

PENGARUH MADU TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS WISTAR (*rattus norvegicus*) JANTAN YANG DIBERIKAN PAPARAN ASAP ROKOK ELEKTRIK

THE EFFECT OF HONEY ON SPERMATOZO QUALITY OF WISTAR RAT (*Rattus norvegicus*) MALE EXPOSED TO ELECTRIC CIGARETTE SMOKE

Muhammad Ilham Saputra¹, Yanuarita Tursinawati², Nabil Hajar²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

²Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

Email : ilhamsaputraaa26@gmail.com

ABSTRAK

Asap rokok elektrik terkandung berbagai jenis bahan kimia diantaranya nikotin, pemakaian nikotin secara oral berkaitan dengan terjadinya degenerasi testis dan penurunan jumlah kadar testosteron. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi pengaruh madu terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar yang diberi paparan asap rokok elektrik. Metode yang digunakan adalah quasi eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post test only control group design*, dengan sampel sebanyak 25 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan teknik *simple random sampling*. Kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberikan perlakuan, kelompok positif (K+) diberikan asap rokok elektrik, kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan asap rokok elektrik dan madu dosis 0,5 mg, kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan asap rokok elektrik dan madu dosis 0,7 mg, kelompok perlakuan 3 (P3) diberikan asap rokok elektrik dan madu dosis 0,9 mg. Analisis data dimulai pada variabel morfologi dengan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk*, dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis*. Pada variabel viabilitas uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk*, dilanjutkan uji *One Way ANOVA*, dan pada uji *Levene* didapatkan 0,397 atau homogen, kemudian dilakukan uji *Post hoc LSD* didapatkan $p=0,001$. Hasil yang didapatkan tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada variabel morfologi dengan nilai tertinggi yaitu 97,60% pada kelompok perlakuan 3 dengan nilai $p = 0,292$, dan terdapat pengaruh yang signifikan pada variabel viabilitas dengan nilai tertinggi yaitu 84,80% pada kelompok perlakuan 3 dengan nilai $p = 0,001$. Dapat diambil kesimpulan yaitu tidak terdapat pengaruh madu pada kualitas spermatozoa yang diberikan paparan asap rokok elektrik pada variabel morfologi dan terdapat pengaruh madu terhadap kualitas spermatozoa yang diberikan paparan asap rokok elektrik pada variabel viabilitas.

Kata kunci : Spermatozoa, morfologi, viabilitas, madu, asap rokok elektrik

ABSTRACT

*E-cigarette smoke contains various types of chemicals including nicotine, oral used of nicotine is associated with testicular degeneration and decreased testosterone levels. The purpose of this study was to identify the effect of honey on the sperm quality of wistar rats exposed to e-cigarette smoke. The method used is a quasi-experimental laboratory with a post test only control group design approach, with a sample of 25 male rats (*Rattus norvegicus*) using simple random sampling technique. The negative control group (K-) was not given any treatment, the positive group (K+) was given e-cigarette smoke, treatment group 1 (P1) was given e-cigarette smoke and 0.5 mg honey, treatment group 2 (P2) was given e-cigarette smoke and honey with a*

dose of 0.7 mg, treatment group 3 (P3) was given electric cigarette smoke and honey with a dose of 0.9 mg. Data analysis started on morphological variables with normality test using the Shapiro-Wilk test, followed by the Kruskal-Wallis test. On the viability variable, the normality test used the Shapiro-Wilk test, followed by the One Way ANOVA test, and the Levene test obtained 0.397 or homogeneous, then the Post hoc LSD test was obtained $p = 0.001$. The results obtained that there is no significant effect on the morphological variables with the highest value of 97.60% in treatment group 3 with $p = 0.292$, and there is a significant effect on the viability variable with the highest value of 84.80% in treatment group 3 with p value = 0.001. It can be concluded that there is no effect of honey on the quality of spermatozoa given exposure to e-cigarette smoke on the morphological variables and there is an effect of honey on the quality of spermatozoa given exposure to e-cigarette smoke on the viability variable.

Keywords: spermatozoa, morphology, viability, honey, e-cigarette smoke

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah pengguna rokok elektrik setiap tahunnya semakin meningkat, menurut data Survei Sosial Ekonomi Nasional (SUSENAS) tahun 2017 menunjukkan bahwa jumlah penduduk yang menggunakan rokok elektrik di Indonesia adalah sebanyak 4.419.622 orang.¹ Berkembang atau semakin bertambahnya para pengguna rokok elektrik tidak hanya yang dulunya merokok saja tapi ada juga yang bukan perokok atau bahkan tidak pernah merokok, sekarang ikut menggunakan rokok elektrik. Saat ini pada kalangan pria khususnya anak muda sedang diramaikan dengan adanya rokok elektrik yaitu sebuah elektronik yang membuat liquid diubah menjadi uap.²

Asap rokok elektrik mengandung berbagai macam komponen yang telah teridentifikasi, dalam asap rokok elektrik terdiri dari berbagai jenis bahan kimia diantaranya mengandung nikotin. Rokok elektrik (vape) adalah alat yang berfungsi untuk mengubah zat-zat kimia menjadi uap dan mengalirkannya ke paru-paru, di mana zat kimia tersebut merupakan campuran beberapa zat. Rokok elektrik (vape) terdiri dari 3 bagian yaitu baterai, *atomizer* (bagian yang memanaskan dan menguapkan nikotin), dan *cartridge* (berisi larutan nikotin). Kandungan yang terdapat dalam rokok elektrik (*vape*) yaitu berupa *nikotin*, *propylene glycol*, *gliserol*, air, dan berbagai bahan perasa lainnya. Pemakaian nikotin secara oral berkaitan dengan terjadinya degenerasi testis dan penurunan jumlah kadar testosterone.³

Radikal bebas terdapat secara fisiologis pada sperma manusia, dan timbulnya radikal bebas dalam tubuh diimbangi dengan mekanisme pertahanan endogen, dengan memproduksi zat yang mempunyai pengaruh sebagai anti radikal bebas yang disebut antioksidan. Akan tetapi, pada saat lewat ROS meningkat melebihi dari sistem pertahanan antioksidan tubuh, terjadilah stress oksidatif.⁴ Sebuah studi menyatakan bahwa merokok meningkatkan ROS dan menurunkan antioksidan di cairan semen

sehingga seorang perokok lebih rentan mengalami infertilitas karena meningkatnya produksi radikal bebas di dalam sperma, menyebabkan kerusakan DNA dan apoptosis sel sperma. Radikal bebas yang berasal dari partikel gas rokok juga menyebabkan terjadinya aglutinasi sperma sehingga berakibat terhadap menurunnya motilitas sperma.⁵

Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat).⁶ Madu merupakan makanan alami yang banyak digunakan sebagai obat tradisional sejak zaman dulu. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui manfaat dan kandungan dari madu. Salah satu manfaat penting madu yang telah diketahui yaitu sebagai antioksidan. Antioksidan dalam madu terkandung dalam senyawa fenolik, chrysin, pinobanksin, vitamin E, vitamin C, katalase dan pinocembrin.⁷

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin mengetahui pengaruh madu terhadap kualitas spermatozoa (morfologi dan viabilitas) tikus wistar yang terpapar asap rokok elektrik.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian quasi eksperimental laboratorium dengan metode pendekatan *post test only control group design*, populasi yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang berusia 2-3 bulan dengan jumlah sample sebanyak 25 ekor tikus jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok, Kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberikan perlakuan, kelompok positif (K+) diberikan asap rokok elektrik, kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan asap rokok elektrik dan madu dosis 0,5 mg, kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan asap rokok elektrik dan madu dosis 0,7 mg, kelompok perlakuan 3 (P3) diberikan asap rokok elektrik dan madu dosis 0,9 mg.

Pemeriksaan kualitas sperma berupa morfologi dengan cara membuat apusan air mani seperti apusan darah tepi, biarkan kering di hawa udara, selanjutnya memfiksasi dengan tetesan Methanol selama 5 menit, kemudian mewarnai dengan reagen Giemsa 15-20 menit dan cuci dengan akuabides, lalu keringkan di udara. Pemeriksaan morfologi spermatozoa menggunakan perbesaran 1000x dan hitung dalam 200 sperma, jika jumlah sedikit dalam 100 sperma. Kemudian pada pemeriksaan viabilitas dengan meneteskan 1 tetes semen yang sudah mencair ke object glass, lalu menambahkan larutan eosin 0,5% aduk rata dan tutup deck glass biarkan selama 30 detik, lihat dengan perbesaran 400x, hitung dalam 200 sperma, jika jumlah sangat

sedikit dalam 100 sperma. Untuk membedakan sperma hidup (kepala tidak berwarna), sperma mati (kepala warna merah), lalu hitung sperma yang hidup dibanding total sperma yang dihitung dalam persen.

Analisis data dimulai pada variabel morfologi dengan uji normalitas dengan uji *Shapiro-wilk*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* karena nilai $p < 0,05$ atau tidak berdistribusi normal. Pada variabel viabilitas dimulai dengan uji normalitas dengan uji *Shapiro-wilk*, dilanjutkan uji *One Way ANOVA* karena nilai $p > 0,05$ atau berdistribusi normal dan pada uji *Levene* didapatkan 0,397 yang artinya homogen. Kemudian dilakukan uji *Post hoc* LSD karena uji *One Way ANOVA* berdistribusi normal dan didapatkan $p = 0,001$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Tabel 1.

Hasil morfologi sperma

Kelompok	Mean (%)	p^{E}
Kontrol -	97,60 ± 1,14	0,814*
Kontrol +	95,80 ± 1,92	0,223*
Perlakuan 1	96,20 ± 1,10	0,135*
Perlakuan 2	97,40 ± 1,82	0,254*
Perlakuan 3	97,60 ± 2,19	0,033

Keterangan : * Normal ($p > 0,05$); $^{\text{E}}$ *Shapiro-wilk*

Dari hasil uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* pada kelompok perlakuan 3 didapatkan nilai $p = 0,033$, karena nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan data berdistribusi tidak normal, sehingga untuk selanjutnya uji beda dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*.

Tabel 2.

Hasil viabilitas sperma

Kelompok	Mean (%)	p^{E}
Kontrol -	79,40 ± 6,58	0,426*
Kontrol +	56,00 ± 15,41	0,334*
Perlakuan 1	77,60 ± 4,10	0,516*
Perlakuan 2	81,40 ± 10,02	0,424*
Perlakuan 3	84,80 ± 7,05	0,111*

Keterangan : * Normal ($p > 0,05$); $^{\text{E}}$ *Shapiro-wilk*

Dari hasil uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan data berdistribusi normal, sehingga untuk selanjutnya uji beda dengan menggunakan uji *One Way ANOVA*.

Tabel 3.

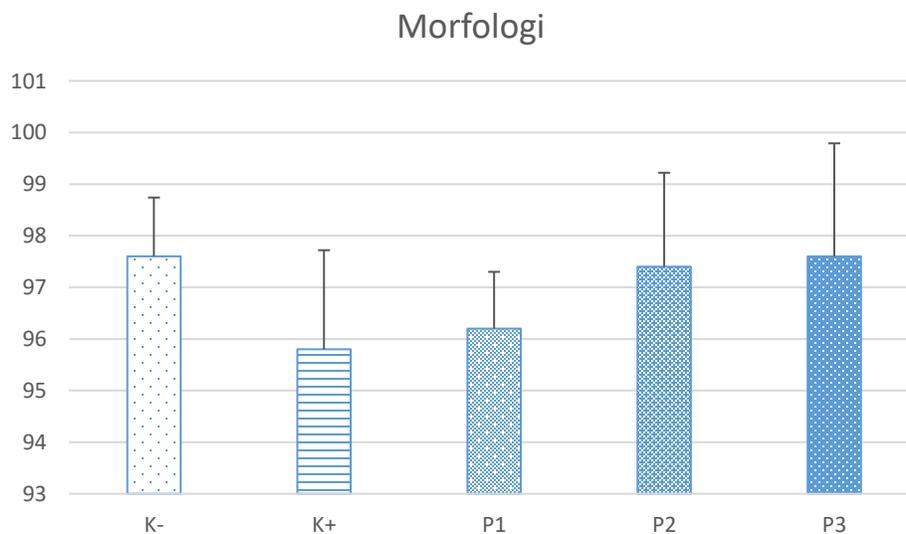
Perbedaan viabilitas antar kelompok perlakuan

Kelompok	Mean (%)	p	Levene
Kontrol -	79,40 ± 6,58	0,001	0,397
Kontrol +	56,00 ± 15,41		
Perlakuan 1	77,60 ± 4,10		
Perlakuan 2	81,40 ± 10,02		
Perlakuan 3	84,80 ± 7,05		

Dari hasil uji beda viabilitas dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai $p = 0,001$ dan *levene* = 0,397, karena nilai $p < 0,05$ dan *levene* > 0,05 maka dapat disimpulkan viabilitas berdasarkan kelompok perlakuan terdapat perbedaan bermakna dan varian data homogen. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan maka uji dilanjutkan dengan menggunakan post hoc LSD.

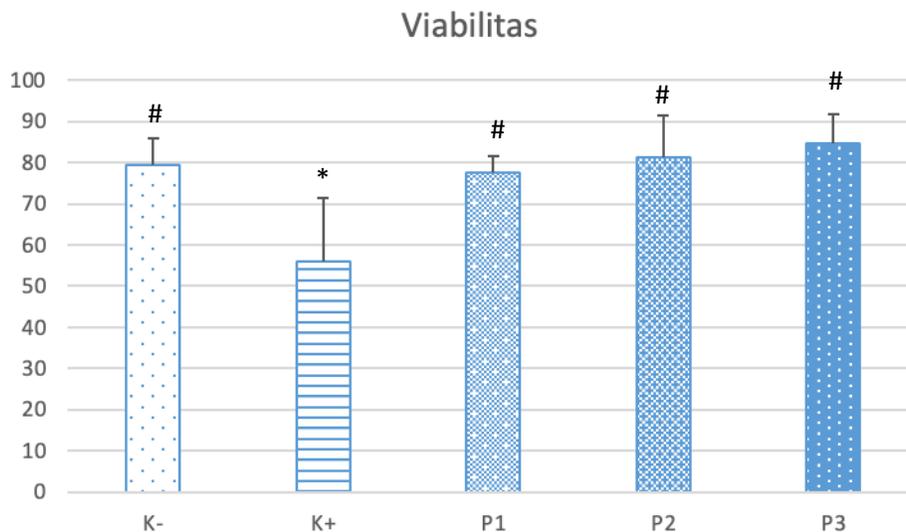
Grafik 1.

Perbedaan morfologi antar kelompok perlakuan



Dari hasil uji beda morfologi dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p = 0,292$, karena nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan morfologi berdasarkan kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan bermakna.

Grafik 2.
Perbedaan viabilitas antar duakelompok perlakuan



Dari hasil uji post hoc LSD didapatkan hasil viabilitas terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K- dengan K+ ($p=0,001$), K+ dengan P1 ($0,002$), K+ dengan P2 ($p=0,001$), K+ dengan P3 ($p=0,001$).

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh madu terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipaparkan asap rokok elektrik. Dari hasil penelitian diatas terdapat perbedaan hasil dari variabel morfologi dan viabilitas spermatozoa yang didapatkan setelah perlakuan, perbedaan hasil pada data yang didapatkan sebagai berikut:

1. Morfologi

Hasil penelitian diatas didapatkan bahwa data berdistribusi tidak normal, sehingga untuk selanjutnya uji beda dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, pada uji *Kruskal-Wallis* didapatkan pada kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan bermakna pada pemeriksaan morfologi.

Berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Makasenda dkk (2016), didapatkan bahwa rerata morfologi normal spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) setelah diberi paparan asap rokok dan diberi madu mengalami peningkatan dibanding dengan kelompok kontrol yang hanya diberi paparan asap rokok dan motilitas abnormal spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) kelompok perlakuan mengalami penurunan dibanding kelompok kontrol. Kelompok kontrol yang diberi paparan asap rokok menunjukkan rerata morfologi normal spermatozoa yang

menurun yaitu 37 % dan rerata morfologi abnormal spermatozoa yang tinggi yaitu 63 %. Kelompok perlakuan (P1) diberi paparan asap rokok 2 batang / hari dan diberi madu 0.5 ml / hari, dan kelompok perlakuan (P2) diberi paparan asap rokok 2 batang / hari dan diberi madu 1 ml / hari, menunjukkan rerata morfologi normal spermatozoa yang lebih tinggi yaitu P1 sebesar 65 % dan P2 sebesar 75 %, sedangkan rerata morfologi abnormal spermatozoa yang lebih rendah yaitu P1 sebesar 35 % dan P2 sebesar 25 %. Dari hasil analisis tersebut, pemberian madu dapat meningkatkan morfologi normal spermatozoa dan menurunkan morfologi abnormal spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapari asap rokok.⁸

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Miseal dkk (2016), didapatkan adanya penurunan kualitas spermatozoa dalam hal ini morfologi spermatozoa pada kelompok kontrol dan perlakuan 2, kelompok perlakuan 1 (P1) diberi paparan asap rokok, kelompok perlakuan 2 (P2) diberi paparan asap rokok elektronik. Dimana untuk morfologi normal spermatozoa pada kelompok kontrol didapatkan morfologi normal 84% dan perlakuan 2 didapatkan 29% memiliki nilai $p=0,004$, kelompok perlakuan 1 didapatkan morfologi normal 67% dan perlakuan 2 didapatkan 29% memiliki nilai $p=0,020$. Sedangkan untuk morfologi spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan 1 tidak menunjukkan pengaruh terhadap perlakuan dengan nilai $p=0,098$.³

2. Viabilitas Spermatozoa

Hasil penelitian ini juga didapatkan hasil analisis data viabilitas bahwa data berdistribusi normal, didapatkan viabilitas pada kelompok K- terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K+. Viabilitas pada kelompok K+ berbeda bermakna terhadap P1, P2 dan P3.

Berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Moustafa (2004), didapatkan hasil pengamatan viabilitas spermatozoa yang diberi ekstrak tauge ditambah madu menunjukkan pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Spermatozoa yang mati akan terwarnai sedangkan spermatozoa yang hidup akan berwarna bening. Spermatozoa yang mati dapat disebabkan karena senyawa radikal bebas yang berdampak pada kematian sel. Penyebab adanya kematian sel dikarenakan DNA mengalami kerusakan akibat pengaruh ROS atau radikal bebas. Kerusakan DNA dapat terjadi karena adanya tekanan oksidatif yang menyebabkan pembentukan radikal bebas meningkat serta berdampak pada terjadinya apoptosis.⁷ Madu memiliki efek antioksidan karena terkandung vitamin C, flavonoid, polifenol, mangan, betakaroten dan masih banyak zat aktif lain yang mampu melindungi sel-sel tubuh termasuk spermatozoa.⁹

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jems,. A dkk (2014), membuktikan bahwa pemaparan asap rokok dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa dan

viabilitas spermatozoa serta meningkatkan abnormalitas spermatozoa. Peningkatan dan penurunan tersebut sejalan dengan lamanya pemaparan asap rokok. Penurunan kualitas spermatozoa diduga akibat radikal bebas asap rokok yang bersifat sitotoksik.

KESIMPULAN

1. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada variabel morfologi dan terdapat perbedaan signifikan pada variabel viabilitas spermatozoa tikus wistar dengan dosis 0,5 ml yang diberi paparan asap rokok elektrik.
2. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada variabel morfologi dan terdapat perbedaan signifikan pada variabel viabilitas spermatozoa tikus wistar dengan dosis 0,7 ml yang diberi paparan asap rokok elektrik.
3. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada variabel morfologi dan terdapat perbedaan signifikan pada variabel viabilitas spermatozoa tikus wistar dengan dosis 0,9 ml yang diberi paparan asap rokok elektrik.
4. Pengaruh madu terhadap kualitas spermatozoa pada viabilitas lebih tinggi dibandingkan morfologi, didapatkan perbedaan yang signifikan pada variabel viabilitas

DAFTAR PUSTAKA

1. Dariatno Sihalo E, Hardiawan D, Thoriq Akbar M, Adiyatma Rum I, YMSiregar A. Determinan Pengeluaran Rokok Elektrik di Kota Bandung Determinants of Electric Cigarette Spending in Bandung City. 2017.
2. Marsigit DB. Vape Sebagai Gaya Hidup Komsumtif Baru Di Masyarakat [Internet]. Vol. 1, Phinisi Integration Review. 2018 [cited 2022 May 25]. p. 201. Available from: <http://ojs.unm.ac.id/pir>
3. Tooy M, Tendean L, Satiawati L, Skripsi K, Kedokteranuniversitas F, Manado SR, et al. Perbandingan kualitas spermatozoa tikus wistar (*rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap rokok dengan asap rokok elektronik. Jurnal e-Biomedik (eBm). 2016;4(2):2-7.
4. Mandasari AA, Asiyah SN, Lintang K. Perubahan Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus*) Yang Terpapar Asap Rokok Elektrik. Biotropic : The Journal of Tropical Biology [Internet]. 2019;3(2):122-8. Available from: <http://jurnalsaintek.uinsby.ac.id/index.php/biotropic>
5. Kurniati ID, Nugraheni DM. Efektivitas Pemberian Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Rasio Berat Testis pada Tikus yang Dipapar Asap Rokok Effectiveness of Giving Cherry Fruit Extract (*Muntingia calabura*) to the



- Testicular Weight Ratio of dapat memproduksi spermat. Jurnal Medica Arteriana. 2019;1(1):15-21.
6. Asri Werdhasari. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia . 2014;3.2:59-68.
 7. Argo Pandu Widigdo. PENGARUH PEMBERIAN DOSIS BERTINGKAT MADU TERHADAP GAMABARAN MIKROSKOPIS HEPAR PADA MENCIT STRAIN Balb/c JANTAN YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK JURNAL MEDIA MEDIKA MUDA. [Semarang]: FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG; 2014.
 8. Makasenda PP, Rumbajan JM, Turalaki GLA. Pengaruh madu terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap rokok. Vol. 4, Jurnal e-Biomedik (eBm). 2016.
 9. Legowo G. Manfaat Madu sebagai Antioksidan dalam Melawan Radikal Bebas dari Asap Rokok untuk Menjaga Kualitas Sperma. Majority. 2016;4(8):41-6.