

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Spermatogenesis

Sistem reproduksi pria terdiri dari duktus genitalis, kelenjar-kelenjar tambahan, penis, dan testis. Duktus genitalis terdiri dari saluran genitalia intratestis, dan ekstratestis. Saluran-saluran di intratestis terdiri atas tubuli rekti, rete testis, dan duktuli efferentes. Sedangkan saluran-saluran di ekstratestis berfungsi untuk mentranspor spermatozoa yang dihasilkan dalam testis menuju ke permukaan tubuh, contohnya adalah duktuli eferentes, epididimis, vas deferens, dan uretra. Contoh dari kelenjar-kelenjar tambahan penis antara lain vesikula seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar bulbouretralis. Penis sendiri berfungsi sebagai organ kopulasi. Di dalam testis terdapat dua jenis sel, yaitu sel germinativum yang merupakan sel turunan spermatogenik dan sel sertoli yang berfungsi sebagai sel penyokong. Sedangkan testis berfungsi sebagai tempat spermatogenesis dan tubulus seminiferus merupakan tempat spesifiknya.¹⁰

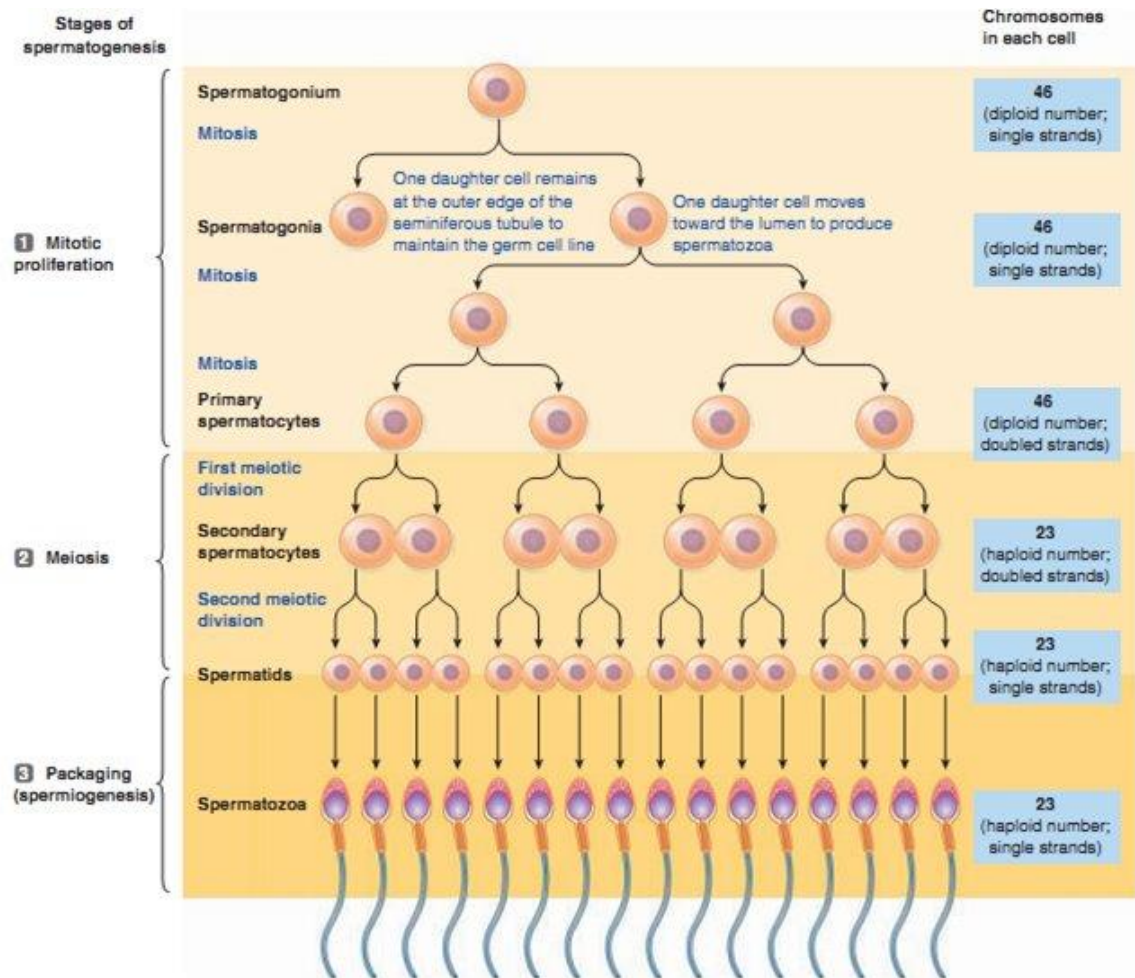
Spermatogenesis adalah suatu proses kompleks dimana sel germinativum yang belum berdiferensiasi diubah dan berproliferasi menjadi spermatozoa yang sangat khusus dan dapat bergerak. Masing-masing spermatozoa tersebut mengandung set haploid 23 kromosom yang terdistribusi secara acak. Spermatogenesis memerlukan waktu 64 hari untuk pembentukan dari

spermatogonium menjadi sperma matang, dan setiap hari dapat dihasilkan beberapa ratus juta sperma matang. Spermatogenesis dibagi menjadi 3 tahap, yaitu proliferasi mitotik, meiosis, dan pengemasan (spermiogenesis).¹¹

Pada tahap proliferasi mitotik, mula-mula spermatogonia yang terletak di lapisan terluar tubulus terus menerus bermitosis. Mitosis tersebut menghasilkan sel anak yang identik dengan sel induk (46 kromosom). Proliferasi tersebut menghasilkan pasokan sel germinativum baru yang terus-menerus. Kemudian, salah satu sel anak tetap di tepi luar tubulus dan menjadi spermatogonium yang tak berdiferensiasi. Dan sel anak yang lain, mulai bergerak ke arah lumen sembari menjalani berbagai tahap, kemudian akan dibebaskan ke dalam lumen. Pada manusia, sel anak penghasil sperma tersebut membelah secara mitosis dua kali lagi untuk menghasilkan empat spermatosit primer identik (masing-masing dengan jumlah diploid 46 kromosom lengkap). Setelah itu, masuk fase istirahat untuk mempersiapkan fase pembelahan meiotik pertama.¹¹

Pada tahap meiosis, pertama-tama terjadi pembelahan meiotik pertama dimana setiap spermatosit primer tadi membentuk dua spermatosit sekunder dengan jumlah haploid 23 kromosom rangkap. Dan akhirnya dua spermatosit sekunder tadi menghasilkan empat spermatid (masing-masing dengan 23 kromosom tunggal) di pembelahan meiotik kedua.¹¹

Pada tahap pengemasan atau *remodelling*, setiap spermatid tadi akan ditransformasi menjadi spermatozoa karena secara struktural spermatid masih mirip spermatogonia yang belum berdiferensiasi, kecuali jumlah kromosomnya. Pada tahap *remodeling* akan ada beberapa proses seperti, pembentukan akrosom, pembentukan kepala, pembentukan ekor, pepadatan dan pemanjangan inti, serta proses kehilangan sebagian besar sitoplasmanya.¹¹



● FIGURE 20-8 Spermatogenesis.

Gambar 1. Spermatogenesis¹¹(Sherwood,2011)

2.2 Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah pergerakan aktif spermatozoa yang dilihat secara mikroskopis. Motilitas spermatozoa merupakan salah satu penentu seorang pria dianggap subur atau fertil. Dikatakan subur apabila jumlah spermatozoa yang motil adalah minimal enam puluh persen dari jumlah total spermatozoa.¹²

Motilitas spermatozoa yang normal akan bergerak cepat, lurus kedepan. Pergerakan ini dilakukan oleh flagel. Gerakan spermatozoa terlihat seperti gerakan cambuk. Spermatozoa tersebut bergerak dengan tujuan agar sampai ke alat reproduksi wanita untuk pembuahan. Energi untuk bergerak atau motil tersebut bersumber pada bagian tengah spermatozoa. Di bagian tersebut terdapat mitokondria yang berfungsi untuk memecah bahan-bahan tertentu untuk mengeluarkan energi.¹³

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan atau 400x. Lima lapangan pandang diperiksa dan hasilnya diklasifikasikan sehingga menghasilkan suatu persentase untuk setiap kategori.¹²

Motilitas dari setiap spermatozoa di dalamnya dikelompokkan ke dalam kategori berikut, berdasarkan penampakan spermatozoa :¹⁴

(PR) *Progressive Motility* : Bergerak aktif

(NP) *Non-Progressive Motility* : Bergerak lemah

(I) *Immotility* : Tidak Bergerak

Sesuai dengan standar penilaian motilitas WHO, spermatozoa dikatakan normal bila jumlah persentase sperma kriteria PR dan NP lebih besar atau sama dengan 40%. Atau kriteria PR lebih besar atau sama dengan 32%.¹⁴

2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Motilitas Spermatozoa

Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa antara lain :

a. Nutrisi

Nutrisi atau makanan adalah salah satu hal yang dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa. Nutrisi dapat memberikan dampak yang positif dan dampak yang negatif bagi motilitas spermatozoa. Nutrisi yang dapat memberikan dampak positif, yaitu makanan yang mengandung antioksidan, karena antioksidan dapat menangkal dan mereduksi radikal bebas atau senyawa ROS. Contohnya adalah Vitamin C, Vitamin B2 dan B6, Selenium, dan Zinc.

Nutrisi yang dapat memberikan dampak negatif antara lain alkaloid, minyak, astiri, dan tannin yang dapat menyebabkan penghambatan motilitas spermatozoa dan kualitas spermatozoa.¹⁵

b. Polutan (Asap Kendaraan)

Sumber polusi terbesar dihasilkan asap kendaraan bermotor yang mencapai 70%. Kondisi tersebut berpotensi menimbulkan berbagai gangguan kesehatan bagi masyarakat pengguna jalan dan mereka yang beraktivitas di dekat sumber polusi merupakan kelompok yang rentan terkena dampaknya, contohnya polisi lalu lintas. Sebuah penelitian dilakukan terhadap 290 polisi lalu lintas yang telah bekerja lebih dari 5 tahun dan 58 polisi non lalu lintas. Hasilnya, sperma polisi lalu lintas memiliki motilitas lebih rendah (44,5%) dibandingkan dengan kondisi normal (lebih dari 50%).¹⁶

c. Radiasi Ponsel

Radiasi gelombang elektromagnetik dari ponsel dapat mengakibatkan menurunnya jumlah dan kualitas spermatozoa pada laki-laki fertil pengguna ponsel, tetapi tidak sampai menyebabkan infertilitas. Mekanisme gangguan ini memungkinkan terjadi melalui penurunan integritas membrane sperma, hambatan produksi, dan sekresi hormon gonadotropin.¹⁷

d. Suhu

Salah satu faktor suhu lingkungan cukup besar memegang peranan dalam proses spermatogenesis. Spermatogenesis akan terganggu atau

terhambat apabila terjadi peningkatan suhu testis beberapa derajat saja dari temperatur normal testis, yaitu 35⁰C.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pemberian suhu 40⁰C memberikan dampak signifikan terhadap penurunan kualitas spermatozoa, yang salah satunya adalah penurunan motilitas spermatozoa. Pemaparan suhu tersebut selama 45 menit per hari menunjukkan hubungan yang signifikan.¹⁸

e. Penyakit-Penyakit

Contoh penyakit-penyakit sistemik yang dapat merusak spermatogenesis dan fungsi seks antara lain adalah Diabetes Melitus dan penyakit nerulogis. *Tuberculosis* juga dapat menyebabkan epididimitis dan prostatitis. Selain itu pria dengan penyakit fibrokistik pankreas mempunyai angka kejadian tinggi pada disgenesis atau agenesis vas deferen. Orchitis berhubungan dengan parotitis dicatat sebagai kemungkinan penyebab kerusakan testis dapatan dan bukan sebagai kelainan sistemik.¹⁹

f. Alkohol

Dalam testis, alkohol dapat mempengaruhi sel-sel Leydig, yang memproduksi dan mengeluarkan hormon testoteron. Studi menemukan bahwa hasil konsumsi alkohol berat kadar testoteron berkurang dalam

darah. Alkohol juga mengganggu fungsi sel sertoli testis yang berfungsi untuk pematangan sperma. Alkohol juga dapat mengganggu produksi hormon di hipotalamus.²⁰

g. Obat

Beberapa obat-obatan yang menyebabkan kerusakan spermatogenesis sementara atau menetap dan dapat mengganggu infertilitas antara lain kemoterapi kanker pengobatan hormon kortikosteroid dosis tinggi, radiasi, simetidin, sulfasalasin, spironolakton, nitrofurantoin, nitridisial, kolkisin juga obat-obat antihipertensi dan obat penenang.¹⁹

h. Lain-lain

Masih banyak faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa maupun proses spermatogenesis antara lain faktor psikis, faktor hormonal, faktor pekerjaan, dan lain-lain.⁵

2.4 Asap Rokok sebagai Radikal Bebas dan Antioksidan

2.4.1 Asap Rokok sebagai Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok bahan kimia, baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luar orbitalnya. Radikal bebas mempunyai waktu paruh yang sangat pendek dan memiliki satu atau lebih elektron bebas. Sumber radikal bebas yang ada pada tubuh manusia sendiri berasal dari dua sumber, yaitu eksogen dan endogen.

Sumber eksogen adalah yang berasal dari luar tubuh, seperti obat-obatan, asap rokok, dan radiasi. Sedangkan sumber endogen adalah yang berasal dari dalam tubuh manusia itu sendiri, contohnya oksidasi enzimatis, *respiratory burst*, dan autoksidasi.²¹

Karena radikal bebas sangat reaktif dan spesifitasnya rendah, maka radikal bebas mudah untuk bereaksi dengan molekul lain seperti karbohidrat, protein, lemak, dan DNA. Untuk mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak bisa mempertahankan bentuk asli dalam waktu yang lama, radikal bebas harus segera berikatan dengan bahan di sekitarnya dan akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron. Zat yang terambil elektronnya tersebut juga akan menjadi radikal bebas. Sehingga, akan memulai suatu reaksi berantai dan terjadi kerusakan sel tersebut.²²

Tekanan oksidatif atau *oxidative stress* adalah suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif intermediet (ROI) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen. *Oxidative stress* akan mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan protein, DNA, dan lemak sehingga mengakibatkan kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Peroksidasi lipid merupakan proses dimana PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) akan mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi. Stres oksidatif dapat menimbulkan beberapa penyakit seperti penyakit inflamasi (arthritis,

vaskulitis, glomerulonefritis), penyakit iskemik (stroke, penyakit jantung), penyakit saraf (Alzheimer, Parkinson).^{22,23}

Rokok mempunyai bahaya yang tinggi bagi kita. Selain dapat menyebabkan penyakit pernafasan seperti COPD (*Chronic Obstructive Pulmonary Disease*), juga dapat menyebabkan penyakit kanker dan penyakit jantung koroner.²⁴

Di dalam asap rokok, komponen kimiawi yang dimiliki dapat mencapai puluhan ribu komponen. Komponen tersebut biasanya bersifat toksik, dapat berupa nikotin, tar, mutagen, dan radikal bebas. Radikal bebas dalam asap rokok jumlahnya sangat banyak, dalam sekali hisap diperkirakan masuk sekitar 1014 molekul radikal bebas. Partikel tersebut biasanya gabungan senyawa organik dan memiliki potensi gaya elektromagnetik dan magnetik, sehingga secara sendiri-sendiri komponen kimia dari asap rokok bisa menjadi berbahaya.²⁵

2.4.2 Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang cukup stabil untuk menyumbangkan elektronnya ke radikal bebas dan menetralsirnya, sehingga bisa mengurangi kemampuan radikal bebas tersebut untuk merusak. Terdapat dua prinsip mekanisme aksi antioksidan. Pertama adalah mekanisme *chain-breaking* dimana antioksidan primer menyumbangkan elektronnya ke radikal bebas

yang terdapat di dalam suatu sistem. Perlu diketahui bahwa fungsi antioksidan primer untuk mencegah pembentukan senyawa radikal bebas yang baru. Mekanisme kedua yaitu untuk menghilangkan inisiator ROS (*Reactive Oxygen Species*) dengan cara mendinginkan atau mencegah terjadinya reaksi berantai, contohnya donasi elektron, ko-antioksidan, atau regulasi ekspresi gen.²³

Tindakan antioksidan dalam sistem pertahanan tubuh, dapat diklasifikasikan dalam empat kategori :²³

1. Baris pertama pertahanan, yaitu antioksidan preventif, yang menekan pembentukan radikal bebas. Untuk menekan reaksi tersebut, beberapa antioksidan mereduksi hidropoksida dan hydrogen peroksida sebelum menjadi alkohol dan air, tanpa meregenerasi radikal bebas dan protein-protein penghasil ion besi.
2. Baris kedua pertahanan, yaitu antioksidan peredam radikal, yang meredam radikal aktif untuk menekan inisiasi rantai dan atau memutus reaksi propagasi rantai. Berbagai antioksidan peredam radikal endogen, contohnya adalah vitamin C, bilirubin, thiol, asam urat, vitamin E, dan ubiquinol.
3. Baris ketiga pertahanan, yaitu antioksidan yang memperbaiki kerusakan dan antioksidan *de novo*. Diperankan oleh enzim-enzim proteolitik, proteinase, protease, dan peptidase yang ada di sitosol

dan mitokondria sel mamalia. Sistem perbaikan DNA juga memainkan peran penting dalam total sistem pertahanan terhadap kerusakan oksidatif. Berbagai macam enzim yang dikenal seperti glycosylase dan nuclease, yang dapat memperbaiki DNA yang rusak.

4. Baris keempat pertahanan, yaitu adaptasi, dimana sinyal untuk produksi dan reaksi radikal bebas dapat menginduksi pembentukan dan transportasi antioksidan yang tepat pada tempatnya.

2.5 Motilitas Spermatozoa Kaitannya dengan Asap Rokok

Disfungsi organ reproduksi adalah penyebab utama infertilitas antara pasangan, dan asap rokok telah terbukti menyebabkan berbagai bentuk disfungsi reproduksi pada laki-laki dan perempuan, seperti Bayi Berat Lahir Rendah, kematian prenatal dan neonatal, dan disfungsi ereksi.²⁴

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa merokok dapat meningkatkan ROS dan menurunkan antioksidan di cairan semen sehingga seorang perokok lebih rentan mengalami infertilitas karena meningkatnya produksi radikal bebas di dalam sperma, menyebabkan kerusakan DNA dan apoptosis sel sperma²⁶. Radikal bebas yang berasal dari partikel gas rokok juga dapat menyebabkan terjadinya aglutinasi sperma sehingga berakibat terhadap

menurunnya motilitas sperma.²⁷ Penelitian lain menyebutkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan gangguan spermatogenesis pada mencit, yang sebagian disebabkan karena adanya induksi kerusakan DNA dan stress oksidatif. Dalam penelitian lain, telah dilaporkan bahwa asap rokok menginduksi peroksidasi lipid dan mengubah kadar enzim oksidatif pada testis tikus.²⁴

2.6 Dark Chocolate dan Manfaatnya

Theobroma cacao L. dan produk-produknya seperti *dark chocolate*, bubuk cokelat, dan *baking chocolate* dikonsumsi di seluruh dunia dan dipelajari terutama karena kandungan antioksidan dan antiradikal sifat *in vitro* dari beberapa konstituen polifenol mereka, khususnya procyanidins dan flavan-3-ols. Dalam beberapa tahun terakhir beberapa penelitian besar fokus dalam kandungan polifenol kakao, terutama flavonoid, dan fungsinya sebagai antioksidan poten dalam kesehatan manusia. Beberapa efek menguntungkan dari polifenol adalah seperti anti-karsinogenik, anti-aterogenik, anti-ulkus, anti-trombotik, anti-inflamasi, modulasi kekebalan tubuh, anti-mikroba, vasodilatasi dan efek analgesik.²⁸

Di Amerika Serikat, standar untuk produk-produk berbau cokelat dan kakao telah ditetapkan oleh *Food and Drug Administration (FDA)*. Pada umumnya, dikenal 3 jenis cokelat: cokelat susu (*milk chocolate*), cokelat putih (*white chocolate*), dan *dark chocolate*. Dari ketiga jenis cokelat tersebut, *dark chocolate*

memiliki kandungan cokelat yang tertinggi sehingga terasa lebih pahit dibandingkan jenis cokelat yang lain. Kandungan bermanfaat dalam *dark chocolate* disebut flavonoid, yang juga berkontribusi memberikan pigmen gelap pada cokelat. *Dark chocolate* mengandung kakao dengan presentasi tinggi ($\pm 70\%$), dengan sedikit atau tanpa tambahan gula. Hal inilah yang menyebabkan kandungan manfaat pada *dark chocolate* lebih tinggi dari jenis cokelat lainnya. Beberapa contoh manfaat dari *dark chocolate* antara lain menurunkan tekanan darah, menaikkan aliran darah, menaikkan HDL, menurunkan oksidasi LDL, menurunkan risiko penyakit jantung, melindungi kulit dari sinar ultraviolet, dan menaikkan fungsi otak.²⁹

Flavanol dan procyanidins pada kakao, ekstrak kakao, dan coklat yang dimurnikan memberikan efek antioksidan in vitro. Sifat antioksidan flavanols didasarkan pada struktur dan karakteristik mereka, termasuk hidroksilasi dari cincin flavan, terutama 3',4'-dihidroksilasi cincin B (struktur katekolik), panjang rantai oligomer, dan fitur stereokimia molekul.³⁰

Flavonoid bertindak sebagai antioksidan dengan langsung menetralkan radikal bebas, sebagai pengkelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{+}), menghambat enzim yang bertanggung jawab untuk produksi ROS, melakukan proses *up-regulating* atau melindungi antioksidan pertahanan.³¹

2.7 Dosis *Dark Chocolate*

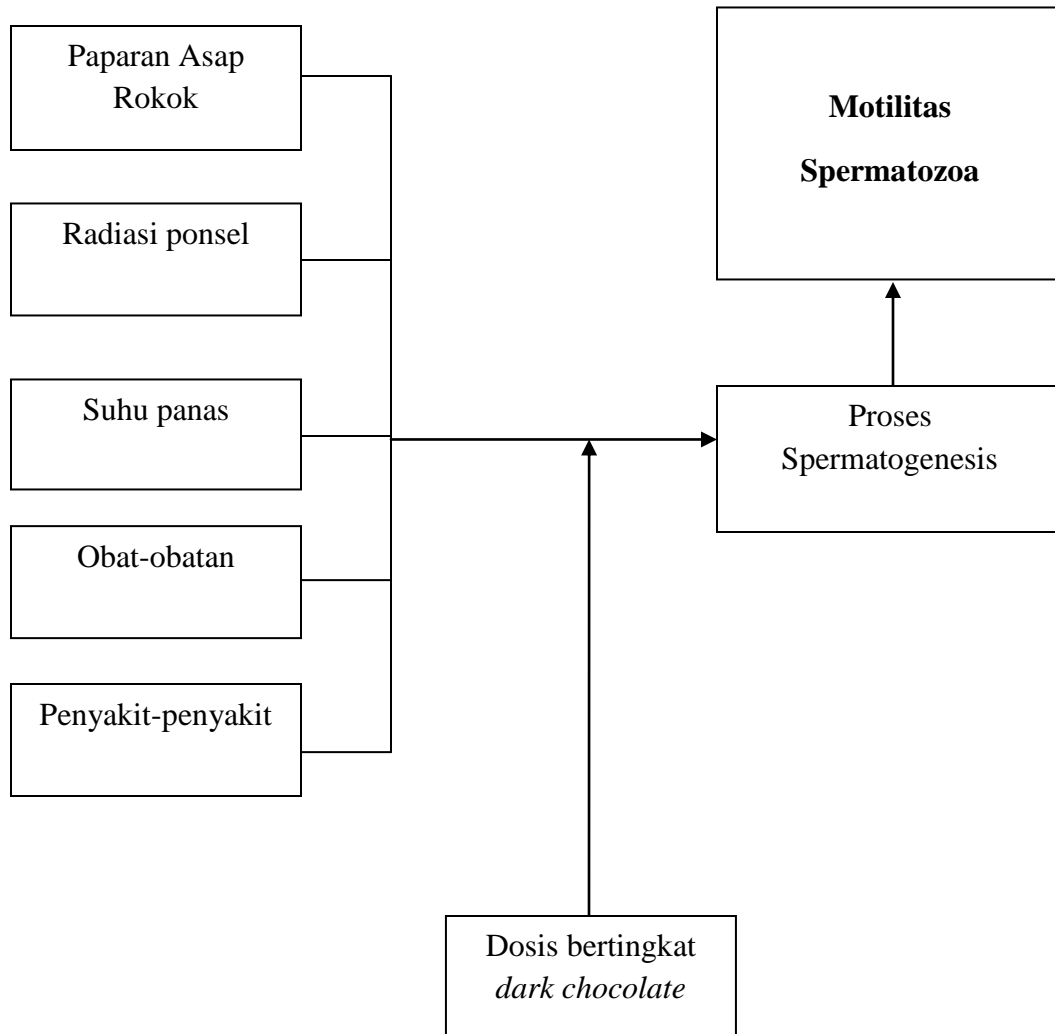
Dosis *dark chocolate* yang diberikan pada mencit *balb/c* jantan dihitung berdasarkan penelitian terdahulu yang menjelaskan bahwa kadar asupan polyphenol dalam *dark chocolate* yang dapat memberikan pengaruh pada manusia adalah 860 mg per 45 gram *dark chocolate*.

Dosis ini dikonversikan kepada jumlah yang dibutuhkan pada tiap mencit *balb/c* jantan dengan cara mengalikannya dengan 0,0026 sehingga didapatkan dosis *dark chocolate* untuk tiap mencit adalah 0,1 gram.

Tabel 2. Konversi Dosis Manusia dan Antar Jenis Hewan³²

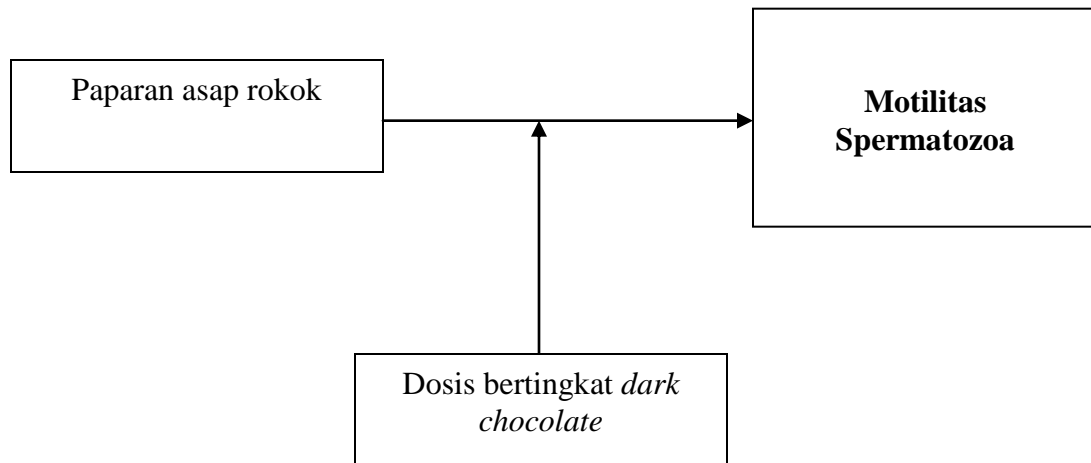
	Mencit	Tikus	Marmot	Manusia
Mencit (20g)	1,0	7,0	12,25	387,9
Tikus (200 g)	1,14	1,0	1,74	56,0
Marmot (400g)	0,08	0,57	1,0	31,15
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	1,0

2.8 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

2.10.1 Hipotesis Mayor

Motilitas spermatozoa mencit *balb/c* dengan paparan asap rokok yang diberi *dark chocolate* lebih baik dibandingkan dengan yang tidak diberi *dark chocolate*.

2.10.2 Hipotesis Minor

Terdapat perbedaan bermakna motilitas spermatozoa mencit *balb/c* yang diberi *dark chocolate* dengan paparan asap rokok sesuai peningkatan dosis.