

EFEK PROTEKSI MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP JUMLAH SPERMATID TESTIS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

Fitria Dewi Larassuci¹, Fitroh Annisah², Rifki Aviani³, Syifa Marhattya Rizky⁴, Siti Nurhidayah⁵

¹Pendidikan Dokter, Kedokteran, Universitas Sebelas Maret; email: fdewi94@gmail.com

²Pendidikan Dokter, Kedokteran, Universitas Sebelas Maret; email: fitroh.pipit.ann@gmail.com

³Pendidikan Dokter, Kedokteran, Universitas Sebelas Maret; email: aviani.rifki@gmail.com

⁴Pendidikan Dokter, Kedokteran, Universitas Sebelas Maret; email: syifalophoda@gmail.com

⁵Pendidikan Dokter, Kedokteran, Universitas Sebelas Maret; email: siti.nurhidayah71@gmail.com

Abstract

Free radicals of the cigarette smoke can decrease the male fertility. In present study, Morinda citrifolia L. extract was evaluated for its protective effect on the number of spermatids which induced by cigarette smoke in Swiss webster mice. Four groups of mice were arranged as follows: KK (control group), KP₀ (cigarette smoke), KP₁ (low dose extract + cigarette smoke), KP₂ (high dose extract + cigarette smoke). After 14-day treatment, all mice were sacrificed. The LSD test showed significant differences between each pair of groups. Morinda citrifolia L. extract showed protective effect to the number of spermatids which induced by cigarette smoke.

Keywords: *Morinda citrifolia* L. extract, cigarette smoke, number of spermatids

1. PENDAHULUAN

Dewasa ini, penggunaan rokok sebagai konsumsi sehari-hari kian menyemarak. Tidak hanya orang dewasa pria, bahkan wanita dan anak-anak pun didapati sebagai perokok aktif. Jumlah konsumen rokok di Indonesia menduduki peringkat ketiga terbesar di dunia setelah Cina dan India (WHO, 2008). Hasil survei *Global Adult Tobacco Survey (GATS)* menunjukkan prevalensi perokok aktif pria di Indonesia sebesar 67,4%, jauh lebih besar dari wanita yang hanya 2,7%. Angka ini meningkat dibandingkan Survei Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) tahun 1995 yang menunjukkan prevalensi perokok pria sebesar 53,9% (Prasetyo, 2012).

Merokok merupakan salah satu faktor yang dapat merusak kesehatan tubuh. Diketahui bahwa merokok dapat mengurangi terjadinya konsepsi, penurunan fertilitas pria ataupun wanita, dan penurunan nafsu seksual (Sitepoe, 2000). Pertama, rokok dapat mengurangi jumlah sperma, salah satu kontributor utama untuk infertilitas pria. Kedua, merokok dapat membahayakan motilitas sperma atau kemampuan sperma untuk bergerak. Akibatnya, sperma yang bergerak lambat kemungkinan juga tidak mampu membuahi sel telur. Adanya efek tersebut terkait dengan radikal bebas yang terkandung pada asap rokok. Untuk itu

diperlukan antioksidan yang bertindak sebagai “pemangsa” radikal bebas untuk melindungi spermatozoa (Agarwal et al., 2005).

Jumlah antioksidan terbanyak pada makanan bersumber dari buah dan sayur, salah satunya adalah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Oguntibeju et al., 2010). Pada penelitian Dewi (2011), mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terbukti berfungsi meminimalkan kerusakan tubulus seminiferus testis pada tikus putih galur Wistar yang diberi asap rokok. Pada penelitian Dewi, parameter kerusakan tubulus yang dinilai adalah derajat kerusakan tubulus seminiferus testis. Di dalam buah mengkudu juga terkandung banyak antioksidan yaitu vitamin C, xeronin, dan proxeronin yang dapat berfungsi menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh asap rokok. Mengonsumsi buah mengkudu dapat meningkatkan kadar antioksidan tubuh sehingga dapat melindungi tubuh dari keadaan stress oksidatif dan akibat yang ditimbulkannya (Andarwulan, 1992).

Berdasarkan hal tersebut penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap jumlah spermatid testis mencit (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

2. METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta (FK UNS) dan telah dinyatakan laik etik oleh panitia kelaikan etik FK UNS.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *the post test only controlled group design*. Sampel penelitian berupa 28 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss webster berusia 2-3 bulan dengan berat badan \pm 20 gram. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *incidental sampling*.

Sampel diadaptasi di tempat penelitian selama 1 minggu, kemudian dibagi menjadi empat kelompok secara acak: Kelompok kontrol (KK), kelompok perlakuan 0 (KP₀), kelompok perlakuan 1 (KP₁), dan kelompok perlakuan 2 (KP₂). Masing-masing kelompok terdiri dari 7 mencit.

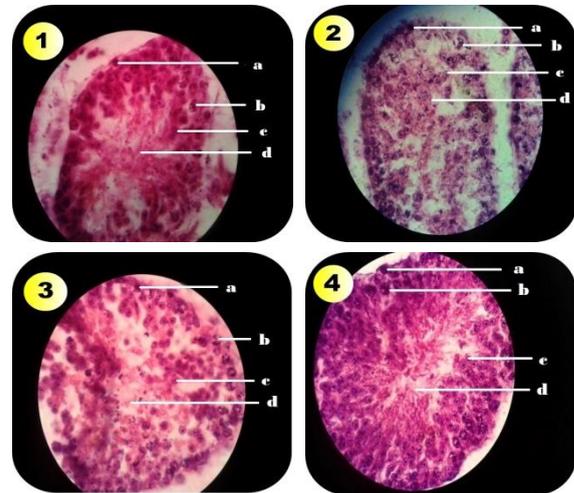
Sampel pada KK hanya diberi akuades peroral, sedangkan pada KP₀, KP₁, dan KP₂ dipapar asap rokok selama 14 hari. Selain itu, pada KP₁ dan KP₂ juga diberi ekstrak mengkudu dengan dosis bertingkat, yaitu 0,3 mg/20 g BB mencit untuk KP₁ dan 0,6 mg/20 g BB mencit untuk KP₂. Ekstrak mengkudu diberikan secara peroral dengan sonde lambung selama 14 hari. Ekstrak mengkudu dibuat di LPPT UGM dengan metode maserasi.

Setelah perlakuan diberikan, pada hari ke-15 mencit dikorbankan dengan cara *neck dislocation*. Organ testis kanan dan kiri diambil untuk dibuat preparat dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE). Dari tiap testis dibuat satu preparat sehingga dari tiap kelompok mencit diperoleh 14 preparat. Penilaian jumlah spermatid dilakukan dengan cara menghitung jumlah spermatid yang tampak pada penampang lintang tubulus seminiferus yang berbentuk bulat pada tiap-tiap preparat. Pengamatan preparat dilakukan dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x.

Data mengenai rerata jumlah spermatid diuji normalitas distribusinya dengan Saphiro-Wilk dan diuji homogenitas variansnya dengan Levene's test. Kemudian data diuji dengan *One Way ANOVA* ($\alpha = 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* ($\alpha = 0,05$).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mengamati jumlah sel spermatid mencit setelah pemberian paparan asap rokok dan mengkudu dosis bertingkat. Hasil pengamatan histologis jumlah spermatid testis mencit keseluruhan kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Fotomikrograf testis mencit dengan pengecatan HE dan perbesaran 1000x pada: (1) kelompok kontrol, (2) kelompok perlakuan 0, (3) kelompok perlakuan 1, dan (4) kelompok perlakuan 2. Tampak dalam gambar (a) penampang melintang tubulus seminiferus, (b) spermatogonium, (c) spermatid, dan (d) spermatozoa.

Adapun data hasil penelitian berupa data rasio yaitu jumlah spermatid testis mencit. Rerata jumlah spermatid untuk masing-masing kelompok mencit dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata jumlah spermatid testis mencit pada masing-masing kelompok perlakuan

Kelompok	Rerata
KK	101.86 \pm 5.419
KP₀	47.71 \pm 6.390
KP₁	71.86 \pm 8.245
KP₂	87.29 \pm 4.286

Kelompok kontrol (KK) memiliki nilai rerata jumlah spermatid yang paling tinggi sedangkan kelompok perlakuan 0 (KP₀) memiliki nilai rerata jumlah spermatid paling rendah.

Pada uji Saphiro-Wilk, didapatkan nilai signifikansi pada data jumlah spermatid KK sebesar 0,466, KP₀ sebesar 0,865, KP₁ sebesar 0,439, dan KP₂ sebesar 0,484, dimana keempat hasil tersebut lebih besar dari nilai alfa (0,05). Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal.

Dari uji Levene's test didapatkan nilai p sebesar 0,231 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan varians antarkelompok yang dibandingkan (varians data homogen).

Pada uji *One-Way* ANOVA, didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai rerata jumlah spermatid testis mencit yang bermakna pada kelompok KK, KP₀, KP₁, dan KP₂.

Data selanjutnya dianalisis dengan uji LSD. Adapun ringkasan hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Ringkasan Hasil Uji LSD ($\alpha = 0,05$)

Kelompok	p	Perbedaan
KK – KP ₀	0.000	Bermakna
KK – KP ₁	0.000	Bermakna
KK – KP ₂	0.000	Bermakna
KP ₀ – KP ₁	0.000	Bermakna
KP ₀ – KP ₂	0.000	Bermakna
KP ₁ – KP ₂	0.000	Bermakna

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa antara KK dan KP₀ diperoleh nilai $p = 0,000$. Dari hasil penelitian diperoleh nilai rerata jumlah spermatid pada kelompok kontrol lebih tinggi daripada kelompok perlakuan 0. Hal ini berarti bahwa rerata jumlah spermatid pada kelompok kontrol lebih banyak secara bermakna jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 0. Penurunan jumlah spermatid pada kelompok perlakuan 0 ini disebabkan oleh asap rokok yang menyebabkan terganggunya spermatogenesis dalam tubulus seminiferus. Nikotin mempengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan cara menghambat kerja GnRH sehingga pembentukan FSH dan LH terhambat. Dengan terhambatnya pembentukan FSH dan LH, maka spermatogenesis berjalan tidak normal (Sukmaningsih, 2009).

Perkembangan sel spermatogenik dipengaruhi oleh hormon testosteron dan FSH.

FSH menstimulasi terjadinya spermatogenesis dan testosteron dalam konsentrasi intratestikuler yang tinggi akan menjaga proses ini. Testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel spermatosit. Testosteron berperan pada pembelahan profase meiosis pertama tahap diakinesis, yaitu pada saat dimulainya pembelahan metaphase. Johnson dan Everitt (1990) mengungkapkan bahwa spermatosit sangat sensitif terhadap pengaruh luar dan cenderung mengalami kerusakan setelah profase meiosis pertama khususnya pada tahap pakiten, yaitu pada saat terjadinya pindah silang antara kromosom yang homolog. Pada tahap ini, inti serta sitoplasma tumbuh menjadi sel terbesar di antara lapisan sel spermatogenik.

Bila spermatosit mengalami kerusakan seperti pada atrofi tubular, nekrosis tubular, hilangnya sel interstitial, maka spermatosit akan mengalami degenerasi dan difagositosis oleh sel sertoli sehingga jumlah spermatosit menjadi berkurang. Penurunan jumlah spermatosit menyebabkan jumlah spermatid juga menurun karena spermatosit yang mengalami meiosis kedua menjadi spermatid menurun.

Uji LSD yang membandingkan antara kelompok KP₀ dan KP₁, serta antara KP₀ dan KP₂ diperoleh hasil $p = 0,000$. Keduanya menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dimana jumlah spermatid KP₁ dan KP₂ lebih banyak dibandingkan dengan KP₀. Hal ini menunjukkan bahwa mencit yang dipapar asap rokok dimana sebelumnya diberi mengkudu memiliki jumlah spermatid yang lebih tinggi daripada mencit yang hanya dipapar asap rokok tanpa pemberian mengkudu. Hal ini dapat terjadi karena mengkudu dapat memperbaiki kerusakan histopatologi testis mencit karena buah mengkudu memiliki kandungan penting bagi kesehatan yaitu asam askorbat, xeronine, dan proxeronine (Guyen et al, 2006).

Asam askorbat, xeronine, dan proxeronin berperan aktif dalam memperbaiki kerusakan histopatologi testis karena dalam asam askorbat memiliki sumber vitamin C yang berfungsi menangkal radikal bebas dengan cara menetralkan paparan asap rokok didalam sitosol karena vitamin C mempunyai kelarutan yang tinggi didalam air, sedangkan pada xeronine dan proxeronin mampu mengatur fungsi protein di dalam sel testis sehingga mencegah kerusakan pada testis (Guyen et al, 2006).

Pada hasil uji LSD perbandingan antara KP₁ dan KP₂ memiliki nilai p= 0,000 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KP₁ dan KP₂ (p < 0,05), dimana jumlah spermatid pada KP₂ lebih banyak dibandingkan dengan KP₁. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak mengkudu dengan dosis 0.6 mg/20 g BB mencit per hari mampu mencegah penurunan sel spermatid lebih baik dibandingkan dengan ekstrak mengkudu dengan dosis 0.3 mg/20 g BB mencit per hari. Hal tersebut dapat terjadi karena kandungan antioksidan pada ekstrak mengkudu dengan dosis 0.6 mg/20 g BB mencit per hari lebih banyak daripada ekstrak mengkudu dengan dosis 0.3 mg/20 g BB mencit per hari sehingga mampu menetralkan radikal bebas lebih banyak.

Perbedaan bermakna antara KK dan KP₁ serta KK dan KP₂ dimana jumlah spermatid pada KK lebih banyak dibandingkan KP₁ dan KP₂, menunjukkan bahwa ekstrak mengkudu dosis I dan dosis II dapat mencegah penurunan jumlah spermatid akibat paparan asap rokok. Namun, belum dapat memberikan hasil seperti KK.

Dari hasil dan analisis data yang dilakukan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian mengkudu dapat mencegah penurunan jumlah spermatid pada mencit yang dipapar asap rokok. Peningkatan dosis mengkudu terbukti semakin mengurangi jumlah kerusakan sel spermatid mencit, walaupun belum mampu mendekati hingga keadaan normal. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menunjukkan dosis optimum mengkudu yang dapat mencegah kerusakan spermatid hingga mendekati keadaan normal.

4. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dapat mencegah kerusakan spermatid testis mencit (*Mus musculus*) akibat paparan asap rokok. Peningkatan dosis ekstrak mengkudu dari dosis I (0,3 mg/20 g BB mencit) menjadi dosis II (0,6 mg/20 g BB mencit) mampu meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan jumlah spermatid akibat paparan asap rokok.

5. REFERENSI

Agarwal A, Prabakaran S, Said T. 2005. Prevention of Oxidative Stress Injury to sperm. *J Adrol*.26:654-660.

Andarwulan N. 1992. *Kimia vitamin*. CV. Rajawali. Jakarta.

Dewi ERS. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu Terhadap Histopatologi Testis Tikus Putih Setelah Menghirup Asap Rokok. *Bioma*. 1 (2): 113 - 122.

Guyen et al. 2006. *Histologi fungsional*. EGC. Jakarta.

Johnsons M and Everitt B. 1990. *Essential Reproduction*. 3rd edition. Blackwell Sci. Pub. Oxford. London. Edinburg.

Oguntibeju OO, Esterhuysen AJ, Truter EJ. 2010. Possible Role of Red Palm Oil Supplementation in Reducing Oxidative Stress in HIV/AIDS and TB Patients: A Review. *Journal of Medical Plant Research*.4(3): 188-196.

Prasetyo WA. 2012. Prevalensi Perokok Pria Naik 13,5 Persen. <http://www.tempo.co/read/news/2012/09/11/173428747/Prevalensi-Perokok-Pria-Naik-135-Persen>. Diakses tanggal 29 Oktober 2012.

Sitepoe M. 2000. *Kekhususan Rokok Indonesia*. PT Gramedia Widia Sarana Indonesia. Jakarta.

Sukmaningsih AA. 2009. Penurunan Jumlah Spermatosit Pakiten Dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis Pada Mencit (*Mus Musculus*) Yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Biologi* XIII (2): 31 – 35..

WHO. 2008. *WHO Report on The Global Tobacco Epidemic: THE MPOWER Package*, pp: 8-14.