

Pengaruh Pemberian Jus Semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) Peroral Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Yang Dipapar Asap Rokok

Lusy Elwinda¹, Rina Amtarina², M.Yulis Hamidy³

ABSTRACT

Infertility is influenced by many factors, one of them is reactive oxygen species (ROS) containing free radicals. Free radicals can be neutralized by antioxidants. Watermelon (*Citrullus vulgaris* Schard.) contains compounds with strong antioxidant activity so that protect the spermatozoa from the toxic effects of ROS. The purpose of this research was to determine the effect of watermelon juice to the number of spermatozoa's mice exposed by cigarette smoke. Its design was the post test only, while the subjects were 20 male mices, which divided into five groups were baseline, K(-), P1, P2 and P3. This experimental study lasted for 14 days. On the 15th day, all mice were terminated and the number of spermatozoa was examined. One way anova test showed significant differences of spermatozoa count between groups ($p=0,000$). Based on post hoc test there were significant differences between group of baseline with K(-) and P1, between group of K(-) with P2 and P3, and between group of P2 with P1 and P3. This study showed that watermelon juice increased the number of spermatozoa in mice exposed by cigarette smoke and dose 0.32 ml/day gave the best effect.

Keywords: cigarette smoke, watermelon (*Citrullus vulgaris* Schard.), number of spermatozoa

Infertilitas didefinisikan sebagai ketidakmampuan untuk hamil setelah 1 tahun melakukan hubungan seksual tanpa menggunakan kontrasepsi.¹ Infertilitas di Indonesia yaitu 12%-15% pada pasangan usia reproduksi.² Penyebab infertilitas dapat digolongkan menjadi faktor laki-laki (25%), faktor tuba uterin (22%), faktor ovulasi (27%), faktor lain (9%), dan faktor yang tidak diketahui (*unexplained infertility*) (17%).¹

Penyebab infertilitas pria dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah keberadaan senyawa oksigen reaktif (ROS) yang merupakan radikal bebas.³ Radikal bebas diproduksi secara endogen selama proses metabolik normal dan dapat diperoleh pula secara eksogen. Secara endogen,

radikal bebas diproduksi oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma, dan inti sel. Secara eksogen, radikal bebas berasal dari asap rokok, polutan radiasi, obat-obatan dan pestisida.⁴ Radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok jumlahnya sangat banyak, dalam satu kali hisap diperkirakan masuk 10^{14} molekul radikal bebas.⁵

Radikal bebas dapat dinetralkan dengan antioksidan. Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen.⁶ Antioksidan eksogen dapat berasal dari buah-buahan dan sayur-sayuran.⁷ Salah satu tanaman buah yang mengandung senyawa antioksidan adalah semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.).⁸

Semangka memiliki kandungan vitamin C, betakaroten dan likopen yang berfungsi sebagai

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Riau

² Corresponding author. Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Jl.Diponegoro No.1 Pekanbaru, e-mail: am4thor@yahoo.com

³ Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

antioksidan.⁸ Likopen merupakan golongan karotenoid yang mempunyai ikatan rangkap 2 lebih banyak dari karotenoid lainnya dan 15-20 kali lebih kuat dari vitamin C dan E.⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Gupta dan Kumar (2002) pada 30 orang pria infertil idiopatik berusia 23-45 tahun yang diberi 2000 mcg likopen dua kali sehari selama 3 bulan, menunjukkan peningkatan jumlah spermatozoa, struktur spermatozoa membaik, dan peningkatan pergerakan spermatozoa.³

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian jus semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) merah terhadap jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dengan rancangan *post test only* yang dilaksanakan pada bulan Maret sampai April 2011 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau. Sampel penelitian ini adalah 20 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-25 gram dan memenuhi kriteria hewan uji sehat. Berdasarkan rumus: $t(r-1)^{e''}$ 15, dimana t = jumlah kelompok percobaan dan r = jumlah hewan coba, jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok sebanyak 4 ekor yang terdiri dari 5 kelompok.

Semangka yang dipergunakan adalah semangka merah varietas *baby sugar*. Tahapan pembuatan jus semangka dilakukan dengan cara semangka dijus dengan menggunakan blender tanpa ditambahkan air. Dengan demikian, diperoleh jus semangka dengan konsentrasi 100%.

Penentuan dosis pemberian jus semangka berdasarkan salah satu kandungan semangka yaitu likopen. Penelitian yang dilakukan oleh Gupta dan Kumar diketahui dosis likopen pada manusia dengan berat badan 70 kg yaitu 2000 mcg.³ Pada semangka merah varietas *baby sugar*, kadar likopen adalah 3720 mcg/100 g.¹⁰ Konversi dosis terapi pada manusia (berat badan 70 kg) ke mencit (berat badan 20 gram), berdasarkan tabel konversi Laurence & Babharach (1964) yaitu 0,0026.¹¹ Jadi, dosis pemberian jus semangka pada mencit adalah 0,14 gram setara dengan 0,16 ml. Jadi, jus semangka yang akan diberikan pada mencit sebanyak 0,16 ml, 0,32

ml dan 0,64 ml.

Seluruh hewan coba dibagi secara acak menjadi 5 kelompok dan diadaptasikan dengan lingkungan yang baru selama 1 minggu. Pembagian kelompok perlakuan sebagai berikut:

Baseline : kelompok mencit yang diberi *aquadest* 0,64 ml

K(-) : kelompok mencit yang dipapar $\frac{1}{2}$ batang asap rokok + *aquadest* 0,64 ml sebagai kontrol negatif.

P1 : kelompok mencit yang dipapar $\frac{1}{2}$ batang asap rokok + 0,16 ml jus semangka merah dan ditambahkan *aquadest* sampai 0,64 ml

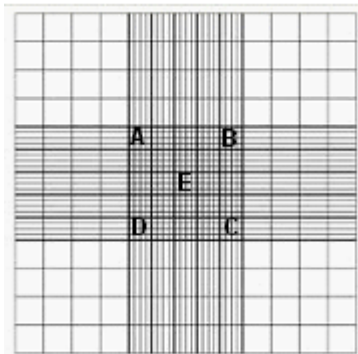
P2 : kelompok mencit yang dipapar $\frac{1}{2}$ batang asap rokok + 0,32 ml jus semangka merah dan ditambahkan *aquadest* sampai 0,64 ml

P3 : kelompok mencit yang dipapar $\frac{1}{2}$ batang asap rokok + 0,64 ml jus semangka merah

Pemaparan asap rokok dilakukan dengan memasukkan setiap kelompok mencit ke dalam kotak yang berukuran 30x22x19 cm, kemudian dipapar asap rokok sebanyak $\frac{1}{2}$ batang menggunakan spuit 10 cc. Pemberian perlakuan dilakukan selama 14 hari.⁵ Pada hari ke-15 diambil vas deferens untuk dilakukan pengambilan data jumlah spermatozoa. Spermatozoa mencit diambil dengan cara membius mencit dengan eter, kemudian dibedah, lalu vas deferens diambil dan diletakkan dalam cawan yang berisi 1 ml NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian vas deferens ditekan dengan perlahan sehingga sekresi cairan vas deferens keluar dan tersuspensi dengan NaCl fisiologis 0,9%. Sampel yang telah terkumpul terlebih dahulu dihomogenkan, kemudian diambil sebanyak 10 μ l sampel dan ditetaskan ke dalam kotak-kotak hemositometer Improved Neubauer yang telah ditutup dengan kaca penutup. Di bawah mikroskop cahaya perbesaran 400 kali, hemositometer diletakkan dan dihitung jumlah spermatozoa pada kotak/bidang A, B, C, D, dan E. Hasil perhitungan jumlah spermatozoa kemudian dimasukkan ke dalam rumus penentuan jumlah spermatozoa/ml suspensi spermatozoa sebagai berikut.¹²

$$\text{Jumlah spermatozoa} = N/2 \times 10^5 \text{ spermatozoa/ml}$$

N= jumlah spermatozoa yang dihitung pada kotak A, B, C, D dan E



Gambar 1. Hemositometer Improved Neubauer

Tabel 1. Pengaruh perlakuan terhadap jumlah spermatozoa

Kelompok	n	Rata-rata jumlah spermatozoa ($\times 10^5$ spermatozoa/ml) $\pm$ SD
<i>Baseline</i>	4	13,25 $\pm$ 1,936
K(-)	4	6,25 $\pm$ 1,658
P1	4	9,5 $\pm$ 0,408
P2	4	16,625 $\pm$ 1,25
P3	4	12,125 $\pm$ 2,594

Keterangan:

- n : jumlah sampel tiap kelompok
- baseline* : kelompok mencit yang diberi pakan biasa
- K(-) : kelompok mencit yang diberi pakan biasa + paparan asap rokok 1/2 batang sebagai kontrol negatif.
- P1 : kelompok mencit yang dipapar asap rokok sebanyak 1/2 batang dan diberi 0,16 ml jus semangka merah
- P2 : kelompok mencit yang dipapar asap rokok sebanyak 1/2 batang dan diberi 0,32 ml jus semangka merah
- P3 : kelompok mencit yang dipapar asap rokok sebanyak 1/2 batang dan diberi 0,64 ml jus semangka merah
- SD : standar deviasi

Data yang dikumpulkan bersifat kuantitatif berupa perhitungan jumlah spermatozoa dalam vas deferens. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur, dilakukan pengujian dengan *one-way Anova* pada taraf signifikan 1%. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilakukan uji lanjut dengan *post hoc LSD*, untuk melihat letak perbedaan pengaruh antar perlakuan.

HASIL

Jumlah spermatozoa mencit yang dipapar asap rokok setelah diberi jus semangka sebagai berikut:

Nilai rata-rata jumlah spermatozoa dari yang terbesar sampai yang terkecil secara berturut-turut adalah pada kelompok P2, kelompok *baseline*, kelompok P3, kelompok P1 dan kelompok K(-). Jumlah spermatozoa pada semua kelompok yang diberikan jus semangka merah mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Analisis secara statistik dilakukan untuk mengetahui kebermaknaan antara kelompok-kelompok tersebut. Sebelumnya dilakukan uji normalitas sebaran data dan uji variansi data. Dari uji tersebut diketahui bahwa sebaran data normal dan variansi datanya sama. Kemudian dilakukan uji *one way anova* dan diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,01$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan antara nilai rata-rata jumlah spermatozoa pada tiap kelompok. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan jumlah spermatozoa pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Signifikansi
<i>Baseline</i> vs K(-)	p=0,000*
<i>Baseline</i> vs P1	p=0,008*
<i>Baseline</i> vs P2	p=0,015**
<i>Baseline</i> vs P3	p=0,372**
K(-) vs P1	p=0,018**
K(-) vs P2	p=0,000*
K(-) vs P3	p=0,000*
P1 vs P2	p=0,000*
P1 vs P3	p=0,049**
P2 vs P3	p=0,002*

Keterangan:

* (*significant*): terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,01$)

**(*non-significant*): tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,01$)

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa kelompok kontrol negatif mengalami penurunan jumlah spermatozoa secara bermakna dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberikan *aquadest*, kelompok jus semangka dosis 0,32 ml dan dosis 0,64 ml. Kelompok jus semangka dosis 0,32 ml mengalami peningkatan jumlah spermatozoa secara bermakna dibandingkan kelompok yang hanya dipapar asap rokok, kelompok jus semangka dosis 0,16 dan dosis 0,64 ml.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah spermatozoa pada kelompok K() atau kelompok yang dipapar asap rokok dibandingkan dengan kelompok *baseline* atau kelompok tanpa dipapar asap rokok. Asap rokok mengandung berbagai senyawa oksigen reaktif (ROS).¹³ ROS menyerang PUFA membran plasma spermatozoa yang akan menyebabkan kerusakan membran disebut peroksidasi lipid.¹⁴ Selain merusak membran plasma, ROS juga dapat merusak integritas DNA pada nukleus spermatozoa. Kerusakan DNA ini pada akhirnya akan menginduksi terjadinya apoptosis sel yang pada akhirnya menyebabkan turunnya jumlah spermatozoa.¹⁵ Pada penelitian Mehrannia (2007)¹⁶

didapatkan bahwa merokok dapat menurunkan jumlah, motilitas dan morfologi normal spermatozoa.

Jumlah spermatozoa dari kelompok perlakuan, yaitu kelompok dengan dosis jus semangka 0,16 ml, 0,32 ml dan 0,64 ml menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (yang dipapar asap rokok tanpa diberi jus semangka). Peningkatan jumlah spermatozoa terjadi karena mencit diberi perlakuan berupa jus semangka yang berfungsi sebagai antioksidan dan diharapkan dapat mencegah penurunan jumlah spermatozoa akibat radikal bebas yang berlebihan tersebut. Kandungan antioksidan semangka berupa likopen, betakaroten dan vitamin C.⁸ Karotenoid bekerja sebagai antioksidan pemutus rantai radikal bebas. Karotenoid melindungi dari peroksidasi dengan bereaksi terhadap radikal hidroperoksil lemak.¹⁷ Betakaroten merupakan karotenoid yang larut dalam lemak dan merupakan prekursor vitamin A. Betakaroten adalah antioksidan yang kuat dan dapat memadamkan pengaruh oksigen tunggal (*singlet oxygen*).¹⁸ Kandungan likopen dalam semangka memiliki kekuatan antioksidan lebih baik dari pada vitamin C dan E.⁹ Likopen sebagai antioksidan mempunyai kemampuan untuk melawan kerusakan sel-sel tubuh akibat radikal bebas dengan mengurangi efek toksik dari spesies oksigen reaktif (ROS).¹⁷

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian jus semangka dosis 0,32 ml merupakan dosis terbaik dalam meningkatkan jumlah spermatozoa dan pada penelitian Ramadhan (2011)¹⁹ juga didapatkan bahwa pemberian air perasan semangka dosis 0,3 ml dapat meningkatkan motilitas

spermatozoa mencit secara bermakna. Penelitian Gupta dan Kumar (2002)³ pada 30 orang pria infertil idiopatik berusia 23-45 tahun yang diberi 2000 mcg likopen dua kali sehari secara oral selama 3 bulan, menunjukkan peningkatan jumlah spermatozoa (66,6%), morfologi spermatozoa membaik (46%) dan peningkatan pergerakan spermatozoa (56%).

Semangka merupakan sumber vitamin C.⁸ Vitamin C dapat menetralkan radikal hidroksil, superoksida dan hidrogen peroksida dan mencegah aglutinasi spermatozoa, sedangkan sebagai antioksidan pemutus-reaksi berantai, memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E tereduksi.^{7,17} Vitamin C dapat meningkatkan jumlah spermatozoa in vivo pada pria infertil dengan dosis sekitar 200-1000 mg/hari.⁷ Pada penelitian Astirin dkk (2003)²⁰ dibuktikan bahwa penambahan vitamin C dapat memperbaiki spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit setelah pemberian ekstrak tembakau dan hasil penelitian Purnawati (2006)²¹ menyebutkan bahwa pemberian jus buah tomat yang mempunyai kadar likopen dan vitamin C yang tinggi dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit strain *Balb/c* jantan yang dipapar asap rokok.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok *aquadest* dengan kelompok jus semangka dosis 0,32 ml dan 0,64 ml tidak memiliki perbedaan yang bermakna, hal ini menunjukkan bahwa jumlah spermatozoa pada kelompok yang dipapar asap rokok dan jus semangka kembali mendekati rerata kelompok *aquadest* (normal). Pada kelompok yang dipapar asap rokok dengan kelompok jus semangka dosis 0,16 ml tidak memiliki perbedaan yang bermakna, hal ini disebabkan dosis jus semangka yang diberikan belum mampu menimbulkan efek antioksidan terhadap radikal bebas yang dihasilkan oleh asap rokok. Pada kelompok jus semangka dosis 0,32 ml dengan kelompok 0,64 ml tidak memiliki perbedaan bermakna artinya efek peningkatan jumlah spermatozoa pada kedua dosis tersebut relatif sama.

Hasil hitung jumlah spermatozoa menunjukkan dosis 0,32 ml memberikan efek paling baik diikuti dosis 0,64 ml dan terakhir dosis 0,16 ml. Rendahnya hasil hitung jumlah spermatozoa kelompok dosis 0,64 ml dibandingkan dosis 0,32 ml menunjukkan bahwa dosis tinggi belum tentu memberikan efek antioksidan yang baik pula. Hal ini mungkin

dikarenakan antioksidan konsentrasi tinggi dapat bertindak sebagai prooksidan.²² Penelitian Podmore menunjukkan vitamin C yang diberikan kepada manusia sehat dengan dosis 500 mg per hari dapat menginduksi kerusakan DNA pada sel limfosit perifer dengan mengoksidasi adenine pada rantai DNA yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif.²³

KESIMPULAN

Pemberian jus semangka dapat mencegah penurunan jumlah spermatozoa mencit yang dipapar asap rokok dan penggunaan dosis 0,32 ml memberi hasil terbaik dalam meningkatkan jumlah spermatozoa.

TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Tinasari Suwarlim, Apt, dr. Winarto, M.Kes, selaku dosen penguji, analis laboratorium Farmakologi dan Biologi FK UR, keluarga, teman-teman dan seluruh pihak yang telah turut serta membantu sehingga penelitian ini terlaksana dengan baik.

DAFTAR RUJUKAN

1. Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Hoffman BL, Bradshaw KD, Cuningham G. Williams Gynecology. Dallas: Mc Graw Hill Companies, 2008
2. Respati G. Keberhasilan program fertilisasi in vitro di klinik infertilitas FK UNDIP-RS dr Kariadi dan RS Telogorejo Semarang [thesis]. Semarang: FK Universitas Diponegoro; 2005
3. Gupta NP, Kumar R. Lycopene therapy in idiopathic male infertility—a preliminary report. *Int Urol Nephrol* 2002;34(3):369-372.
4. Setiati S. Radikal bebas, antioksidan, dan proses menua. Jakarta: Medika 2003;29(6):366-9.
5. Ishlahiyah C. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan strain *balb/c* yang diberi paparan asap rokok (skripsi). Semarang: FK Universitas Diponegoro; 2006.

6. Kuncahyo I, Sunardi. Uji aktivitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (skripsi). Yogyakarta: Fakultas Teknik Universitas Setia Budi; 2007
7. Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of Oxidative Stress Injury to Sperm. *J Androl* 2005;26:654-660.
8. Daliarmatha S. Atlas tumbuhan obat Indonesia, jilid 3. Jakarta: Puspa Swara; 2005.
9. Bagiada A, Arcana, Mahasucipta. Peran antioksidan untuk mencegah beberapa kelainan jaringan tubuh. *Majalah Kedokteran Indonesia* 2005;55(6):455-8
10. Chandrika UG, Fernando KS, Ranaweera KK. Carotenoid content and in vitro bioaccessibility of lycopene from guava (*Psidium guajava*) and watermelon (*Citrullus lanatus*) by high-performance liquid chromatography diode array detection. *Int J Food Sci Nutr* 2009;60(7):558-66.
11. Ngatidjan. Metode laboratorium dalam toksikologi. Yogyakarta: Universitas Gadjah mada; 2006.
12. Suparni. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap jumlah sperma dan morfologi sperma mencit jantan dewasa (*Mus musculus* L.) dipaparkan monosodium Glutamate (MSG). Medan: Universitas Sumatera Utara; 2009. [cited 2011 April 15]. Available from: <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/6167/1/09E02269.pdf>
13. Agarwal A, Said TM. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJU Int* 2005;95:503-7
14. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress & male infertility. *Indian J Med Res* 2009;129:357-367
15. Quratul'ainy. Pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok (skripsi). Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2006
16. Mehrannia T. The effect of cigarette smoking on semen quality of infertile men. *Pak J Med Sci* 2007;23:717-9
17. Sulistyowati Y. Pengaruh pemberian likopen terhadap status antioksidan (vitamin C, vitamin E dan glutathion peroksidase) tikus (*Rattus norvegicus galur Sprague Dawley*) hiperkolesterolemik [thesis]. Semarang: Program Studi Magister Ilmu Biomedik; 2006
18. Huy LAP, He H, Huy CP. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 2008; 4(2): 89-96
19. Ramadhan K. Pengaruh pemberian air perasan semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) merah peroral terhadap motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) (skripsi). Pekanbaru: Fakultas Kedokteran Universitas Riau; 2011
20. Astirin OP, Nugraheni T, Widiyanti T. Pengaruh vitamin C terhadap perbaikan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *Biofarmasi* 2003;1(1):13-9
21. Purnawati D. Pengaruh pemberian jus buah tomat (*Lycopersicum esculentum mill*) terhadap jumlah spermatozoa mencit *balb/c* jantan yang diberi paparan asap rokok (skripsi). Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2006
22. Chertow B. Advances in diabetes for the millennium: vitamins and oxidant stress in diabetes and its complications. *Med Gen Med* 2004;6(3 Suppl):4.
23. Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature* 1998;392:559.