

PERBEDAAN JUMLAH SEL-SEL SPERMATOSIT PRIMER DAN SPERMATID SETELAH PEMBERIAN NIKOTIN ANTARA 2 MINGGU DAN 3 MINGGU PADA MENCIT (*Mus Musculus*)

Iis Rahmawati*

*Staf Pengajar Keperawatan Maternitas Program Studi Ilmu Keperawatan Universitas Jember

ABSTRACT

There has been an increase in smoking habits in Indonesia and some other developing countries. The main component of cigarette is nicotine of 50% which is absorbed through the respiratory tract, mouth mucus, and skin. 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 two week, threeweeks with the same dosage namely 5 mg/kg bodyweight/day. The final observation was aimed at calculating the number of primary spermatocyte and 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 P3 and K3; P2 and K3; there was significant difference between spermatid cells of P2 and K3. The conclusion of this research was that nicotine caused a decrease in the number of primary spermatocyt and spermatid.

Keywords : nicotine, primary spermatocyte, spermatid

PENDAHULUAN

Rokok secara luas telah menjadi penyebab kematian terbesar didunia, diperkirakan hingga menjelang tahun 2030 kematian akibat merokok akan mencapai 10 juta orang pertahunnya (Depkes, 2005). Data WHO menyebutkan dinegara berkembang jumlah perokoknya 800 juta orang, hampir 3 kali lipat negara maju, setiap harinya sekitar 80-100 ribu remaja didunia yang menjadi pecandu dan ketagihan merokok. WHO memperkirakan

bahwa 59 % pria berusia di atas 10 tahun di Indonesia telah menjadi perokok aktif dan konsumsi rokok Indonesia setiap tahun mencapai 199 milyar batang rokok. WHO juga menyebutkan di negara berkembang termasuk Indonesia ada 50 % pria dan 8% wanitanya punya kebiasaan merokok. (WHO,2003).

Indonesia merupakan salah satu negara konsumen tembakau terbesar di dunia. Menurut Bank Dunia, konsumsi rokok di Indonesia

sekitar 6,6% dari seluruh konsumsi dunia. Konsumsi rokok di Indonesia dalam 30 tahun terakhir meningkat tajam, yaitu dari 33 milyar batang per tahun pada tahun 1970 menjadi 230 milyar batang pada tahun 2006. Indonesia menduduki peringkat ke-5 dalam konsumsi rokok dunia, serta peringkat ke-7 dalam penghasil tembakau, sebagaimana tercantum dalam tabel 1 dan 2 berikut ini.

Tabel 1. Negara Penghasil Tembakau Terbesar Di Dunia

No	Negara	Dalam ton	Persen
1	China	2.409.215	38
2	Brasilia	654.250	10,3
3	India	575.000	9,1
4	Amerika	401.890	6,3
5	serikat	172.947	2,7
6	Zimbabwe	145.000	2,3
7	Turki	144.700	2,3
8	Indonesia	135.000	2,1
9	Yunani	130.400	2,1
10	Italia	85.100	1,3

Sumber : Yoga, T. 2006

Tabel 2. Negara Konsumen Rokok Terbesar

No	Negara	Milyar batang
1	China	1.697,291
2	Amerika	563,504
3	serikat	375,000
4	Rusia	299,085
5	Jepang	181.958
6	Indonesia	148,400
7	Jerman	116,000
8	Turki	108,200
9	Brasilia	102,357
10	Italia	108,200
11	Brasilia	102,357
12	Italia	94,309
13	Spainyol	

Sumber : Yoga, T. 2006

Survey yang dilakukan Universitas Padjadjaran (1978) melaporkan usia pertama kali merokok pada anak adalah 12 (dua belas) tahun. Universitas Airlangga (1989) melakukan penelitian dengan melaporkan bahwa angka 12 itu telah bergerak ke angka 8 (delapan) tahun.

Penelitian terbaru yang dilakukan bersama antara Universitas Andalas, Universitas Gajah Mada dan Universitas Padjajaran melaporkan usia anak pertama kali merokok telah menyentuh angka 7 (tujuh) tahun (Nugraheni, 2003), selain itu juga menurut studi dari Universitas Leicester (2007) menyatakan bahwa anak-anak yang mempunyai paling sedikit salah satu orang tua yang merokok, memiliki kadar nikotin 5,5 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan orang tuanya yang tidak merokok, hal ini sesuai dengan penelitian Susana et al (2003) bahwa nikotin yang terdapat dalam asap rokok arus samping 4-6 kali lebih dari asap rokok arus utama, hampir 40% anak dibawah 5 tahun terpapar asap tembakau dan rokok bertanggungjawab terhadap lebih dari 6000 kematian anak-anak muda di Amerika.

Rokok mengandung lebih dari 4000 komponen, Senyawa toksik juga terdapat pada rokok, yaitu CO, nikotin dan PAH (WHO, 2000; Neal dkk, 2007; Vasques, 2008). Asap rokok menyebabkan terganggunya spermatogenesis dalam tubulus seminiferus. FSH, testosterone dan LH adalah hormon yang berperan penting dalam spermatogenesis.

METODOLOGI 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. satu kelompok diberikan placebo 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. Besar sampel minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasarkan rumus Kemas, (1991) sebagai berikut:

$$\begin{array}{lcl} (t-1) (r-1) & \geq & 15 \\ (3-1) (r-1) & \geq & 15 \\ 3 (r-1) & \geq & 15 \\ 3r-3 & \geq & 15 \\ 3r & \geq & 15+3 \\ r & \geq & 6 \end{array}$$

Keterangan :

t = perlakuan

r = ulangan

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 28ekor sampel.

Penelitian ini menggunakan preparat histologik testis mencit jantan dengan pengamatan secara mikroskopik, menggunakan mikroskop cahaya, mula-mula digunakan pembesaran 100 X kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 200 X. Setiap preparat testis mencit jantan diamati dan dihitung jumlah sel spermatis primer dan spermatid menjadi pusat penglihatan dibawah mikroskop.

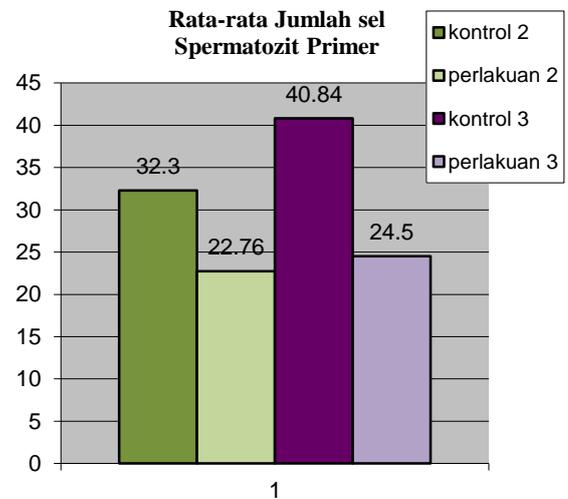
Analisis data untuk mengetahui beda nilai rata-rata jumlah sel spermatis primer dan spermatid pada masing-masing kelompok perlakuan dilakukan dengan uji Anova satu arah. (dengan

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; Riduwan, 2009).

HASIL PENELITIAN

Jumlah Sel Spermatis Primer

Rata-rata jumlah sel-sel spermatis primer setelah pemberian injeksi nikotin pada tiap kelompok perlakuan 2 minggu dan 3 minggu, mengalami penurunan, dapat dilihat dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol. Penurunan jumlah sel spermatis primer dapat digambarkan pada diagram batang di bawah ini :

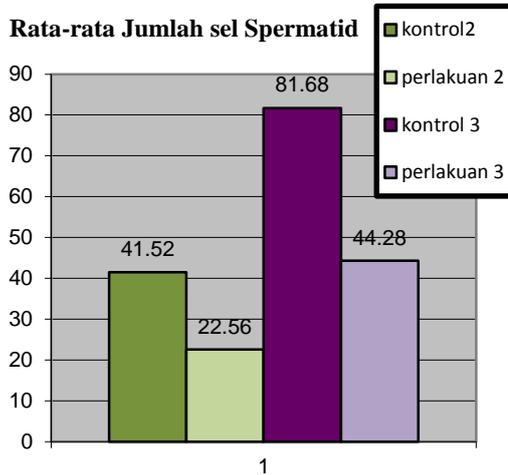


Gambar 1. Diagram batang jumlah sel spermatis primer setelah pemberian injeksi nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu

Jumlah Sel-sel Spermatisid

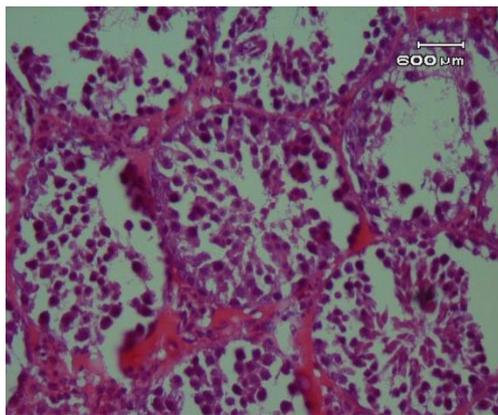
Rata-rata jumlah sel-sel spermatisid setelah pemberian injeksi nikotin pada tiap kelompok perlakuan 2 minggu dan 3 minggu,

mengalami penurunan, dapat dilihat dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol. Penurunan jumlah sel spermatosit primer dapat digambarkan pada diagram batang di bawah ini :

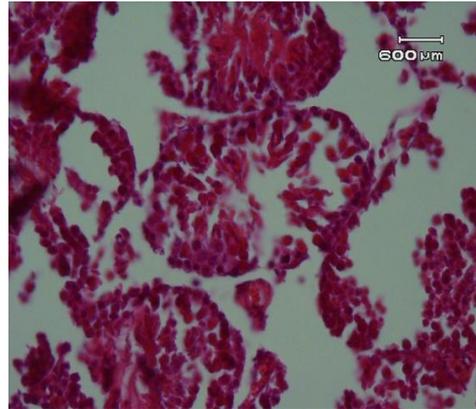


Gambar 2 Diagram batang jumlah sel spermatid setelah pemberian injeksi nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu

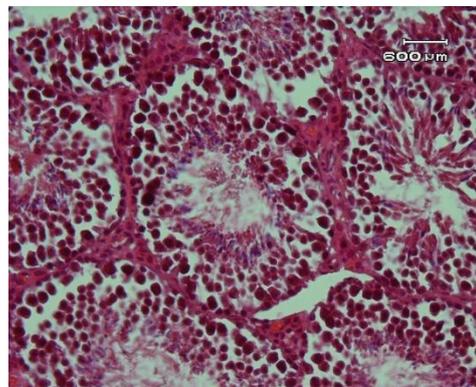
Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus



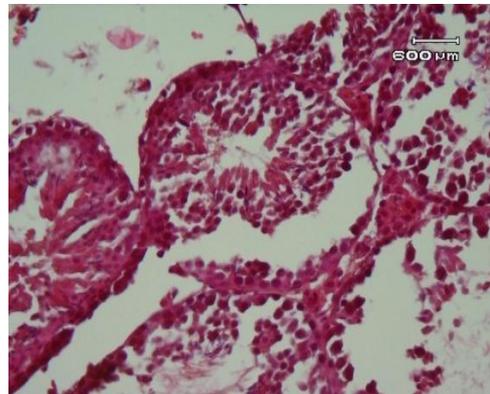
(A)



(B)



(A)



(B)

Keterangan :

Gambar 3 : Penampang melintang tubulus seminiferus testis pada kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B) selama 2 minggu dengan pewarnaan PAS, pembesaran 400 x

Gambar 4 : Penampang melintang tubulus seminiferus testis pada kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B) selama 3 minggu dengan pewarnaan PAS, pembesaran 400 x

Gambaran histologi kelompok kontrol selama 2 minggu dan 3 minggu dapat di lihat pada gambar 3(A), 4(A) terlihat adanya asosiasi sel-sel spermatogenik (spermatosit primer, spermatid) tersusun berlapis sesuai dengan tingkat perkembangannya menuju ke arah lumen 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 histologi kelompok perlakuan injeksi nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu dengan dosis 5 mg/kg BB/hr, dapat di lihat pada gambar 3(B),4(B) terlihat urutan pematangan sel-sel spermatogenik (sel spermatosit primer, spermatid) masih tetap, susunan sel-sel spermatogenik yang longgar dan tidak teratur, kepadatan spermatozoa didalam lumen tubulus tidak seperti pada kelompok kontrol (A), lumen pada kelompok ini mengandung spermatosit primer dan spermatid yang lebih sedikit sehingga lumen terlihat tidak penuh, dibandingkan dengan kelompok kontrol terlihat adanya penurunan jumlah sel-sel spermatogenik.

PEMBAHASAN

Jumlah Sel-Sel Spermatogenik

Tubulus seminiferus merupakan saluran tempat memproduksi spermatozoa. Tubulus seminiferus dilapisi oleh lapisan epitel germinal yang mengandung sel-sel spermatogenik yang dilindungi oleh membran dasar. Epitel tubulus seminiferus terdiri atas 2 kategori sel yang berbeda, yaitu sel-sel penyokong dan nutrisi (sel Sertoli) serta sel-sel spermatogenik. Sel-sel spermatogenik membentuk bagian terbesar dari lapisan epitel dan melalui proliferasi serta diferensiasi yang kompleks akan menghasilkan spermatozoa (Lesson, 1996).

Penelitian ini hanya menggunakan dua jenis sel spermatogenik, yaitu sel spermatosit primer dan sel spermatid. Spermatosit primer merupakan sel yang mempunyai ukuran yang lebih besar dari sel spermatogenik yang lainnya dan spermatid yaitu sel yang jauh lebih kecil dan berinti, vesikuler dan terletak di sentral (Hayati, 2010). Hasil penelitian diketahui bahwa pemberian injeksi nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu dapat menurunkan jumlah sel spermatosit primer, spermatid mencit jantan. Jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid mengalami penurunan pada lama perlakuan 2 minggu dengan dosis yang sama yaitu 5 mg/kg BB/hr, kemudian jumlahnya meningkat pada perlakuan minggu ketiga dengan dosis yang sama yaitu 5 mg/kg BB/hr dan setelah diuji dengan Anova ternyata penurunan jumlah kedua jenis sel spermatogenik ini bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid mulai meningkat kembali pada lama perlakuan 3 minggu disebabkan oleh nikotin dapat meningkatkan kadar FSH sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap gangguan spermatogenesis yang ditimbulkannya. Hipotalamus dalam system reproduksi jantan berfungsi menghubungkan susunan syaraf pusat dan proses reproduksi dengan jalan mengirimkan sinyal neurohormonal (GnRH) ke hipofisis anterior. GnRH merangsang kelenjar hipofisa untuk mengeluarkan hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH yang selanjutnya akan mempengaruhi testis untuk berfungsi. FSH menstimulasi pertumbuhan sel-sel germinatif dari tubulus seminiferus dan mendorong terjadinya proses spermatogenesis secara sempurna. FSH dipengaruhi oleh mekanisme umpan balik negatif apabila jumlah sel-sel spermatogenik mengalami penurunan, sehingga jumlah sel-sel spermatogenik (sel-sel spermatosit primer, spermatid) jumlahnya bertambah pada lama perlakuan 3 minggu, tetapi hal tersebut apabila berlangsung terus-menerus akan terjadi gangguan dalam pengaturan hormonal dan akan berdampak terhadap infertilitas.

Mekanisme kompensasi tersebut hanya terjadi pada perlakuan yang terlama yaitu selama 3 minggu, sedangkan pada perlakuan 2 minggu pada penelitian ini tidak terjadi kompensasi, akibatnya adalah jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid jumlahnya lebih sedikit pada lama perlakuan 2 minggu tapi kemudian jumlahnya meningkat lagi pada lama perlakuan 3 minggu. Peningkatan jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid pada lama perlakuan 3 minggu ini masih tetap

lebih rendah bila dibandingkan dengan jumlah sel-sel spermatosit primer, spermatid pada kelompok kontrol atau mencit yang tidak diberi perlakuan nikotin.

Nikotin berdasarkan sifat toksiknya dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik secara langsung melalui jalur hormonal juga bisa melalui kerusakan dan kematian sel akibat pengaruh dari nikotin yang diberikan bersifat pro-oksidan. Pro-oksidan yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif akibat pajanan nikotin akan menyebabkan apoptosis pada sel spermatogenesis di tubulus seminiferus dengan meningkatkan ratio BAX, protein BAX ini akan menekan aktivitas BCL-2 pada membran mitokondria sehingga terjadi perubahan permeabilitas membran dari mitokondria, perubahan ini mengakibatkan terjadinya pelepasan *cytokrom-c* ke sitosol, di sitosol *cytokrom-c* akan mengaktifasi Apaf-1 yang selanjutnya akan mengaktifasi kaskade kaspase dan kaspase yang aktif ini akan mengakibatkan DNA-se, kemudian DNA-se yang aktif menembus membran inti dan merusak DNA, sehingga DNA sel yang bersangkutan rusak atau fragmentasi dan akhirnya sel mengalami kematian atau apoptosis. Apoptosis tersebut akan menyebabkan sel germinal menjadi atresia dan jumlahnya berkurang (Yildiz et al, 1998).

Perbedaan yang bermakna antara jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid dilanjutkan dengan uji BNT. Hasilnya adalah perbedaan yang bermakna mayoritas terjadi antara kelompok kontrol dan

perlakuan. Jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid tidak semua berbeda secara bermakna disebabkan oleh perbedaan lama perlakuan yang diberikan memberikan efek yang hampir sama untuk perkembangan jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid. Lama perlakuan nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu belum dapat memberikan efek yang berbeda secara bermakna untuk semua jenis sel-sel spermatosit primer dan spermatid, walaupun secara deskriptif terlihat penurunan jumlah.

Hasil penelitian untuk kelompok kontrol atau kelompok yang tidak diberikan injeksi nikotin, didapatkan jumlah sel-sel spermatogenik 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 genitalia, pada saat itu rata-rata jumlahnya mencapai sekitar 5000, tetapi masing-masing mencit jumlahnya berbeda-beda (Rugh, 1997).

Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus

Tubulus seminiferus terdiri dari sejumlah besar sel-sel epitel germinal yang disebut spermatogonia terletak dalam 2 sampai 3 lapisan sepanjang batas luar epitel tubulus. Spermatogonia terus-

menerus ber-proliferasi untuk memperbanyak diri dan sebagian dari spermatogonia berdiferensiasi melalui tahap-tahap perkembangan tertentu untuk menghasilkan spermatozoa.

Histologi tubulus seminiferus yang normal dapat dilihat pada gambar 4,5. menunjukkan adanya sel spermatogenik pada sayatan yang melintang tubulus seminiferus testis mencit. 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 spermio-genesis. Kelompok mencit yang diberi injeksi nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu, terlihat susunan sel-sel spermatogenik yang longgar dan tidak teratur, kepadatan spermatozoa didalam lumen tubulus tidak seperti pada kelompok kontrol, lumen pada kelompok ini mengandung spermatosit primer dan spermatid yang lebih sedikit sehingga lumen terlihat tidak penuh. Longgarnya susunan spermatogenik pada penampang tubulus seminiferus testis mencit pada kelompok perlakuan nikotin selama 2 minggu dan 3 minggu dibandingkan dengan kelompok kontrol disebabkan oleh adanya kerusakan sel-sel spermatogenik yang selanjutnya akan berdegenerasi dan difagositosis oleh sel Sertoli.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan, maka

hipotesis dapat terbukti kebenarannya, yaitu :

- a. Pemberian injeksi nikotin subkutan selama 2 minggu dan 3 minggu dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatosit primer, spermatid) pada mencit jantan (*Mus musculus*).
- b. Waktu pemberian minimal (2 minggu) sudah menunjukkan penurunan dari jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatosit primer, spermatid) pada mencit jantan (*Mus musculus*).
- c. Perbedaan pengaruh yang sangat bermakna untuk sel-sel spermatosit primer yaitu perlakuan 3 minggu terhadap kontrol 3 minggu dan perlakuan 2 minggu terhadap kontrol 3 minggu. Perbedaan pengaruh yang sangat bermakna untuk sel-sel spermatid yaitu perlakuan 2 minggu terhadap kontrol 3 minggu.

Saran

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

- a. Mekanisme kerja nikotin dalam menghambat hormon-hormon yang berperan pada spermatogenesis.
- b. Mekanisme kerja nikotin dalam menimbulkan kerusakan dan kematian sel secara langsung dalam spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

Dahlan. 2008. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Jakarta : Penerbit Salemba Medika.4.

- Depkes RI. (2005). *Pedoman Perencanaan Program Kesehatan Remaja*. Jakarta: Dirjen Bina Kesehatan Masyarakat.
- Nugraheni 2003. *Spermatologi*. Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. 64-70
- Kemas A.S, 1991. *Rancangan percobaan*. Universitas Sriwijaya Palembang. Jakarta : Rajawali Press, hal. 19-52
- Neal , Jacob P and Benowitz NL, 2007. *Metabolism and disposition kinetics of nicotine*. *Pharmacological Reviews* 57(1) : 79-115.
- Yoga T, 2006. *Gangguan mental dan perilaku akibat penggunaan zat psikoaktif*, Edisi 2. Jakarta:EGC. hlm:154-179.
- Rugh.1997. *Caspase 3 and caspase activated deoxyribonuclease are associated with testicular germ cell apoptosis resulting from reduced intratesticular testosterone*. *Endocrinology* 142; 3809-3916.
- Riduwan, 2009. *Dasar-dasar statistika*. Bandung. Penerbit Alfabeta, hal.217-222, 238-243.
- Sugiyono, 2008. *Metode penelitian kuantitatif*. Bandung : Penerbit Alfabeta, hal 10-25
- WHO2003. *Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok*. *Makara Kesehatan* : 7-12
- WHO 2000. *Strategi Nasional Kesehatan Remaja*. Jakarta: Dirjen Bina Kesehatan Masyarakat.

Vasques 2008. *Additive effect of alcohol and nicotine on LPO and antioxidant defence mechanism in rats*. Journal of Application Toxicology, 16:305 – 308.

Yildiz. D., Ercal, N. & Armstrong, D.W, 1998. *Nicotine enantiomers and oxidative stress*. Toxicology, 130: 155-165.