

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E
TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA AKIBAT
PAPARAN ASAP ROKOK**

Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar Dewasa

Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
untuk mencapai gelar sarjana kedokteran



Diajukan oleh:

M. Khabibullah Cahya Kusuma

01.206.5230

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2010

KARYA TULIS ILMIAH
PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E
TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA AKIBAT
PAPARAN ASAP ROKOK
Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Dewasa

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

M Khabibullah Cahya Kusuma

01.206.5230

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji


pada tanggal 23 September 2010

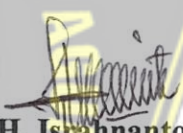
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Anggota Tim Penguji


dr. H. Ahmadi NH., Sp.KJ.


Drs.H. Israhanto I., M.Si.

Pembimbing II


dr. HM. Agus Suprijono, M.Kes. 
DR.dr.H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp. And

Semarang, September 2010

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,


DR.dr.H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp. And

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

Karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Jumlah Spermatozoa Akibat Paparan Asap Rokok (Penelitian eksperimental terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Dewasa)” disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Selesainya penyusunan karya tulis ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M. Kes, Sp. And, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan selaku penguji II yang telah mengijinkan penyusunan karya tulis ilmiah ini.
2. dr. H. Ahmadi NH, Sp. KJ dan dr. HM. Agus Suprijono, M.Kes., selaku pembimbing yang telah membimbing dan menempa dengan segenap ilmu, waktu dan tenaga dalam menyusun karya tulis ilmiah ini.

3. Drs. H. Israhnanto I, M.Si., selaku dosen penguji I yang telah membimbing dan menempa dengan segenap ilmu, waktu dan tenaga dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
4. Kedua orang tuaku tercinta (Drs. H. M Yusuf M.Si dan Hj. Siti Romchin) serta Kakak-kakak dan adik-adikku(M. Hamzah N, S.E.; dr. Galuh D.P; M. Syaifullah G.K; Diyah Mustikaturokhmakh) yang selalu sayang, mendoakan, memberi dukungan, perhatian , dan nasehatnya.
5. Serta semua pihak yang belum tertulis diatas yang telah memberikan bantuan moral maupun spiritual kepada penulis sehingga tersusun Karya Tulis Ilmiah ini.

Semoga amal baik yang diberikan mendapatkan imbalan dari Allah SWT. Akhirnya dengan segala kekurangan yang ada, Penulis berharap KTI ini dapat memberikan sumbangan ilmu pengetahuan.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Semarang, September 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
INTISARI.....	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Spermatozoa.....	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Produksi.....	5
2.1.3 Regulasi Hormon Pada Spermatogenesis.....	6
2.1.4 Pembentukan Hormon Testosteron.....	7
2.1.5 Bagian-bagian Spermatozoa.....	8
2.1.6 Analisa Spermatozoa.....	9

2.2 Rokok.....	14
2.2.1 Definisi	14
2.2.2 Jenis-jenis Rokok.....	14
2.3 Asap Rokok.....	16
2.3.1 Kandungan dan Dampaknya.....	16
2.4 Dampak Asap Rokok Terhadap Jumlah Spermatozoa.	20
2.5 Vitamin E.....	21
2.5.1 Definisi.....	21
2.5.2 Struktur Kimia.....	22
2.5.3 Sumber dan Metabolisme.....	22
2.5.4 Fungsi	23
2.6 Hubungan Vitamin E Terhadap Jumlah Spermatozoa.	24
2.7 Vitamin C.....	25
2.8 Glutation.....	25
2.9 Klasifikasi Hewan Percobaan.....	26
2.8 Kerangka Teori	27
2.9 Kerangka Konsep.....	28
2.10 Hipotesis	28

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian.....	29
3.2 Variabel dan Definisi Operasional	29
3.3 Populasi dan Sampel	30
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	31

3.5 Persiapan Dalam Penelitian.....	33
3.6 Cara Penelitian	34
3.7 Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.8 Analisis Hasil	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil penelitian.....	37
4.2 Pembahasan.....	43
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
DAFTAR LAMPIRAN.....	49



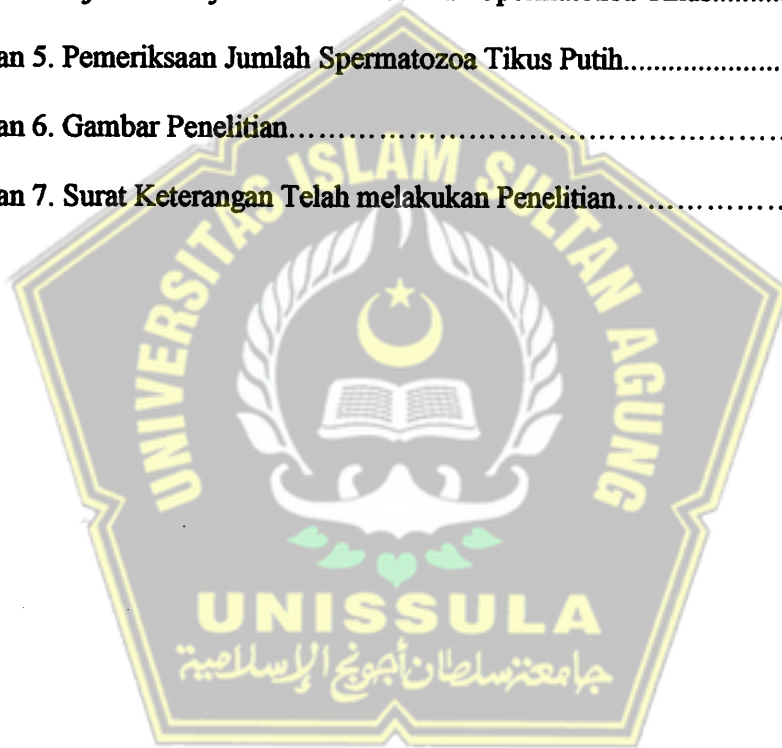
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rerata berat badan tikus tiap kelompok	37
Tabel 2. Rerata jumlah spermatozoa (juta/ml).....	38
Tabel 3. Hasil uji <i>Tukey HSD</i>	40



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Berat Badan Tikus Sample.....	49
Lampiran 2 Uji One Way Anova Pada BB Tikus.....	50
Lampiran 3. Keseluruhan Hasil pada Jumlah Spermatozoa Tikus	53
Lampiran 4. Uji One Way Anova Pada Jumlah Spermatozoa Tikus.....	54
Lampiran 5. Pemeriksaan Jumlah Spermatozoa Tikus Putih.....	58
Lampiran 6. Gambar Penelitian.....	59
Lampiran 7. Surat Keterangan Telah melakukan Penelitian.....	60



INTISARI

Asap rokok jika masuk ke dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas, jika terlalu banyak dalam tubuh radikal bebas akan mengakibatkan stres oksidatif yang dapat menyebabkan infertilitas pada pria. Vitamin E sebagai antioksidan yang berfungsi mencegah penurunan jumlah spermatozoa yang disebabkan paparan asap rokok belum terbukti. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa akibat paparan asap rokok pada tikus jantan Galur Wistar dewasa.

Penelitian eksperimental dengan metode *post test only control group design* menggunakan tikus Galur Wistar jantan dewasa sebanyak 24 ekor, dibagi menjadi 4 kelompok secara random. K-A tidak diberi perlakuan, K-B diberi asap rokok, K-C diberi asap rokok dan vitamin E, dan K-D diberi vitamin E. Perlakuan dilakukan selama 30 hari, kemudian jumlah spermatozoa dihitung dengan cara pengurutan dari cauda epididimis sampai ampulla vas deferens. Data jumlah spermatozoa dianalisis dengan uji *one way anova* diikuti uji *post hoc* menggunakan program SPSS 15.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa rerata jumlah spermatozoa pada K-A(4,75 juta/ml), K-B(3 juta/ml), K-C(4,47 juta/ml), K-D(4,83 juta/ml). Hasil uji *one way anova* didapatkan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,01$ ($p < 0,05$). Hasil analisis *post hoc* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan $p < 0,05$ pada K-A dengan K-B(1,75), K-B dengan K-C(-1,46), dan K-B dengan K-D(-1,83).

Bahwa Jumlah spermatozoa tikus yang diberi vitamin E lebih tinggi daripada jumlah spermatozoa tikus yang dipapar asap rokok tanpa pemberian vitamin E

Kata kunci: vitamin E, asap rokok, jumlah spermatozoa

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada tahun 2001, Indonesia menempati urutan ke lima dalam mengonsumsi rokok dengan 215 miliar batang/tahun (Manoppo, 2006). Tingginya konsumsi rokok ini menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa pada laki-laki (Gatot, 2009). Hal ini menyebabkan kejadian infertilitas pada laki-laki yang cukup tinggi. Infertilitas pada laki-laki bisa diperiksa, salah satu pemeriksaannya adalah dengan mengukur jumlah spermatozoa. Kejadian infertilitas ini dipicu oleh adanya kandungan zat-zat berbahaya pada rokok yang mengandung radikal bebas. Akan tetapi radikal bebas tersebut bisa dicegah dengan antioksidan. Salah satu vitamin dengan kandungan antioksidan yang tinggi adalah vitamin E. Namun, hingga saat ini belum diketahui dengan jelas adanya pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa akibat paparan asap rokok.

Berdasar survei kesehatan rumah tangga tahun 1996, diperkirakan ada 3,5 juta pasangan yang infertile (Inasoengkowo, 2009). Mereka disebut infertil karena ketidak mampuan pasangan suami istri untuk menjadikan istri hamil dan melahirkan anak hidup setelah melakukan hubungan seksual secara teratur dalam waktu satu tahun tanpa menggunakan alat kontrasepsi (Mardiana, 2007). Kini, para ahli memastikan angka infertilitas telah meningkat mencapai 15-20 persen

dari sekitar 50 juta pasangan di Indonesia. Penyebab infertilitas sebanyak 40% berasal dari pria, 40% dari wanita, 10% dari pria dan wanita, dan 10% tidak diketahui (Inasoengkowo, 2009). Dengan demikian semakin bertambahnya jumlah perokok dan minimnya obat yang mencegah penurunan kualitas sperma dikhawatirkan angka infertilitas akan semakin banyak, oleh karena itu maka penelitian ini perlu dilakukan.

Penelitian anti oksidan akhir-akhir ini lebih banyak di lakukan pada vitamin C, misalnya penelitian "Pengaruh Vitamin C terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Tembakau" (Nugraheni dkk., 2003). Padahal dibandingkan vitamin C kandungan anti oksidan dalam vitamin E lebih tinggi (Delvin, 2002). Penelitian tentang vitamin E dalam dunia kedokteran banyak dihubungkan dengan kesehatan kulit, namun penelitian vitamin E yang berfungsi sebagai anti oksidan pencegahan penurunan kualitas spermatozoa belum banyak dilakukan.

Ketika zat-zat berbahaya yang terkandung dalam rokok seperti radikal bebas masuk kedalam aliran darah, maka lama-kelamaan akan menyebabkan stress oksidatif, kemudian zat-zat tadi akan menyebar keseluruh tubuh termasuk pada aliran genetalia dan akan menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa, hal itu bisa terjadi karena radikal bebas tadi akan merusak enzim adenilsiklase pada sel leydig (Anita, 2004). Enzim adenilsiklase pada sel leydig berfungsi merubah ATP menjadi cAMP (Murray dkk, 2001). Sehingga menyebabkan turunnya jumlah cAMP, jika cAMP menurun maka kolesterol yang masuk ke dalam

mitokondria juga menurun, karena meningkatnya jumlah cAMP akan meningkatkan jumlah kolesterol yang masuk ke dalam mitokondria oleh StAR (Murray dkk, 2001). Akibatnya kolesterol yang akan diubah menjadi testosteron akan turun dan pembentukan hormon testosteron akan menurun. Hormon yang bertanggung jawab untuk spermatogenesis adalah testosteron dan FSH maka jika ada salah satu hormon tersebut terganggu maka spermatogenesis pun akan terganggu dan menyebabkan berubahnya jumlah spermatozoa (Arya, 2009). Sebagai antioksidan, Vitamin E bekerja dengan cara menambahkan 1 atom hydrogen fenolat ke dalam radikal bebas peroksil asam lemak sehingga membentuk radikal tokoperoksi dan hidroperoksi asam lemak (Ball, 2004). Radikal vitamin E atau radikal tokoperol sebenarnya tidak terlalu reaktif namun perlu dihilangkan (Suryohudoyo, 2007). Prosesnya yaitu radikal tokoperol akan bereaksi dengan vitamin C yang akan membentuk tokoperol dan radikal vitamin C, kemudian radikal vitamin C akan bereaksi dengan glutathion yang menghasilkan vitamin C kembali dan glutathion teroksidasi atau GSSG. Setelah itu GSSG akan diubah menjadi GSH atau glutathion tereduksi oleh enzim glutathion reductase (Murray dkk, 2001). Dengan cara seperti itu maka radikal bebas bisa dicegah dan dampak merugikan yang disebabkan oleh radikal bebas bisa dicegah. Melihat uraian diatas, dapat diasumsikan bahwa vitamin E mencegah penurunan jumlah spermatozoa karena paparan asap rokok.

1.2. Rumusan Masalah

Dari hal yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan permasalahan:

“Adakah pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa yang dipapar asap rokok pada tikus jantan galur wistar dewasa?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Mengetahui pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa yang dipapar asap rokok.

1.3.2. Tujuan khusus

Untuk mengetahui jumlah spermatozoa yang diberi vitamin E lebih tinggi daripada tanpa pemberian vitamin E pada tikus putih galur wistar jantan dewasa yang dipapar asap rokok.

1.3.3. Manfaat teoritis

Menjelaskan bahwa Vitamin E bermanfaat mencegah penurunan jumlah spermatozoa yang disebabkan paparan asap rokok.

1.3.4. Manfaat praktis

Vitamin E dapat dimanfaatkan sebagai obat dalam mencegah penurunan jumlah spermatozoa karena paparan asap rokok.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Spermatozoa

2.1.1 Definisi

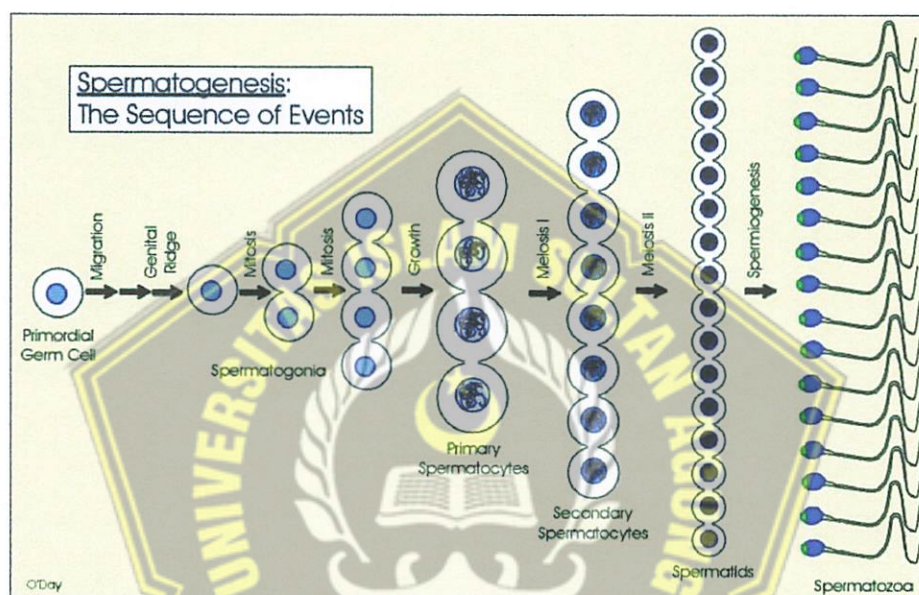
Spermatozoa adalah sel germinal jantan matang yang merupakan hasil khusus dari testis. (Dorland, 2004).

2.1.2 Produksi

Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus sebagai akibat dari rangsangan hormone reproduksi. Tubulus seminiferus terdiri atas sel epitel germinal yang disebut spermatogonia. Spermatogonia akan terus berproliferasi untuk memperbanyak diri, dan sebagiannya berdiferensiasi menjadi sperma.

Tahap awal dari spermatogenesis adalah spermatogonia primitive berkumpul tepat di tepi membrane basal dari epitel germinativum, disebut spermatogonia tipe A, kemudian membelah 4 kali menjadi 16 sel, yaitu spermatogonia tipe B. setelah itu akan menuju kearah sentral diantara sel sertoli sehingga secara tidak langsung akan terbungkus oleh prosesus sitoplasma dari sel sertoli. Dalam waktu rata-rata 24 hari, spermatogonia akan menjadi spermatosit primer. Kemudian akan bermiosis menjadi spermatosit sekunder yang telah mempunyai kromosom haploid. Spermatosit sekunder selanjutnya akan menjadi spermatid. Spermatid akan dipelihara oleh pembungkus dari sel sertoli dengan tujuan menghilangkan

beberapa sitoplasmanya, mengatur kembali bahan kromatin dari inti spermatid sehingga terbentuk inti yang padat, dan mengumpulkan sisa sitoplasma dan membrane sel pada salah satu ujung dari sel untuk membentuk ekor. Proses keseluruhan spermatogenesis membutuhkan sekitar 64 hari (Guyton & Hall, 1997).



<http://devcell.bio.uci.edu/images/SPERMATOGENESIS.jpg>, 2004

2.1.3 Regulasi Hormone Pada Spermatogenesis

Beberapa hormone yang memainkan peran penting dalam spermatogenesis adalah Testosteron, Lutein, FSH dan Estrogen :

2.1.3.1 Testosteron

Disekresikan oleh sel- sel leydig yang terletak di interstisium testis, hormone ini penting bagi pertumbuhan dan pembagian sel-sel germinativum dalam membentuk spermatozoa.

2.1.3.2 Hormon lutein

Disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior untuk merangsang sel-sel leydig untuk mensekresikan testostosterone

2.1.3.3 Hormon perangsang folikel (FSH)

Disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior merangsang sel-el sertoli untuk spermatogenesis

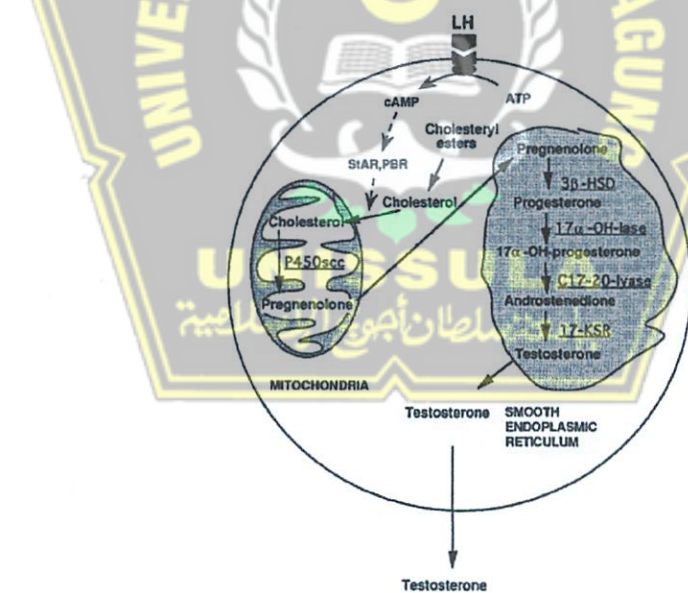
2.1.3.4 Estrogen

Dibentuk dari testostosterone oleh sel-sel sertoli ketika sel sertoli dirangsang oleh FSH. Sel sertoli juga menghasilkan androgen binding protein yang mengikat testostosterone dan estrogen sebagai transport di dalam lumen tubulus seminiferus untuk pematangan sperma (Guyton & Hall, 1997).

2.1.4 Pembentukan Hormone Testosteron

Hormone testostosterone adalah salah satu hormone steroid yang berasal dari kolesterol, pembuatan testostosterone itu sendiri dirangsang oleh LH yang berasal dari hipofisis anterior. Ketika LH berada pada permukaan sel leydig, LH akan berikatan dengan reseptornya, kemudian reseptor itu mengaktifkan enzim adenil siklase pada permukaan sel leydig (Murray dkk, 2001). Enzim adenilsiklase ini akan merubah ATP menjadi cAMP. Setelah cAMP meningkat maka akan meningkatkan jumlah kolesterol yg masuk ke dalam mitokondria oleh StAR (Murray dkk, 2001).

StAR adalah suatu protein yang berfungsi untuk mengangkut kolesterol kedalam mitokondria (Murray dkk, 2001). Setelah kolesterol berada pada posisi yang tepat di mitokondria, lalu rantai samping kolesterol diputus oleh enzim pemutus rantai samping yaitu P450_{ssc} yang akhirnya menjadi pregnenolon (Murray dkk, 2001), kemudian pregnenolon menuju ke reticulum endoplasma halus untuk di jadikan testosterone. Di dalam reticulum endoplasma halus, pregnenolon diubah menjadi progesterone dengan protein 3 β -HSD, kemudian progesterone diubah menjadi 17 α -OH-progesterone oleh protein 17 α -OH-lase, setelah itu oleh protein C17-20-lyase diubah menjadi Androstenedione, setelah menjadi Androstenedione dengan protein 17-KSR diubah menjadi testosterone (Barry, 2000)



Gambar : pembentukan testosterone, (Barry, 2000)

2.1.5 Bagian-bagian Spermatozoa

Sperma terdiri atas kepala, leher, badan, ekor:

2.1.5.1 Kepala

Kepala terdiri atas sel berinti padat dengan hanya sedikit sitoplasma dan lapisan membrane sel di sekitar permukaannya. Di bagian luar, 2/3 kepala terdapat selubung tebal yang disebut akrosom. Selubung ini mempunyai suatu enzim khusus untuk menembus zona pellusida ovum, yaitu enzim hialuronidase (Guyton & Hall, 1997).

2.1.5.2 Leher

2.1.5.3. Badan

Pada badan sperma terdapat mitokondria yang tersusun melingkari aksonem. Berfungsi sebagai penghasil ATP.

2.1.5.4 Ekor

Ekor sperma disebut flagellum, memiliki 2 komponen, yaitu rangka pusat yang dibentuk oleh 11 mikrotubulus, yang secara keseluruhan disebut aksonem, dan membrane sel tipis yang menutupi aksonema (Guyton & Hall, 1997).

2.1.6 Analisa Spermatozoa

Analisa spermatozoa adalah test yang dilakukan untuk mengukur kualitas dan kuantitas spermatozoa. Spermatozoa diambil dengan cara onani setelah berpuasa senggama 2-3 hari. Pengukuran tersebut meliputi:

2.1.6.1 Makroskopis warna, bau, liquefaction, volume, PH semen:

2.1.6.1.1 Warna

Warna normal semen adalah putih keruh. Bila terdapat infeksi bisa menjadi kekuningan dan apabila ada darah akan menjadi merah.

2.1.6.1.2 Bau

Bau khas normal semen spermatozoa seperti bunga akasia. Bila mengandung pus bau semen akan menjadi busuk.

2.1.6.1.3 Liquefaction (pencairan semen)

Dalam keadaan normal, semen akan mencair sekitar 1 jam pada suhu kamar. Abnormalitas liquefaction ditemukan pada gangguan fungsi kelenjar prostat.

2.1.6.1.4 Volume

Volume semen diukur dengan gelas ukur atau dengan cara menghisap seluruh semen ke dalam suatu semprit atau pipet ukur. Nilai normal per ejakulat adalah 2-5 ml. Jika volume semen terlalu sedikit maka tidaklah cukup untuk menetralkan keasaman suasana rahim.

2.1.6.1.5 PH semen

Ph normal semen berada pada kisaran 7,2-7,8. Jika lebih dari 7,8 perlu dicurigai adanya infeksi dan bila kurang dari 7,2 kemungkinan terjadi gangguan pada epididimis, vas deferens, dan vesika seminalis.

2.1.6.2 Mikroskopis meliputi morfologi, motilitas, jumlah sperma, adanya sel-sel bukan spermatozoa, aglutinasi spermatozoa:

2.1.6.2.1 Morfologi

Nilai normal untuk morfologi spermatozoa adalah lebih dari 30%. Apabila kurang disebut teratozoospermia.

2.1.6.2.2 Motilitas

Menurut WHO kategori yang dipakai untuk motilitas spermatozoa adalah

- (a) Jika spermatozoa bergerak cepat dan lurus ke muka
- (b) Jika gerakannya lambat atau sulit maju lurus atau tidak lurus.
- (c) Jika tidak bergerak maju.
- (d) Jika spermatozoa tidak bergerak

Dikatakan normal bila kategori a dan b lebih dari 50%. Jika kurang dari nilai tersebut disebut azthenozoospermia.

2.1.6.3 Jumlah Spermatozoa

Jumlah sel spermatozoa normal sekitar 40juta/ml. apabila kurang dari normal disebut oligozoospermia

2.1.6.3.1 Cara menghitung Jumlah Spermatozoa

Penghitungan jumlah spermatozoa dilakukan dengan pengenceran terlebih dahulu yaitu dengan menggunakan pipet leukosit, sperma dihisap dari gelas alroji dengan karet

hisap sampai angka 0,5 dan dijaga jangan sampai sperma keluar dari pipet. Kemudian dilanjutkan dengan mengambil larutan george sampai skala 101, yang berarti dilakukan pengenceran sebanyak 20x. Isi pipet leukosit tadi dikocok biar bercampur selama kurang lebih 2 menit, kemudian tetesan pertama sampai ke tiga dibuang, setelah itu tetesan berikutnya dimasukkan ke bilik hitung yang sudah berada di microscop dan kemudian ditutup dengan deckglass. Lalu sperma dihitung pada lima kotak kecil bilik hitung eritrosit yang bervolume 0,02mm. Hasil yang didapat menunjukkan jumlah spermatozoa dalam jumlah juta/ml (Malpani, 1999).

$$\text{Jumlah sperma} = \frac{\text{jumlah sel} \times \text{pengenceran} \times \text{faktor multiplikasi} (10^3)}{\text{Volume bilik hitung}}$$

2.1.6.3.2 Batasan- batasan untuk menilai jumlah spermatozoa

Umumnya telah disepakati bahwa pria dengan jumlah sperma antar 20—200 juta/ml berada dalam batas-batas subur (fertil) Akan tetapi, perlu diketahui bahwa kehamilan dapat terjadi dengan jumlah spermatozoa lebih rendah dari 20 juta/ml (oligozoospermae). Dilain pihak infertilitas dapat dijumpai pada pria-pria dengan jumlah spermatozoa lebih dari 100 juta/ml. Oleh karena itu penilaian potensial kesuburan pria tidak boleh didasarkan hanya pada jumlah

spermatozoa saja. Perlu juga diperhatikan mengenai motilitas, morfologi dan fungsi-fungsi lain daripada spermatozoa. Rata-rata jumlah sperma pria Indonesia yang isterinya kemudian menjadi hamil ialah $86,10\% \pm 66,28$ juta/ml atau sekitar 20—150 juta/ml.(Moelok, 1983).

2.1.6.3.3 Adanya sel-sel bukan spermatozoa

Elemen bukan sperma yang dilihat adalah leukosit. Batas normal sel leukosit adalah 1juta/ml.

2.1.6.3.4 Aglutinasi spermatozoa

Aglutinasi spermatozoa berarti bahwa sperma motil saling melekat kepala dengan kepala, bagian tengah dengan bagian ekor, atau campuran bagian tengah dengan bagian ekor. Melekatnya spermatozoa yang tidak motil atau motil pada benang mukus atau pada sel bukan spermatozoa tidak boleh dicatat sebagai aglutinasi. Biasanya aglutinasi menunjukkan adanya faktor imunologi. Nilai normal aglutinasi adalah tidak ditemukan (-).

2.1.6.4 Uji biokimiawi

Uji biokimiawi dilakukan bila ada kelainan mikroskopik dan makroskopik. Uji biokimia menunjuk kepada fungsi kelenjar asesori, yaitu asam sitrat, gamma glutamil transpeptidase, dan fosfatase asam untuk kelenjar prostat. L karnitin bebas dan alfa glukosidase untuk epididimis.

2.1.6.5 Uji mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan apabila dicurigai adanya infeksi untuk mengetahui mikroorganisme penyebab infeksi. Nilai normalnya adalah 0.

2.1.6.6 Uji imunologi

Pemeriksaan uji imunologi dilakukan karena kecurigaan adanya antibodi pelapis sperma pada semen tersebut. Antibodi-pelapis sperma merupakan tanda khas dan patognomonik untuk infertilitas yang disebabkan faktor imunologi. Pemeriksaan dilakukan dengan MAR (Mixed Antiglobulin Reaction). Pada pemeriksaan ini nilai normalnya tidak ditemukan aglutinasi (Hermawanto, 2008).

2.2 Rokok

2.2.1 Definisi

Rokok adalah silinder dari kertas berukuran panjang antara 70 hingga 120 mm (bervariasi tergantung negara) dengan diameter sekitar 10 mm yang berisi daun tembakau yang telah dicacah. Rokok dibakar pada salah satu ujungnya dan dibiarkan membara agar asapnya dapat dihirup lewat mulut pada ujung lain (Anonim, 2009).

2.2.2 Jenis-Jenis Rokok

2.2.2.1. Rokok berdasarkan bahan pembungkus, terdapat empat jenis sebagai berikut :

2.2.2.1.1 Klobot: rokok yang bahan pembungkusnya berupa daun jagung.

2.2.2.1.2 Kawung: rokok yang bahan pembungkusnya berupa daun aren.

2.2.2.1.3 Sigaret: rokok yang bahan pembungkusnya berupa kertas

2.2.2.1.4 Cerutu: rokok yang bahan pembungkusnya berupa daun tembakau (Anonim, 2009).

2.2.2.2. Rokok berdasarkan bahan baku atau isi, terdapat tiga macam sebagai berikut:

2.2.2.2.1 Rokok Putih: rokok yang bahan baku atau isinya hanya daun tembakau yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.

2.2.2.2.2 Rokok Kretek: rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau dan cengkeh yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.

2.2.2.2.3 Rokok Klembak: rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau, cengkeh, dan kemenyan yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu (Anonim, 2009).

2.2.2.3 Rokok berdasarkan penggunaan filter terdapat dua macam sebagai berikut :

2.2.2.3.1 Rokok filter adalah rokok yang pada ujung yang dihisap diberi saringan atau filter yang berguna mengurangi kadar nikotin yang terhisap.

2.2.2.3.2 Rokok nonfilter adalah rokok yang tidak mempunyai filter (Anonim, 2009).

2.3 Asap Rokok

2.3.1. Kandungan dan Dampaknya

Asap rokok tembakau mengandung gas dan bahan-bahan kimia yang bersifat racun dan atau karsinogenik. Komposisi kimia asap rokok tergantung pada: Jenis tembakau, disain rokok (seperti ada tidaknya filter, bahan-bahan tambahan, dsb), pola merokok individu (Ruslan, 1996)

Berikut ini macam-macam kandungan asap rokok dan dampaknya terhadap kesehatan:

2.3.1.1. Amoniak

Amoniak merupakan gas yang tidak berwarna yang terdiri dari nitrogen dan hydrogen. Zat ini tajam baunya dan sangat merangsang. Begitu kerasnya racun yang ada pada ammonia sehingga jika masuk sedikit pun ke dalam peredaran darah akan mengakibatkan seseorang pingsan atau koma (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.2. Asam Format

Asam format merupakan sejenis cairan tidak berwarna yang bergerak bebas dan dapat membuat lepuh. Cairan ini sangat tajam dan menusuk baunya. Zat ini dapat menyebabkan seseorang seperti merasa digigit semut (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.3. Hidrogen Sianida/HCN

Hidrogen sianida merupakan sejenis gas yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak memiliki rasa. Zat ini merupakan zat yang paling ringan, mudah terbakar dan sangat efisien untuk menghalangi pernapasan dan merusak saluran pernapasan. Sianida adalah salah satu zat yang mengandung racun yang sangat berbahaya. Sedikit saja sianida dimasukkan langsung ke dalam tubuh dapat mengakibatkan kematian (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.4. Nitrous Oxid

Nitrous oxide merupakan sejenis gas yang tidak berwarna, dan bila terhisap dapat menyebabkan hilangnya pertimbangan dan menyebabkan rasa sakit. Nitrous oxide ini adalah sejenis zat yang pada mulanya dapat digunakan sebagai pembius waktu melakukan operasi oleh dokter (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.5. Formaldehid

Formaldehid adalah sejenis gas tidak berwarna dengan bau tajam. Gas ini tergolong sebagai pengawet dan pembasmi hama. Gas ini juga

sangat beracun keras terhadap semua organisme hidup (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.6. Fenol

Fenol adalah campuran dari kristal yang dihasilkan dari distilasi beberapa zat organik seperti kayu dan arang, serta diperoleh dari tar arang. Zat ini beracun dan membahayakan karena fenol ini terikat ke protein dan menghalangi aktivitas enzim (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.7. Asetol

Asetol adalah hasil pemanasan aldehid (sejenis zat yang tidak berwarna yang bebas bergerak) dan mudah menguap dengan alcohol (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.8. Hidrogen sulfide

Hidrogen sulfida adalah sejenis gas yang beracun yang gampang terbakar dengan bau yang keras. Zat ini menghalangi oksidasi enzim (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.9. Piridin

Piridin adalah sejenis cairan tidak berwarna dengan bau tajam. Zat ini dapat digunakan mengubah sifat alcohol sebagai pelarut dan pembunuh hama (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.10. Metil Klorida

Metil klorida adalah campuran dari zat-zat bervalensi satu antara hydrogen dan karbon merupakan unsurnya yang utama. Zat ini adalah senyawa organik yang beracun (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.11. Metanol

Metanol adalah sejenis cairan ringan yang mudah menguap dan mudah terbakar. Meminum atau menghisap methanol mengakibatkan kebutaan dan bahkan kematian (Gondodiputro, 2007)

2.3.1.12. Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki electron yang tak berpasangan, menjadi bersifat reaktif sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron dari molekul sel tersebut. Akibatnya akan terjadi reaksi berantai yang menyebabkan radikal bebas baru secara terus menerus (Suryohudoyo, 2007). Contoh efek radikal bebas terhadap beberapa bagian dalam tubuh kita adalah sebagai berikut:

2.3.1.12.1. Dampak negative terhadap membrane sel

Komponen terpenting membrane sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh yang menurut sifatnya asam lemak tak jenuh sangat rentan terhadap serangan-serangan radikal bebas, terutama radikal hidrosil. Sehingga dapat menimbulkan reaksi rantai yang

dikenal dengan nama *lipid peroxidation* (Suryohudoyo,2007). Sehingga hasil akhir dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel.

2.3.1.12.2. Dampak negative terhadap DNA

Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA yang antara lain berupa : hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan terlalu parah, seperti rantai DNA terputus-putus diberbagai tempat maka kerusakan tak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu. Namun bila kerusakan yang diakibatkan radikal bebas tidak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh system perbaikan DNA (*DNA repair system*). Akan tetapi perbaikan DNA ini justru sering menimbulkan mutasi, karena dalam memperbaiki DNA cenderung membuat kesalahan, dan apabila mutasi ini mengenai gen-gen tertentu maka akan menimbulkan kanker (Suryohudoyo, 2007).

2.4 Dampak Asap Rokok Terhadap Jumlah Spermatozoa

Ketika zat-zat berbahaya yang terkandung dalam rokok seperti radikal bebas masuk kedalam aliran darah, maka lama-kelamaan akan menyebabkan stress oksidatif, kemudian zat-zat tadi akan menyebar keseluruh tubuh termasuk pada aliran genitalia dan akan menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa, hal itu bisa terjadi karena radikal bebas tadi akan merusak enzim adenilsiklase pada

sel leydig (Anita,2004). Enzim adenilsiklase pada sel leydig berfungsi merubah ATP menjadi cAMP (Murray dkk, 2001). Sehingga menyebabkan turunnya jumlah cAMP, jika cAMP menurun maka kolesterol yang masuk ke dalam mitokondria juga menurun, karena meningkatnya jumlah cAMP akan meningkatkan jumlah kolesterol yang masuk ke dalam mitokondria oleh StAR (Murray dkk, 2001). Akibatnya kolesterol yang akan diubah menjadi testosteron akan turun dan pembentukan testosteron akan menurun. Hormon yang bertanggung jawab untuk spermatogenesis adalah testosteron dan FSH maka jika ada salah satu hormon tersebut terganggu maka spermatogenesis pun akan terganggu dan menyebabkan berubahnya jumlah spermatozoa (Arya, 2009).

Menurut Sukmaningsih (2010) dampak rokok juga berpengaruh terhadap spermatogenesis karena spermatosit sangat sensitive terhadap pengaruh luar dan cenderung mengalami kerusakan yaitu pada saat terjadinya pindah silang antara kromosom yang homolog dimana inti serta sitoplasma tumbuh menjadi sel terbesar diantara lapisan sel spermatogenik. Bila spermatosit mengalami kerusakan maka akan mengalami degenerasi dan difagositosis oleh sel sertoli sehingga jumlah spermatosit menjadi berkurang.

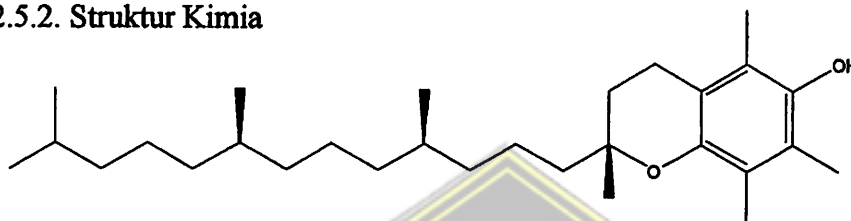
2.5 Vitamin E

2.5.1. Definisi

Vitamin E adalah nama kolektif untuk satu golongan yang dekat atau berhubungan dengan lipid yang disebut tokoferol. Menurut pengertian tokoferol adalah tokos = kelahiran anak, pherein = membawa, Ol = alcohol.

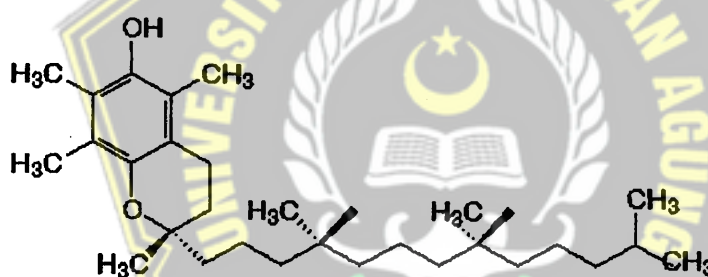
Disebut demikian karena kekurangan vitamin E pada binatang bisa menimbulkan infertile. Pertama ditemukan sebagai suatu factor dalam minyak sayur-sayuran yang dapat memulihkan fertilitas tikus percobaan yang steril karena hanya diberikan diet susu sapi saja (Purnomo, 2004).

2.5.2. Struktur Kimia



vitamin E

(Purnomo, 2004)



Vitamin E (α -tocopherol)

(Purnomo, 2004)

2.5.3. Sumber dan Metabolisme

Sumber vitamin E yang utama adalah minyak dari sayur-sayuran seperti minyak biji gandum, kacang-kacangan, kelapa, biji-bijian, dan sayur-sayuran hijau dan produk makanan dari hasil minyak-minyak tersebut diatas. Namun sumber vitamin E tidak hanya dari tumbuhan saja, vitamin E juga

terdapat pada hewan, antara lain adalah telur, daging, hati, ikan, ayam (Purnomo, 2004).

Vitamin E diabsorpsi dari diet diusus bersama dengan komponen-komponen lipid lainnya kemudian dihantarkan ke jaringan-jaringan melalui kilomikron dan sisanya menuju ke hati. Hati dapat mengeluarkan vitamin E dalam bentuk VLDL. Karena sifat lipofiliknya, vitamin E mengumpul di semua struktur-struktur yang berisi lemak seperti: membrane sel, deposit-deposit lemak, dan lipoprotein-lipoprotein di sirkulasi darah. Tempat penyimpanan vitamin E yang utama berada pada jaringan adipose (Purnomo, 2004).

2.5.4. Fungsi

Vitamin E memiliki fungsi sebagai berikut :

2.5.4.1 Sebagai sumber antioksidan

Vitamin E, merupakan suatu anti oksidan alamiah dengan “memakan” radikal bebas dan molekul O_2 pada membrane sel dan lipoprotein plasma (Purnomo, 2004). Reaksi tersebut merubah vitamin E menjadi radikal vitamin E, akan tetapi radikal vitamin E tidak terlalu reaktif karena terjadinya resonansi.

2.5.4.2 Mencegah agregasi platelet

Penghambatan agregasi platelet oleh α tocopherol dapat terjadi karena penggabungan keduanya. Penggabungan tersebut mencegah

enzim tertentu menstimulasi protein kinase C (PKC) (Ball, 2004).

PKC adalah protein yang berperan dalam proses agregasi platelet.

2.5.4.3 Memperlambat proses atherosclerosis

Makrofag mempunyai afinitas terhadap low density lipoproteins (LDL). Namun, ketika kadar LDL plasma tinggi, makrofag menjadi penuh dengan ester kolesteril dan membentuk sel busa yang tampak pada awal lesi aterosklerotik, dan akan lebih banyak memfagosit LDL yang teroksidasi sehingga lesi aterosklerosis bertambah (Ganong, 1998). Pada penelitian yang telah ada, pemberian vitamin E terbukti memperlambat progresi aterosklerosis.

2.6 Hubungan vitamin E Terhadap Jumlah Sperma

Sebagai antioksidan, Vitamin E bekerja dengan cara menambahkan 1 atom hydrogen fenolat ke dalam radikal bebas peroksil asam lemak sehingga membentuk radikal tokoperoksi dan hidropoksi asam lemak (Ball, 2004). Radikal vitamin E atau radikal tokoperol sebenarnya tidak terlalu reaktif namun perlu dihilangkan (Suryohudoyo, 2007). Prosesnya yaitu radikal tokoperol akan bereaksi dengan vitamin C yang akan membentuk tokoperol dan radikal vitamin C, kemudian radikal vitamin C akan bereaksi dengan glutathion yang menghasilkan vitamin C kembali dan glutathion teroksidasi atau GSSG. Setelah itu GSSG akan diubah menjadi GSH atau glutathion tereduksi oleh enzim glutathion reductase (Murray dkk, 2001).

2.7 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu vitamin yang larut di air. Vitamin ini mempunyai banyak fungsi, yaitu berperan membantu spesifik enzim dalam melakukan fungsinya. Vitamin C juga bekerja sebagai antioksidan yang bisa bekerjasama dengan vitamin E. Perusahaan kadang-kadang menambahkan vitamin C pada produk makanannya untuk menjaga kandungan bahan tertentu. Vitamin C juga penting untuk membentuk kolagen, serat, struktur protein. Kolagen dibutuhkan untuk pembentukan tulang dan gigi dan juga untuk membentuk jaringan bekas luka. Selain itu, juga meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi dan membantu tubuh menyerap zat besi. Vitamin C bisa didapat dari buah-buahan dan sayuran (Wardlaw & Hampl, 2007).

2.8 Glutation

Glutation adalah suatu tripeptida yang tersebar luas dalam jaringan hewan dan tanaman, glutathione ini mempunyai dua bentuk yaitu glutathione tereduksi (GSH) dan glutathione teroksidasi (GSSH). Glutation berfungsi sebagai reaksi redoks seperti destruksi peroksida serta radikal bebas, detoksifikasi senyawa berbahaya, dan aktivasi sebagai kofaktor enzim. Pada eritrosit, glutathione mencegah kerusakan oksidatif dengan mereduksi methemoglobin dan peroksida. Selain itu glutathione juga terlibat dalam pembentukan dan

pemeliharaan ikatan disulfide pada protein dan transport asam amino melewati membrane sel (Dorland, 2004).

2.9 Klasifikasi hewan percobaan

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Dalam berbagai macam penelitian tikus laboratorium merupakan hewan yang banyak digunakan sebagai hewan percobaan dibandingkan dengan hewan lainnya. Tikus laboratorium merupakan hasil keturunan dari tikus liar (*Rattus norvegicus*), yang berasal dari Asia dan menyebar hingga Eropa kurang lebih sekitar tahun 1700. Tikus mutan albino liar pertama kali digunakan dalam penelitian di Eropa pada pertengahan tahun 1800. Institut Wistar di Philadelphia merupakan Institut terkemuka dalam hal perkembangan tikus sebagai hewan percobaan, dari sinilah bermacam-macam keturunan tikus yang digunakan secara mendunia berasal. Henry Donaldson dkk. di Institut Wistar menggunakan tikus ini untuk penelitian yang berhubungan dengan disiplin ilmu neuroanatomi, nutrisi, endokrinologi, genetik, dan tingkah laku (Fox, 1984).



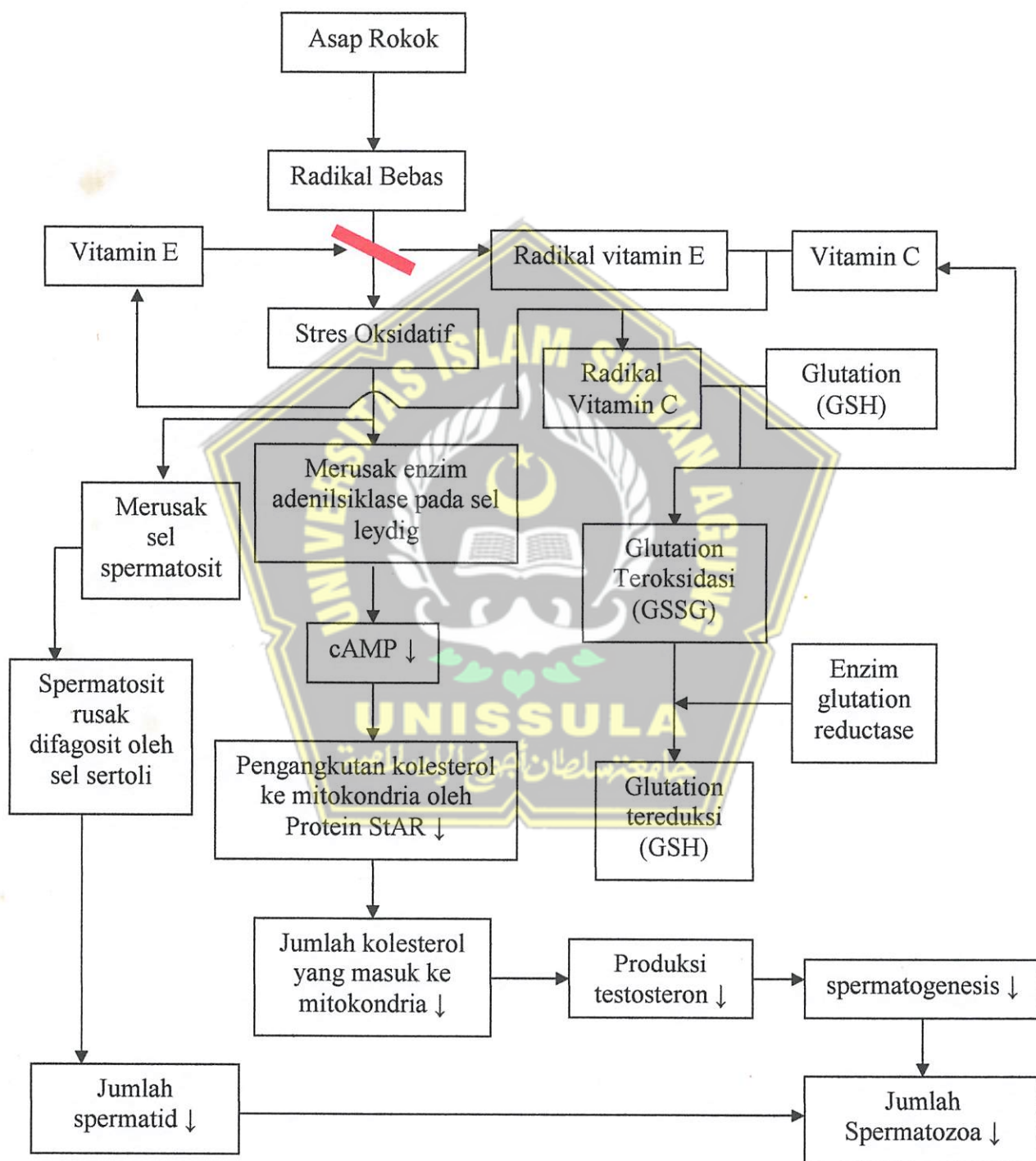
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

(Sumber: http://en.wikipedia.org/wiki/Rattus_norvegicus, 2009)

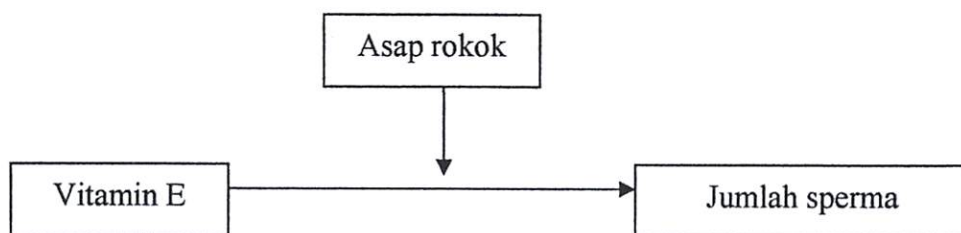
Kingdom :	<i>Animalia</i>
Phylum :	<i>Chordata</i>
Class :	<i>Mammalia</i>
Ordo :	<i>Rodentia</i>
Family :	<i>Muridae</i>
SubFamily :	<i>Murinae</i>
Genus :	<i>Rattus</i>
Species :	<i>Rattus norvegicus</i>

Kerangka teoritik dan konsep

2.10 Kerangka Teori



2.11 Kerangka Konsep



2.12 Hipotesis

Jumlah spermatozoa dengan pemberian vitamin E lebih tinggi daripada tanpa pemberian vitamin E pada tikus wistar jantan dewasa yang dipapar asap rokok.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*.

3.2 Variabel dan Definisi

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Vitamin E

3.2.1.2. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah spermatozoa tikus wistar.

3.2.1.3. Variabel perantara

Variabel perantara dalam penelitian adalah asap rokok.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1 Vitamin E adalah vitamin yang didapat dari vit.E sintetis merk *santa-E* dengan kandungan 100mg/kaplet yang diencerkan dengan menggunakan air 1 cc, yang akan diberikan dalam dosis 6,22 mg.

Skala: nominal

3.2.2.2 Jumlah spermatozoa yang dihasilkan oleh testis yang diambil setelah dipapar asap rokok dan pemberian Vitamin E yang

dihitung menggunakan bilik hitung dan dilihat dengan menggunakan mikroskop yang dinyatakan dalam ekor/ml pada hari ke 31

Skala : rasio

3.2.2.3 Asap rokok adalah uap yang dapat terlihat dari pembakaran rokok jenis kretek merk Dji Sam Soe yang mengandung bahan aktif 20 mg Tar ; 4,0 mg nikotin (tertera dalam label kemasan) untuk kemudian dipaparkan terhadap tikus wistar selama 1 jam.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi target yang digunakan pada penelitian ini adalah semua tikus wistar.

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah semua tikus wistar jantan yang ada di laboratorium biologi MIPA UNNES.

3.3.2 Sampel

Sampel diambil dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi yaitu : tikus jantan, berusia 3 bulan dengan berat badan antara 200-300gr. Kemudian tikus diklompokkan sesuai dengan perlakuan yang akan diberikan. Selanjutnya menyiapkan empat ruang yaitu tiga ruang uji dan satu ruang kontrol untuk tikus dan diberikan masa adaptasi selama 1 minggu pada tiap kelompoknya. Tikus dibagi dalam empat kelompok yakni kelompok A, B, C dan D. Pada Kelompok A (kontrol) tidak diberi perlakuan

paparan. Kelompok B (perlakuan 1) diberi paparan asap rokok selama 30 hari tanpa diberi vitamin E . Kelompok C (perlakuan 2) diberi paparan asap rokok selama 30 hari sambil diberi vitamin E tiap 24 jam sekali. Kelompok D (perlakuan 3) diberi vitamin E setiap 24 jam sekali selama 30 hari tanpa diberi paparan asap rokok. Perhitungan sampel dengan rumus frederer. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Sehingga total hewan uji menjadi sebanyak 24 ekor tikus.

$$\text{Rumus Frederer: } (n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1) 3 \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

keterangan:

n = jumlah sampel dalam populasi

t = jumlah kelompok dalam populasi

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Adapun alat- alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah :

- a. Kandang plastik beserta tempat makan dan minum
- b. Spuit sonde lambung khusus
- c. Bilik hitung

- d. Kaca objek
- e. Deck glass
- f. Pipet leukosit
- g. Alat penghitung
- h. Mikroskop cahaya
- i. Cawan petri
- j. Tabung beserta penutupnya
- k. Pisau dan gunting bedah
- l. Gelas arloji

3.4.2 Bahan Penelitian

- a. Rokok kretek djisamsoe
- b. makanan mencit selama 30 hari yaitu berupa pelet
- c. Sperma
- d. NaCl Fisiologis
- e. Larutan george
- f. Alkohol 70 %
- g. Aquades
- h. Chloroform
- i. Vitamin E

3.5 Persiapan dalam penelitian

- a. Siapkan tikus jantan galur wistar dengan umur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan 200-300 gr lengkap dengan kandang dan makanan standart tikus.
- b. Siapkan timbangan digital untuk menimbang makanan tikus
- c. Siapkan timbangan untuk menimbang BB tikus.
- d. Siapkan timbangan untuk menimbang vitamin E dari 100 mg menjadi 6,22 mg
- e. Siapkan cawan tempat vitamin E dan untuk vitamin E yang telah diencerkan dengan air.
- f. Siapkan sonde untuk memasukan vitamin E yang telah diencerkan dengan air
- g. Siapkan alat untuk mengambil dan menampung sperma tikus
- h. Dosis vitamin E

BB manusia = 70 kg

BB tikus = 200 gr

Dosis untuk manusia = 30-1000 IU

Dosis untuk manusia ini sesuai dengan kandungan vitamin E yang terdapat dalam sediaan oral bentuk tablet dan kapsul (Ganiswarna, 2005) . Dosis yang akan digunakan adalah dosis tengah yakni 515 IU.

Besaran dosis = $515 \times 0,671 = 345,5$ mg

1 IU = 0,671 mg

Dosis untuk tikus yang telah dikonversi:

$$= 345,5 \text{ mg} \times 0,018 \text{ mg} \text{ (Kusumawati, 2004)} = 6,22 \text{ mg}$$

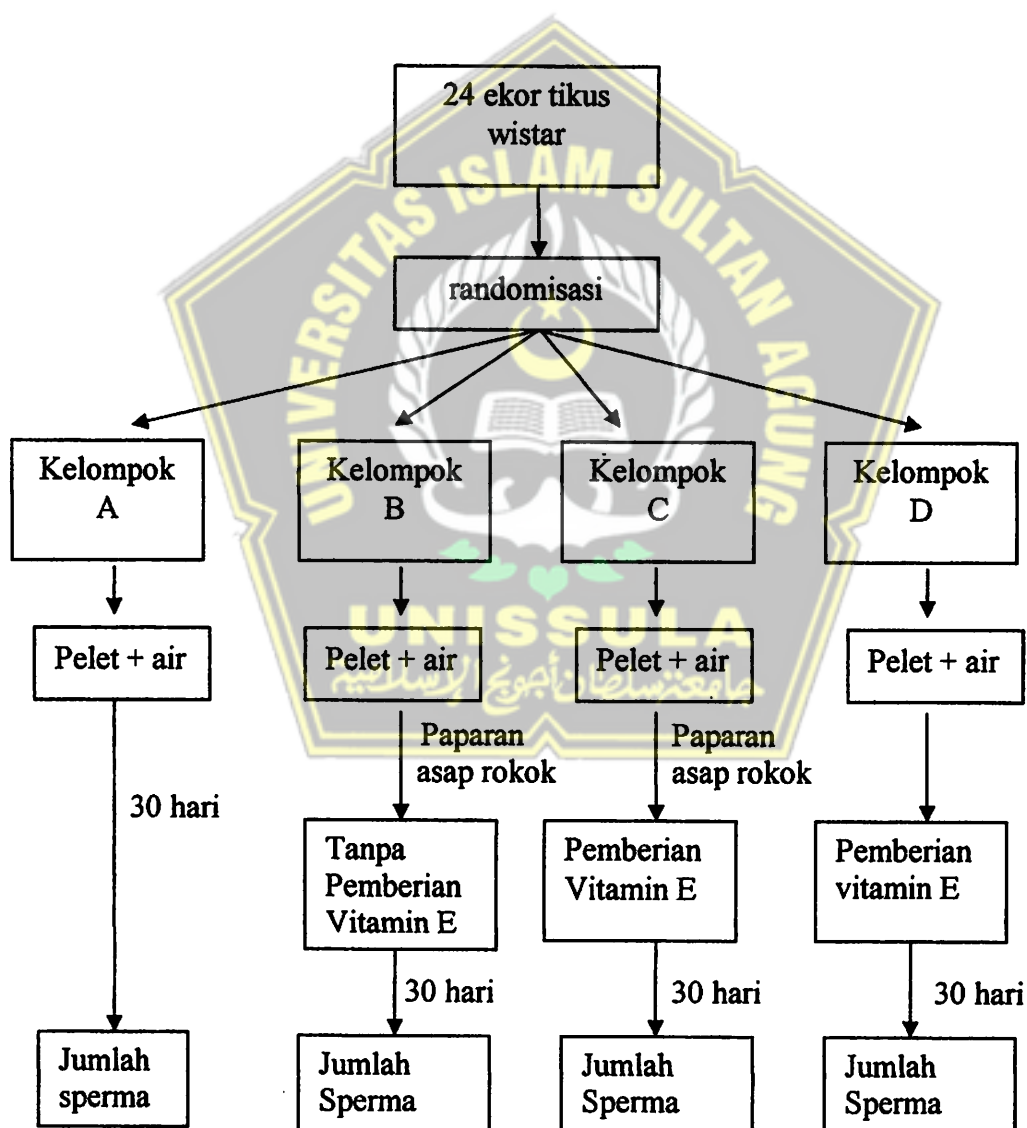
3.6 Cara Penelitian

- 3.6.1 Mula-mula kita memilih tikus sesuai kriteria inklusi dan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu A,B,C,D
- 3.6.2 Kelompok B dan C dipindahkan dari ruang tanpa perlakuan untuk diberi paparan asap rokok dilakukan setiap hari pada pukul 09.00 pagi selama 1 jam dalam jangka waktu 30 hari
- 3.6.3 Kelompok C dan D dipindah dari ruang tanpa perlakuan untuk diberi vitamin E dengan cara vitamin E yang telah ditimbang dari 100 mg menjadi 6,22 mg kemudian diencerkan dengan air 1cc, setelah itu vitamin E dimasukkan kedalam lambung tikus dengan menggunakan sonde dilakukan setiap hari setelah perlakuan paparan asap rokok selama 30 hari
- 3.6.4 Pada hari ke 31 dilakukan pembedahan semua kelompok untuk diambil sampel spermanya dengan cara memotong ductus deferen mulai dari ampula ductus deferen sepanjang 2 cm kemudian diurut sebanyak 3 kali kemudian sperma yang tertampung diberi larutan NaCl fisiologis
- 3.6.5 Dengan menggunakan pipet leukosit, sperma dihisap dengan karet hisap sampai angka 0,5, dijaga jangan sampai sperma keluar dari pipet.
- 3.6.6 Setelah itu dilanjutkan dengan pengambilan larutan George sampai angka 101. Kemudian dikocok biar bercampur selama kurang lebih 2 menit.

3.6.7 Kemudian tetesan pertama dan kedua dibuang selanjutnya tetesan berikutnya dimasukkan kedalam bilik hitung yang ditutupi dengan deckglass

3.6.8 Spermatozoa dihitung pada lima kotak kecil bilik hitung eritrosit dibawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali.

Kerangka Kerja Penelitian



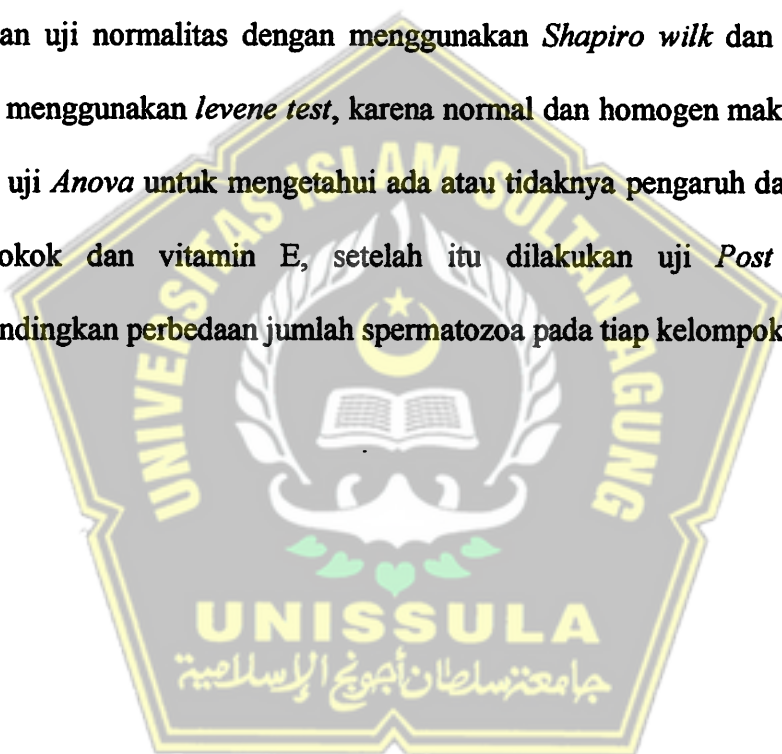
3.7. Tempat dan Waktu

Tempat di dilaboratorium biologi fakultas MIPA UNNES Semarang

Waktu penelitian adalah bulan Juli 2010. Selama 30 hari.

3.8. Analisis Hasil

Setelah perlakuan selesai, data yang diperoleh adalah berupa spermatozoa tikus yang telah diberi perlakuan, selanjutnya dianalisa secara analitik dengan dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro wilk* dan homogenitas dengan menggunakan *levene test*, karena normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *Anova* untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari pemberian asap rokok dan vitamin E, setelah itu dilakukan uji *Post Hoc* untuk membandingkan perbedaan jumlah spermatozoa pada tiap kelompok.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sample 24 ekor tikus galur Wistar jantan dewasa yang terdiri dari 4 kelompok. Penelitian dilakukan dari bulan Juli 2010 di Lab Biologi Universitas Negeri Semarang. Tikus yang digunakan untuk penelitian mempunyai berat badan tertinggi 290 gram dan terendah 200 gram (lampiran 1). Data dasar sampel penelitian tertera dibawah ini:

Tabel 1. Rerata berat badan tikus tiap kelompok (gram)

kelompok	rerata berat badan	standar deviasi
A	247,66	±25,04
B	254,16	±29,90
C	254,66	±29,43
D	244,50	±29,44

Data di atas selanjutnya diuji normalitas dengan menggunakan Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan menggunakan Levene's test kemudian didapatkan hasil bahwa data normal dan homogen karena $p > 0,05$ (lampiran 2). Karena normal dan homogen, dilakukan uji analisis *One Way Anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata berat badan antar

kelompok perlakuan yang signifikan. Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rerata berat badan yang signifikan karena lebih dari $p > 0,05$ yaitu, 0,892 (lampiran 2).

Setelah penelitian didapatkan hasil rerata jumlah spermatozoa seperti tertera pada tabel 2. Keseluruhan hasil jumlah spermatozoa dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 2. Rerata jumlah spermatozoa (juta/ml)

Kelompok	Rerata Jumlah Spermatozoa	±Standart Deviasi
A	4,75	± 0,524
B	3,0	± 0,447
C	4,46	± 1,115
D	4,83	± 0,568

Berdasarkan data pada tabel 2, dapat diketahui rerata jumlah spermatozoa tertinggi pada kelompok D (4,83 juta/ml), diikuti kelompok A (4,75 juta/ml), kemudian kelompok C (4,46 juta/ml), lalu kelompok B (3 juta/ml).

Rerata jumlah spermatozoa kelompok A adalah kelompok kontrol. Kelompok B merupakan kelompok yang mempunyai rerata paling rendah karena pada kelompok B hanya diberi asap rokok saja tanpa pemberian vitamin E. Dibandingkan dengan kelompok C, yaitu kelompok yang diberi asap rokok dan vitamin E, lebih tinggi kelompok D yang hanya diberi vitamin E saja.

Untuk mengetahui ada tidaknya kemaknaan perbedaan peningkatan jumlah spermatozoa setelah perlakuan maka dilakukan uji statistik *One Way Anova* yang sebelumnya dilakukan uji normalitas data dan homogenitas varian sebagai syarat uji *One Way Anova*. Hasil uji normalitas diperoleh nilai $p > 0,05$ yaitu kelompok A (0,820), kelompok B (0,167), kelompok C (0,941), kelompok D (0,492), sehingga dapat diketahui bahwa sebaran data adalah normal. Hasil uji homogenitas, diperoleh nilai $p > 0,05$ yaitu 0,091 sehingga dapat diketahui bahwa sebaran homogen. Maka uji statistik yang digunakan adalah analisa varian satu arah (*One Way Anova*). Hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai $p < 0,05$ yaitu 0,01 berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah spermatozoa antara kelompok. Karena Hasil uji *one way Anova* menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna, maka perlu dilakukan uji analisis lanjutan *Pasca Anova (Post Hoc)* untuk mengetahui perbedaan kebermaknaan antar pasangan kelompok dengan menggunakan uji *Tukey HSD*. Hasil uji *Tukey HSD* seperti ditunjukkan pada tabel 3 (lampiran 2).

Tabel 3. Hasil uji *Tukey HSD*

Kelompok	Rerata	Selisih Rerata	p (Sig.)
A >> B	4,75 >> 3,0	1,75000	0,000*
A >> C	4,75 >> 4,46	0,28333	0,500
A >> D	4,75 >> 4,83	-0,08333	0,842
B >> A	3,0 >> 4,75	-1,75000	0,000*
B >> C	3,0 >> 4,46	-1,46667	0,002*
B >> D	3,0 >> 4,83	-1,83333	0,000*
C >> A	4,46 >> 4,75	-0,28333	0,500
C >> B	4,46 >> 3,0	1,46667	0,002*
C >> D	4,46 >> 4,83	-0,36667	0,384
D >> A	4,83 >> 4,75	0,08333	0,842
D >> B	4,83 >> 3,0	1,83333	0,000*
D >> C	4,83 >> 4,46	0,36667	0,384

* Signifikan

Berdasarkan uji statistik dari tabel 3 dapat diketahui bahwa :

- 4.1.1 Rerata kelompok A lebih tinggi signifikan dibandingkan dengan rerata kelompok B karena kelompok A tidak diberikan perlakuan sedangkan kelompok B terjadi penurunan jumlah sperma karena adanya radikal bebas berlebih yang dihasilkan asap rokok
- 4.1.2 Rerata kelompok A lebih tinggi tidak signifikan dibanding dengan rerata kelompok C karena kelompok A tidak diberi perlakuan sedangkan kelompok C diberi paparan asap rokok dan diberi vitamin E

- 4.1.3 Rerata kelompok A lebih rendah tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok D karena kelompok A tidak diberi perlakuan sedangkan kelompok D diberi vitamin E
- 4.1.4 Rerata kelompok B lebih rendah signifikan dibanding dengan rerata 4.1.5 kelompok A karena kelompok B diberi paparan asap rokok sedangkan kelompok A tidak diberi paparan asap rokok
- 4.1.6 Rerata kelompok B lebih rendah tidak signifikan dibanding rerata kelompok C karena kelompok B hanya dipapar asap rokok saja sedangkan kelompok C dipapar asap rokok dan diberi vitamin E
- 4.1.7 Rerata kelompok B lebih rendah tidak signifikan dibanding dengan rerata kelompok D karena kelompok B diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin E sedangkan kelompok D diberi vitamin E tanpa pemberian asap rokok
- 4.1.8 Rerata kelompok C lebih tinggi tidak signifikan daripada rerata kelompok A karena kelompok C dipapar asap rokok dan vitamin E sedangkan kelompok A tidak diberi perlakuan
- 4.1.9 Rerata kelompok C lebih tinggi signifikan daripada rerata kelompok B karena kelompok C diberi paparan asap rokok dan vitamin E sedangkan kelompok B hanya diberi paparan asap rokok saja.
- 4.1.10 Rerata kelompok C lebih rendah signifikan dibanding dengan rerata kelompok D karena kelompok C diberi paparan asap rokok dan vitamin E

sedangkan kelompok D hanya diberi vitamin E tanpa pemberian asap rokok.

4.1.11 Rerata kelompok D lebih tinggi tidak signifikan dibanding dengan rerata kelompok A karena pada kelompok D hanya diberi vitamin E saja sedangkan kelompok A tidak diberi perlakuan.

4.1.12 Rerata kelompok D lebih tinggi signifikan dibanding dengan rerata kelompok B karena pada kelompok D hanya diberi perlakuan vitamin E saja sedangkan pada kelompok B diberi asap rokok saja.

4.1.13 Rerata kelompok D lebih tinggi tidak signifikan dengan rerata kelompok C karena pada kelompok D diberi vitamin E saja sedangkan pada kelompok C diberi asap rokok dan vitamin E.

Berdasarkan tabel 3 didapatkan nilai bahwa pada rerata jumlah spermatozoa kelompok A lebih tinggi signifikan dibanding dengan kelompok B sehingga paparan asap rokok dapat menurunkan rerata jumlah spermatozoa pada kelompok B. Jumlah rerata kelompok C lebih tinggi signifikan daripada kelompok B walaupun masih rendah tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok A. Sehingga pemberian vitamin E dianggap mampu meningkatkan rerata jumlah spermatozoa

Berdasarkan analisis- analisis di atas, maka hipotesis yang menyatakan bahwa: Jumlah spermatozoa dengan pemberian vitamin E lebih tinggi daripada tanpa pemberian vitamin E pada tikus wistar jantan dewasa yang dipapar asap rokok dapat diterima.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat diketahui bahwa pemberian asap rokok dapat menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa karena rusaknya enzim adenilsiklase pada sel leydig (Anita,2004) yang diakibatkan oleh radikal bebas yang berlebih dari asap rokok sehingga mengakibatkan penurunan pembuatan hormon testosterone sehingga spermatogenesis menjadi terganggu dan menurunkan jumlah spermatozoa. Hal ini terbukti pada kelompok yang diberi paparan asap rokok tetapi tidak diberi vitamin E

Pada kelompok yang diberi asap rokok dan vitamin E terbukti bahwa vitamin E dapat mencegah penurunan jumlah spermatozoa walaupun jumlahnya masih dibawah kelompok kontrol tetapi perbedaannya tidak signifikan. Hal ini disebabkan karena Vitamin E bekerja dengan cara menambahkan 1 atom hydrogen fenolat ke dalam radikal bebas peroksil asam lemak sehingga membentuk radikal tokoperoksi dan hidroperoksi asam lemak (Ball, 2004). Kemudian radikal tokoperol akan bereaksi dengan vitamin C yang akan membentuk tokoperol dan radikal vitamin C, kemudian radikal vitamin C akan bereaksi dengan glutathion yang menghasilkan vitamin C kembali dan glutathion teroksidasi atau GSSG. Setelah itu GSSG akan diubah menjadi GSH atau glutathion tereduksi oleh enzim glutathion reductase (Murray dkk, 2001). Dengan cara itulah radikal bebas dapat diredam dan dampak yang

merugikan bagi spermatozoa dapat dicegah. Pada kelompok yang hanya diberi vitamin E saja tanpa pemberian asap rokok terbukti bahwa vitamin E dapat meningkatkan rerata jumlah spermatozoa. Hal ini terjadi karena vitamin E juga mengeliminasi radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh pada keadaan normal.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sukmaningsih (2010) yang menyatakan bahwa paparan asap rokok menurunkan jumlah spermatozoa dengan rerata kelompok kontrol 47,12ml/juta dan yang diberi asap rokok 19,40 juta/ml, karena dalam penelitian ini jumlah spermatozoa juga menurun karena terpapar asap rokok yaitu kelompok kontrol 4,75 juta/ml dan yang diberi paparan asap rokok adalah 3 juta/ml.

Kelemahan dalam penelitian ini adalah tidak diketahuinya seberapa banyak asap rokok yang dihisap oleh masing-masing tikus dikhawatirkan penghisapan asap rokok pada masing-masing tikus tidak sama sehingga berpengaruh pada radikal bebas yang diakibatkan asap rokok.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

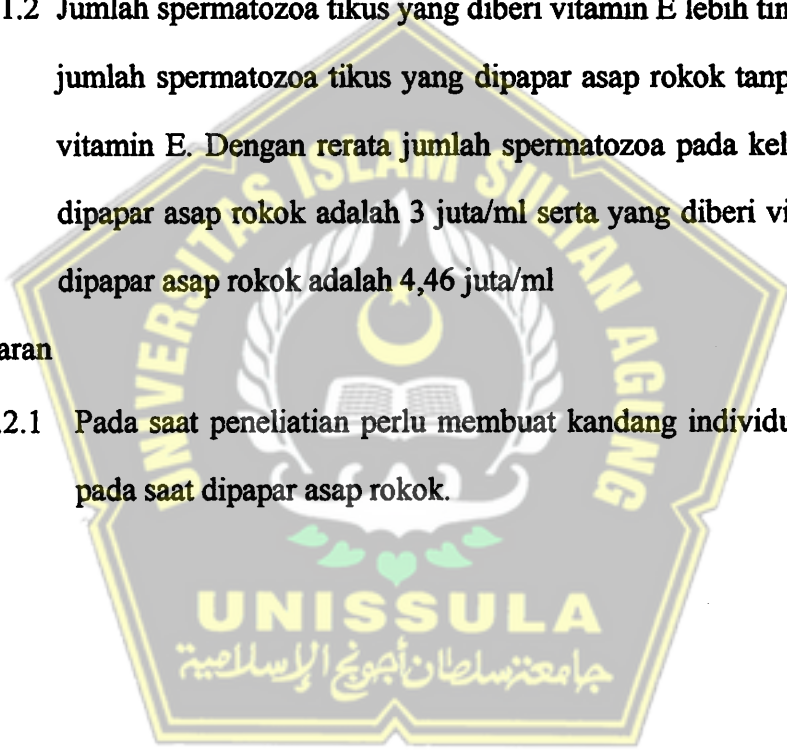
5.1 Simpulan

5.1.1 Ada pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa tikus jantan galur wistar dewasa yang dipapar asap rokok

5.1.2 Jumlah spermatozoa tikus yang diberi vitamin E lebih tinggi daripada jumlah spermatozoa tikus yang dipapar asap rokok tanpa pemberian vitamin E. Dengan rerata jumlah spermatozoa pada kelompok yang dipapar asap rokok adalah 3 juta/ml serta yang diberi vitamin E dan dipapar asap rokok adalah 4,46 juta/ml

5.2 Saran

5.2.1 Pada saat penelitian perlu membuat kandang individu untuk tikus pada saat dipapar asap rokok.



DAFTAR PUSTAKA

- Anita, 2004, *Perubahan Sebaran Stadia Epitel Seminiferus, Penurunan Jumlah Sel-sel Spermatogenik dan Kadar Hormon Testosteron Total Mencit (Mus musculus L.) Galur DDY yang Diberi Asap Rokok Kretek*, Dalam: <http://digilib.litbang.depkes.go.id/go.php?id=jpkbpbpk-gdl-res-2004-nova-2400-epitel&node=191&start=1&PHPSESSID=xmgwjcgxhek> , Dikutip tanggal 5 november 2009.
- Anonim, 2009, *Rokok*, Dalam : [Http://id.wikipedia.org/wiki/rokok](http://id.wikipedia.org/wiki/rokok) , dikutip tanggal 30 Agustus 2009.
- Arya, 2009, *Pengaruh Pemberian Antioksidan Itamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus putih Terpapar Alletherin*, dalam: <http://digilib.unnes.ac.id/gsd/collect/skripsi/archives/HASH015d.dir/doc.pdf> , dikutip tanggal 30 maret 2010, 6-7
- Ball, G.F.M., 2004, *Vitamins Their Role In The Human Body*, Gopson Paper Ltd, Noida, 234-252.
- Barry, 2000, *Biology Of Reproduction*, Dalam: <http://www.bioreprod.org/content/63/4/977.full.pdf+html> ,977-981, dikutip tanggal 3 maret 2010
- Delvin, Thomas M., 2002, *Textbook Of Biochemistry With Clinical Correlations*, Mahnemann University Press, Greenville, 1144-1146.
- Fox J.G., Cohen B.J., Loew F.M. 1984. *Laboratory Animal Medicine*. Academic Press, Inc. USA, 45-47
- Ganiswarna, S.G., 2005, *Farmakologi dan Terapi*, Editor Edisi Bahasa Indonesia ; Sulistyana G Ganiswara, dkk, FK UI, Jakarta, 730-731.
- Ganong, William F., 1998, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Egc, Jakarta, 289-301.
- Gatot, 2009, *Infertilitas Laki-laki*, Dalam: <http://www.forumbebas.com/thread-94447.html>, dikutip tanggal 3 maret 2010
- Gondodiputro, Sharon, 2007, *Bahaya Tembakau dan Bentuk-Bentuk Sediaan Tembakau*, Dalam: [Http://Resources.Unpad.Ac.Id/Unpad-Content/Uploads/Publikasi Dosen/Rokok.Pdf](http://Resources.Unpad.Ac.Id/Unpad-Content/Uploads/Publikasi_Dosen/Rokok.Pdf), Dikutip tanggal 3 Maret 2010

- Guyton, Artur, Hall, Jhon, 1997, *Fisiologi Kedokteran*, Egc, Jakarta, 1265-1277.
- Hermawanto, H.H., Hadiwidjaja, D., 2008, *Analisis Sperma Pada Infertilitas Pria*, Dalam: <http://kamuseliz.wordpress.com/2008/07/26/analisis-sperma-pada-infertilitas-pria/> , Dikutip tanggal 30 Agustus 2009.
- Inasoengkowo, 2009, *solusi infertilitas suami istri*, 1-2
- Kamus Kedokteran Dorland, edisi 29, Egc, 2004, 1720,933.
- Kusmarjadi, 2008, *Apasih Isi Semen (Ejakulat)?*, Dalam: <http://www.drdispog.com/2008/12/apa-sih-isi-semen-ejakulat.html> , Dikutip tanggal 30 Agustus 2009.
- Kusumawati, D., 2004, *Bersahabat dengan Hewan Coba*, UGM press, Yogyakarta, hal 9.
- Manoppo, Pieter G., 2006, *Konsumsi Rokok Yang Menggelisahkan*, Dalam: <Http://Himpsijaya.Org/2006/06/30/Konsumsi-Rokok-yang-Menggelisahkan/> , Dikutip tanggal 30 Agustus 2009.
- Malpani, 1999. *Serba Serbi Analis Kesehatan. Analisa Sperma. Pemeriksaan Analisa Sperma.* <Http://infoanalisis.blogspot.com/2009/01/Analisa-Sperma.Html>. Dikutip tanggal 30 Agustus 2009
- Mardiana, Lina, 2007, *Ramuan Tradisional Untuk Kesuburan Suami Dan Istri*, Penebar Swadaya, Depok. 3-4 .
- Moelok, 1983, *Cermin Dunia Kedokteran*, Dalam: [http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/16 AnalisisSemenManusia.pdf/16 AnalisisSemenManusia.html](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/16_AnalisisSemenManusia.pdf/16_AnalisisSemenManusia.html) , dikutip tanggal 3 maret 2010
- Murray, Robert K., Granner Daryl K., Mayes Peter A., Rodwell Victor W., 2001, *Biokimia Harper*, Egc, Jakarta, 515-517, 566-567, 618-620 .
- Nugraheni dkk, 2003, *Pengaruh Vitamin C terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus musculus L.) Setelah Pemberian Ekstrak Tembakau (Nicotiana tabacum L.)*, dalam: <http://www.scribd.com/doc/13098596/f010103>, dikutip tanggal 3 maret 2010
- Purnomo, G., 2004, *Vitamin*, Fakultas Kedokteran Unissula, Semarang, 24-28.

Ruslan, Gupran, 1996, *Efek merokok Terhadap Rongga Mulut*, Dalam: [Http://www.calbe.co.id/files/cdk/files/14efekmerokokterhadapronggamulut113.pdf/efekmerokokterhadapronggamulut113.html](http://www.calbe.co.id/files/cdk/files/14efekmerokokterhadapronggamulut113.pdf/efekmerokokterhadapronggamulut113.html) , Dikutip tanggal 30 Agustus 2009.

Sukmaningsih, A.A.Sg A., *Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatisid Tubulus Seminiferus Testis pada Mencit yang Dipaparkan Asap Rokok*, dalam: http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/artikel_1.pdf , dikutip tanggal 26 juli 2010.

Suryohudoyo, 2007, *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*, CV Sagung Seto, Jakarta, 31-43.

Wardlaw, Gordon M., Hampl, Jeffrey S., 2007, *Perspective In Nutrition*, The Mcgraw-Hill Companies Inc, New York, 316-322.

