

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C DAN ZINC TERHADAP
JUMLAH SPERMA MENCIT BALB/C YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

NASKAH PUBLIKASI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai derajat Sarjana Kedokteran



Diajukan Oleh :

MOKH SYAIFULLOH GONDO KUSUMO

J500100009

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA

2014

NASKAH PUBLIKASI

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C DAN ZINC TERHADAP JUMLAH
SPERMATOZOA MENCIT STRAIN BALB/C YANG DIBERI PAPARAN
ASAP ROKOK

Yang Diajukan Oleh:

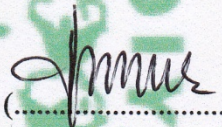
Mokh Syaifulloh Gondo Kusumo

J500100067

Telah disetujui dan dipertahankan dihadapan dewan penguji skripsi Fakultas
Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, pada hari Sabtu, tanggal
01 Maret 2014

Penguji

Nama : Riandini Aisyah, M.Sc


(.....)

Nip/Nik : 1011

Pembimbing Utama

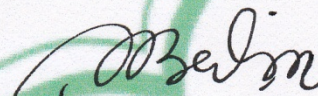
Nama : dr. Retno Sintowati, M.Sc


(.....)

Nip/Nik : 1005

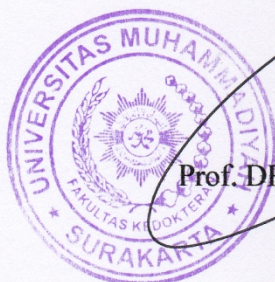
Pembimbing Pendamping

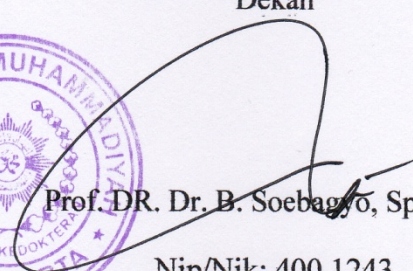
Nama : dr. Wulandari Berliani Putri


(.....)

Nip/Nik : 200.1469

Dekan




Prof. DR. Dr. B. Soebagyo, Sp. A (K)

Nip/Nik: 400.1243

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Vitamin C Dan Zinc Terhadap Jumlah Sperma Mencit Balb/C Yang Terpapar Asap Rokok. **Mokh Syaifulloh Gondo Kusumo J500100009, 2014.**

Latar Belakang : 60 persen laki-laki di Indonesia adalah perokok (WHO Global Youth Tobacco Survey 2000). Konsumsi rokok yang berlebihan dapat menyebabkan infertilitas pada laki-laki karena rokok mengandung banyak radikal bebas yang dapat mengganggu proses spermatogenesis sehingga menyebabkan penurunan jumlah sperma. Vitamin C dan Zinc merupakan antioksidan yang berperan penting dalam melindungi sperma terhadap radikal bebas. Pemberian kombinasi vitamin C dan Zinc diharapkan dapat mengatasi stress oksidatif sehingga dapat meningkatkan jumlah sperma akibat paparan asap rokok.

Tujuan Penelitian : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi vitamin C dan Zinc terhadap jumlah sperma mencit Balb/c yang diberi paparan asap rokok.

Metode Penelitian : Penelitian ini menggunakan metode *experimental post test only control group design*. Sampel penelitian dibagi menjadi lima kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol negatif yang tidak diberi paparan asap rokok, kelompok kontrol positif yang diberi paparan asap rokok tanpa diberi Vitamin C dan Zinc, tiga kelompok perlakuan yang diberikan paparan asap rokok dan diberikan Vitamin C (0,4 mg/grm bb), Zinc (0,4 mg/grm bb), serta kombinasi antara Vitamin C (0,4 mg/grm bb) dengan Zinc (0,4 mg/grm bb). Penelitian dilakukan selama 30 hari. Pada hari ke-31 mencit diterminasi, sampel sperma didapatkan dari duktus deferens. Perhitungan sampel sperma dilakukan di bilik hitung eritrosit untuk menentukan jumlah sperma. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan yang diberi vitamin C dengan kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang hanya diberikan paparan asap rokok yaitu $p=0,000$, pada kelompok perlakuan yang diberi Zinc terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok positif $p=0,000$, dan pada kelompok perlakuan yang diberi vitamin C dan Zinc terdapat perbedaan bermakna $p=0,000$ terhadap kelompok kontrol positif.

Kesimpulan : Pemberian vitamin C, Zinc dan kombinasi antara vitamin C dan Zinc dapat meningkatkan jumlah sperma pada mencit Balb/c dibandingkan dengan kontrol positif (kelompok yang diberi paparan asap rokok) dengan peningkatan berturut-turut sebesar 53,5 %, 47,7 % dan 55,5 %.

Kata kunci : vitamin C dan Zinc, asap rokok, jumlah sperma.

ABSTRACT

The Effect Of Vitamin C And Zinc To Sperm Count Of Male Balb/c Which Are Exposed By Cigarette. **Mokh Syaifulloh Gondo Kusumo J500100009, 2014.**

Background: 60 percent of men were smokers in Indonesia (WHO Global Youth Tobacco Survey 2000). Excessive consumption of cigarette can cause infertility in men because cigarettes contain free radicals that can disrupt the process of spermatogenesis resulting a decrease in sperm count. Vitamin C and Zinc is an important antioxidant in protecting sperm against free radicals. Giving a combination of vitamin C and zinc are expected to cope with oxidative stress, thereby increasing the number of sperm due to exposure to cigarette smoke.

Objective: This study aims to determine the effect of the combination of vitamin C and Zinc on sperm count Balb/c mice which is exposed by cigarette smoke.

Method: This research use experimental method with post test only control group design. The sample of this research is divided of five groups consisting of negative group who weren't given by cigarette smoke exposure. The positive control group given by cigarette smoke exposure without vitamin C and Zinc , three treatment groups were given exposure to cigarette smoke and administered Vitamin C (0.4 mg / gm bb), Zinc (0.4 mg / gm mm), and a combination of vitamin C (0.4 mg / gm mm) with Zinc (0.4 mg / gm mm). The study was conducted for 30 days. On day 31, mice were terminated, sampel sperm obtained from the ductus deferens. Sperm sample calculations performed in erythrocyte counting chamber to determine the number of sperm. Data analysis was performed using One Way Anova test.

Results: There is a significant differentiation in treatment group which is given by Vitamin C with negative control group which is only given by cigarette smoke exposure ($p = 0,000$), the treatment group which is given by Zinc has a significant differentiation toward the negative control group ($p = 0,000$) and also there is a significant difference ($p = 0,000$) on treatment group which is given Vitamin C and Zinc toward the positive control group.

Conclusion: Vitamin C, Zinc, and a combination of vitamin C and zinc can improve sperm count in Balb / c mice compared with positive controls (group that exposed by cigarette smoke) with increased respectively by 53.5%, 47.7% and 55.5%.

Keywords: vitamin C and Zinc, cigarette smoke, the number of sperm.

PENDAHULUAN

Infertilitas merupakan masalah yang memiliki angka kejadian yang cukup besar di Indonesia. Berdasarkan survei rumah tangga tahun 1996, diperkirakan ada 3,5 juta pasangan yang infertil. Kini para ahli memastikan angka infertilitas telah meningkat mencapai 15-20 % dari sekitar 50 juta pasangan di Indonesia. Sedangkan penyebab infertilitas sebanyak 40% berasal dari laki-laki.²

Penyebab infertilitas pria dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah keberadaan radikal bebas. Radikal bebas itu sendiri terbentuk dari proses oksidasi sel tubuh seperti paparan asap rokok. Rokok mengandung bahan-bahan kimia yang berbahaya dalam tubuh, ketika zat-zat berbahaya yang terkandung dalam asap rokok seperti radikal bebas masuk kedalam aliran darah, maka lama-kelamaan akan menyebabkan stres oksidatif kemudian zat-zat tadi akan menyebar keseluruh tubuh termasuk pada organ genetalia dan akan menyebabkan penurunan jumlah sperma.

Radikal bebas dalam tubuh dapat dicegah dengan antioksidan. Vitamin C dan Zinc adalah antioksidan yang sangat efektif dalam melindungi tubuh dari kerusakan radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme normal ataupun melalui asap rokok.³ Interaksi yang terjadi antara Zinc dan vitamin C berhubungan dengan perubahan PH saluran cerna, Perubahan PH ini terjadi karena sifat vitamin C yang asam sehingga mampu menurunkan PH lingkungan kemudian derajat ionisasi Zinc sulfat akan menurun sebab Zinc sulfat mempunyai derajat keasaman yang rendah sehingga bentuk tidak terionisasi lebih banyak dan kelarutan dalam lemak menjadi lebih tinggi. Di samping itu Zinc sulfat memiliki sifat amfoter dengan energi potensial yang sangat kecil (daya pengoksidasi sangat kecil) kemudian berinteraksi dengan vitamin C yang memiliki daya mereduksi yang kuat, sehingga mampu meningkatkan absorpsi Zinc melalui perbedaan potensial diantara kedua sisi membran.⁶

Peningkatan absorpsi Zinc akan meningkatkan enzim superoxide dismutase (SOD) karena Zinc merupakan koenzim yang mengaktifkan enzim SOD. Enzim ini berfungsi sebagai antioksidan yang menghilangkan radikal bebas dari tubuh.⁵

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post test only control group design*, yang menggunakan mencit sebagai subyek penelitian.

Antioksidan yang digunakan adalah vitamin C dan Zinc yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian ini menggunakan vitamin C yang didapat dari vitamin C sintetis merek MERK dengan kandungan 100% vitamin C dalam bentuk serbuk yang diencerkan dengan menggunakan air 0,25cc, yang akan diberikan dalam dosis 0,4 mg/gr berat badan dan Zinc yang digunakan adalah Zinc yang didapat dari Zinc Sulfat sintetis merek MERK dengan kandungan 100% berbentuk serbuk yang diencerkan dengan menggunakan air 0,25 cc, yang akan diberikan dalam dosis 0,014 mg/gr berat badan.

Radikal bebas yang digunakan berasal dari asap rokok. Jenis rokok yang digunakan adalah rokok kretek merek gudang garam merah karena pada rokok ini terkandung lebih dari 1014 radikal bebas dan lebih aplikatif di masyarakat. Paparan asap rokok dilakukan sebanyak ½ batang setiap harinya selama 30 hari dengan menggunakan spuit 6 cc sebagai pompa. Kandang pemaparan asap rokok adalah kotak berukuran 30 x 22 x 19 cm yang telah diberi ventilasi secukupnya, setiap kandang diisi tujuh ekor mencit pada saat pemaparan asap rokok.

Hewan coba dalam penelitian ini adalah mencit strain Balb/c sebanyak 25 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Negeri Surakarta. Sampel penelitian diambil secara acak dengan kriteria inklusi: mencit strain BALB/c, jantan, sehat, umur 8 – 12 minggu, berat badan 20 – 25 gram. Mencit terlebih dulu diadaptasikan selama satu minggu serta diberikan makan dan minum secara *ad libitum*. Semua mencit tersebut kemudian dibagi menjadi enam kelompok secara acak, masing-masing terdiri dari lima ekor mencit dengan perlakuan berbeda pada tiap kelompoknya. K-A adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan, K-B adalah kelompok yang dipapari asap rokok, K-C adalah kelompok yang dipapari asap rokok dan diberi Zinc (0,014 mg/gr bb), K-D adalah kelompok yang dipapari asap rokok dan diberi vitamin C (0,2 mg/gr bb), K-E adalah kelompok yang dipapari

asap rokok dan diberi kombinasi vitamin C (0,2 mg/gr bb) dan Zinc (0,014 mg/gr bb). Perlakuan dilakukan selama 30 hari.

Pada hari ke 31, mencit diterminasi selanjutnya diambil sampel dengan cara memotong duktus deferen sepanjang 1 cm kemudian diurut. Setelah sampel terkumpul, spermatozoa dihisap dengan pipet lekosit sampai angka 0,5 kemudian langsung digunakan untuk menghisap larutan pengencer NaCl sampai angka 11. Kocoklah isi pipet sehingga homogen kemudian taruh dalam bilik hitung, tutup dengan *deckglass* dan tempatkan dalam mikroskop. Perhatikan dan dihitung jumlah spermatozoa pada bidang yang luasnya 1 mm². Dengan memperhatikan berapa kali pengenceran akan didapatkan jumlah seluruh spermatozoa dalam juta/cc.

Setelah selesai perlakuan, Data hasil penghitungan jumlah sperma kemudian di analisa menggunakan program SPSS versi 17 dengan serangkaian uji statistik :

1. *Shapiro-wilk* untuk mengetahui persebaran data.
2. Tes Homogenitas untuk mengetahui homogenitas tiap kelompok.
3. *One-way anova* untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok.
4. *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan rata-rata tiap kelompoknya.

HASIL

Dari keseluruhan sampel penelitian didapatkan Rerata Jumlah Sperma (juta/ml) dan Persentase peningkatan jumlah sperma sebagai berikut :

Tabel 1. Rerata Jumlah Sperma (juta/ml) dan Persentase peningkatan jumlah sperma dari kelompok C, D, E dengan kelompok B.

Kelompok	Rerata jumlah sperma	Persentase peningkatan jumlah sperma
A	52	-
B	30,6	-
C	45,2	47,7 %
D	47	53,5 %
E	47,6	55,5 %

Dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan data jumlah sperma terdistribusi normal, sehingga uji selanjutnya adalah uji *Oneway ANOVA*. Dari uji tersebut didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna dalam hal jumlah spermatozoa antara kelompok perlakuan. Untuk mengetahui beda antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Posthoc*, dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 8. Uji *Post Hoc*

Kelompok Perlakuan	Nilai p	Hasil Uji
B-A	0,000*	Berbeda bermakna
B-C	0,000*	Berbeda bermakna
B-D	0,000*	Berbeda bermakna
B-E	0,000*	Berbeda bermakna
C-D	0,466	Berbeda tidak bermakna
C-E	0,807	Berbeda tidak bermakna
D-E	0,333	Berbeda tidak bermakna

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa perbedaan yang bermakna terdapat antara kelompok A (K-) dan kelompok B (K+) ($p=0.000$), antara kelompok A dengan kelompok B ($p=0.000$). Kelompok B dengan kelompok C, kelompok B dengan kelompok D dan kelompok B dengan kelompok E. Sedangkan antar kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Asap rokok adalah asap yang berasal dari rokok yang didalamnya terdapat bahan-bahan kimia yang berbahaya dalam tubuh, ketika zat-zat berbahaya yang terkandung dalam asap rokok seperti radikal bebas masuk kedalam aliran darah, maka lama-kelamaan akan menyebabkan stres oksidatif kemudian zat-zat tadi akan menyebar keseluruh tubuh termasuk pada organ genetalia dan akan menyebabkan penurunan jumlah sperma, hal itu bisa terjadi karena radikal bebas tadi akan merusak enzim adenilsiklase pada sel leydig. Enzim adenilsiklase pada

sel leydig berfungsi merubah ATP menjadi cAMP Sehingga menyebabkan turunnya jumlah cAMP, jika cAMP menurun maka kolesterol yang masuk kedalam mitokondria juga menurun karena meningkatnya jumlah cAMP akan meningkatkan jumlah kolesterol yang masuk kedalam mitokondria oleh StAR.⁴ 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 terganggu dan menyebabkan perubahan dalam jumlah sperma.¹ Dengan begitu telah terbukti bahwa terdapat penurunan jumlah spermatozoa pada kontrol (+) yang dipapar asap rokok dibanding kontrol (-) yang tidak dipapar asap rokok.

Pada penelitian kali ini, mencit juga diberi perlakuan berupa pemberian kombinasi antara vitamin C dan Zinc yang berfungsi sebagai antioksidan dan diharapkan dapat mencegah penurunan jumlah spermatozoa akibat akumulasi radikal bebas (asap rokok) yang berlebihan tersebut. Pada pemberian kombinasi vitamin C dan Zinc telah terbukti dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit dibanding kelompok B yang diberi asap rokok saja, hal ini terjadi karena didalam duodenum terjadi interaksi antara vitamin C dan Zinc yaitu berhubungan dengan perubahan PH saluran cerna, Perubahan PH ini terjadi karena sifat vitamin C yang asam sehingga mampu menurunkan PH lingkungan kemudian derajat ionisasi Zinc sulfat akan menurun sebab Zinc sulfat mempunyai derajat keasaman yang rendah sehingga bentuk tidak terionisasi lebih banyak dan kelarutan dalam lemak menjadi lebih tinggi. Di samping itu Zinc sulfat memiliki sifat amfoter dengan energi potensial yang sangat kecil (daya pengoksidasi sangat kecil) kemudian berinteraksi dengan vitamin C yang memiliki daya mereduksi yang kuat, sehingga mampu meningkatkan absorpsi Zinc melalui perbedaan potensial diantara kedua sisi membran.⁶ Bila absorpsi Zinc meningkat maka jumlah enzim superoxide dismutase (SOD) akan meningkat karena Zinc merupakan koenzim dari enzim SOD. Enzim SOD bekerja dengan cara radikal superoxide dirubah menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Kemudian hidrogen peroksida dirubah menjadi air dan oksigen dengan bantuan enzim glutathion peroksidase dimana keduanya

tidak reaktif dalam pengrusakan tubuh. Terbentuknya air dan oksigen menunjukkan bahwa reaksi oksidasi yang terjadi pada enzim adenilsiklase dapat dicegah dan jumlah sperma akan meningkat.⁵

Vitamin C merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh (eksogen) yang dapat langsung menetralkan radikal bebas yang berasal dari asap rokok dengan cara vitamin C merubah radikal tokoferol menjadi tokoperol dan radikal vitamin C, kemudian radikal vitamin C akan dioksidasi dengan glutation yang menghasilkan vitamin C kembali dan glutation teroksidasi (GSSG), kemudian enzim glutation reduktase akan mereduksi GSSG menjadi glutation tereduksi (GSH).⁴ GSH adalah radikal yang sudah tidak reaktif lagi. Dengan begitu telah terbukti bahwa vitamin C dapat meningkatkan jumlah sperma mencit balb/c yang dipapari asap rokok.

Zinc merupakan mikromineral yang berperan sebagai kofaktor dari enzim SOD. Enzim SOD adalah antioksidan endogen yang dapat langsung menetralkan radikal bebas yang berasal dari asap rokok dengan cara radikal superoxide dirubah menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Kemudian hidrogen peroksida dirubah menjadi air dan oksigen dengan bantuan enzim glutation peroksidase dimana keduanya tidak reaktif dalam pengrusakan tubuh. Terbentuknya air dan oksigen menunjukkan bahwa reaksi oksidasi yang terjadi pada enzim adenilsiklase dapat dicegah dan jumlah sperma akan meningkat.⁵ Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan bahwa Zinc dapat meningkatkan jumlah sperma mencit balb/c yang diberi paparan asap rokok.

KESIMPULAN

1. Pemberian vitamin C dosis 0,2 mg/gr bb, Zinc dosis 0,014 mg/gr bb, dan kombinasi antara vitamin C dosis 0,2 mg/gr bb dan Zinc dosis 0,014 mg/gr bb dapat meningkatkan jumlah sperma mencit Balb/c yang diberi paparan asap rokok.
2. Potensi peningkatan jumlah sperma mencit balb/c pada pemberian kombinasi antara vitamin C dosis 0,2 mg/gr bb dan Zinc dosis 0,014 mg/gr bb yang diberi paparan asap rokok tidak terdapat perbedaan jumlah sperma

secara signifikan dibandingkan dengan kelompok mencit yang diberi vitamin C dosis 0,2 mg/gr bb dan diberi paparan asap rokok atau dengan kelompok mencit yang diberi Zinc dosis 0,014 mg/gr bb dan diberi paparan asap rokok.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis kombinasi vitamin C dan Zinc untuk menentukan dosis optimal yang dapat diberikan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian vitamin C dan Zinc terhadap organ lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C dan Zinc terhadap manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Guyton., Hall., 2007. Buku Teks Fisiologi Kedokteran. Jakarta. EGC.
2. Inasoengkowo., 2009. Mengenal Dan Menangkal Radikal Bebas. PhD Thesis.
3. Maggini S., Beveridge S., Suter M., 2012. A Combination of High-dose Vitamin C Plus Zinc for the Common Cold. *J Agric Food Chem* .40: 28 – 42.
4. Murray R. K., Daryl K. Granner., Peter A. Mayes., Victor W., Rodwell.,2001. Biokimia harper.Jakarta.EGC.
5. Prasad A.S., Halsted J.A., Nadim M., 1961. Syndrome Of Iron Deficiency, Anemia, Hepatosplenomegali, Hypogonadism, Dwar-Fism And Geophagia. *Am J Med* .31:532.
6. Susilo J., 2000. Pengaruh Vitamin C Terhadap Absorpsi Zinc Secara In Vitro. PhD Thesis.