yang tidak diberikan injeksi nikotin, didapatkan jumlah sel-sel spermatogenik dan sel Leydig yang berbeda-beda, disebabkan karena masing-masing mencit memiliki materi genetik penyusun spermatogenesis yang berbeda-beda. Secara teori bahwa sel germinal primordial mencit jantan muncul sekitar 8 hari kehamilan, dengan jumlah hanya 100 yang merupakan awal dari jutaan spermatozoa yang akan diproduksi dan masih berada di daerah ekstra gonad. Hari ke-9 dan 10 kehamilan sebagian mengalami degenerasi dan sebagian lagi mengalami proliferasi dan bahkan bergerak pada hari ke-11 dan 12 ke daerah genetalia, pada saat itu rata-rata jumlahnya mencapai sekitar 5000, tetapi masing-masing mencit jumlahnya berbeda-

beda. Proses proliferasi dan diferensiasi berlangsung didaerah medulla testis. Kehilangan sel germinal berlangsung selama perjalanan dari bagian ekstra gonad menuju daerah genital pada kasus steril. Aktivitas mitosis sel germinal primordial dalam bagian genitalia berkurang dan beberapa sel mulai degenerasi menjelang hari ke-19 kehamilan pada akhir masa fetus. Sel tampak besar yaitu spermatogonia pada saat kelahiran terdapat dalam testis mencit sepanjang hidupnya terdiri dari 3 tipe yaitu tipe A, tipe intermediate dan tipe B.

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan, maka hipotesis dapat terbukti kebenarannya. Pemberian injeksi nikotin subkutan selama 1 minggu dan 2 minggu dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatosit primer, spermatid) serta sel Leydig pada mencit jantan (*Mus musculus*). Waktu pemberian minimal (1 minggu) sudah menunjukkan penurunan dari jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatosit primer, spermatid) pada mencit jantan (*Mus musculus*). Perbedaan pengaruh yang sangat bermakna untuk sel-sel spermatosit primer yaitu perlakuan perlakuan 2 minggu terhadap kontrol 2 minggu. Perbedaan pengaruh yang sangat bermakna untuk sel-sel spermatid yaitu perlakuan 1 minggu terhadap kontrol 2 minggu.

Penelitian-penelitian berikutnya supaya dapat memperluas wawasan penelitian mengenai pengaruh nikotin terhadap system reproduksi pria, disarankan untuk melakukan penelitian, seperti : Mekanisme kerja nikotin dalam menghambat hormon-hormon yang

berperan pada spermatogenesis dan Mekanisme kerja nikotin dalam menimbulkan kerusakan dan kematian sel secara langsung dalam spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Mutairi S.S., Shihab A.A, Mojiminiyi O.A, and Anwar AA, .(2006). Comparative Analysis of The Effects of Hubble-Dubble (Sheesha) and Cigarette Smoking on Respiratory and Metabolic Parameters In Hubble-Bubble and Cigarette Smokers. *Respirology* 11 (4) : 449-445
- Bartlett , (1999). *Testosterone Withdrawal Promotes Stage Specific Detachment of Roun Spermatid from the Rat Seminiferous Epithelium*. *Biology reproduction*, 55: 895-900
- Burkitt HG, (1993). *Functional Histology, a Text and Colour Atlas*. London. Longman Group.
- Britton J, Jarvis M, McNeil A, Bates C, Cuthbertson Land Godfrey C, (2001). Penanganan Adiksi Nikotin. <http://members.aol.com/profchm/davis.html>.akses
- Dahlan, (2008). Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan. Jakarta : Penerbit Salemba Medika.4.
- Durazzo TC, Rothlind JC, Gazdzinski S, Banys P, and Meyerhoff DJ, (2007). A Comparison of Neurocognitive Function in Nonsmoking and Chronically Smoking Short-Term Abstinent Alcoholics. *39(1): 1-11*.
- Guven, M.C, Can, A. Ergun, Y. Aydos, (1999). *Ultrastructure Effect of Cigarette Smoke on Rat Testis*. *European Urology*, 36 : 645-649

- Hayati, A, (2010). Spermatologi. Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Henriksen K, Kangasniemi M, Parvinen M, (1996). In Vitro, FSH Prevents Apoptosis and Stimulating Deoxyribonucleic Acid Synthesis in the Rat Seminiferous Epithelium in a Stage Specific Fashion. *Endocrinology Journal*. 137 (5) : 21-41
- Holdcraft, R.W., Braun, 2004. Hormonal Regulation of Spermatogenesis. *International Journal of Andrology*, 27: 335-342
- Hukkanen J, Jacob P and Benowitz NL, (2005). Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *Pharmacological Reviews* 57(1) : 79-115.
- Johnson M and Everitt B,(2000). *Testicular Function in The Adult*. Dalam Essential Reproduction.Fifth
- Kemas A.S, (1991). Rancangan Percobaan. Universitas Sriwijaya Palembang. Jakarta : Rajawali Press
- Mahanem M.N, Nor A.B, Phang H.T, Muhammad H.R, (2006). *Effects of Nicotine and Co-Administration of Nicotine and Vitamine on Testis and Sperm Quality of Adult Rats*. Department of Physiology, Faculty of Medicine. University Kebangsaan Malaysia.
- Matsumoto AM, (2001). *The Testis in Endocrinology and Metabolism* : Felig P. & Frohman L.A, MC Grawhill, USA
- Mc Lachlan RL, (2000). Male Hormonal Contraception, a Safe, Acceptable and Reversible Choice. *MJA*
- Nor A, (2005). Pengaruh Pajanan Asap Rokok Terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit. Makara Kesehatan.
- Riduwan, (2009). Dasar-Dasar Statistika. Bandung. Alfabeta,
- Sugiyono, (2008). Metode Penelitian Kuantitatif. Bandung : Alfabeta
- Soehadi K, dan Winarso H, (1996). Infertilitas Pria Masa Kini dan Masa Akan Datang. Dalam Seminar Penanganan Andrologik pada Infertilitas dan Impotensi. Poli Andrologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan Lab. Biomedik Fakultas Kedokteran Unair. Surabaya.
- Walker HW, Cheng J,(2005). FSH and Testosterone Signaling in Sertoli Cells. *Reproduction* 130 (1) : 15-28
- Yamamoto Y, Isoyama, E, Sofikitis, N. & Miyagawa, I, (1998). Effect of Smoking on Testicular Function and Fertilizing Potential in Rats. *Urology Research*, 26: 45-48.
- Yardimci, S, Atan T, Delibasi K, Sunguroglu M, Guven C, (1997). *Long Term Effect of Cigarette Smoke Exposure on Plasma Testosterone, Luteinizing Hormone and Follicle Stimulating Hormone Levels in Male Rats*. *Br J Urol*