

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Spermatogenesis dan Spermatozoa

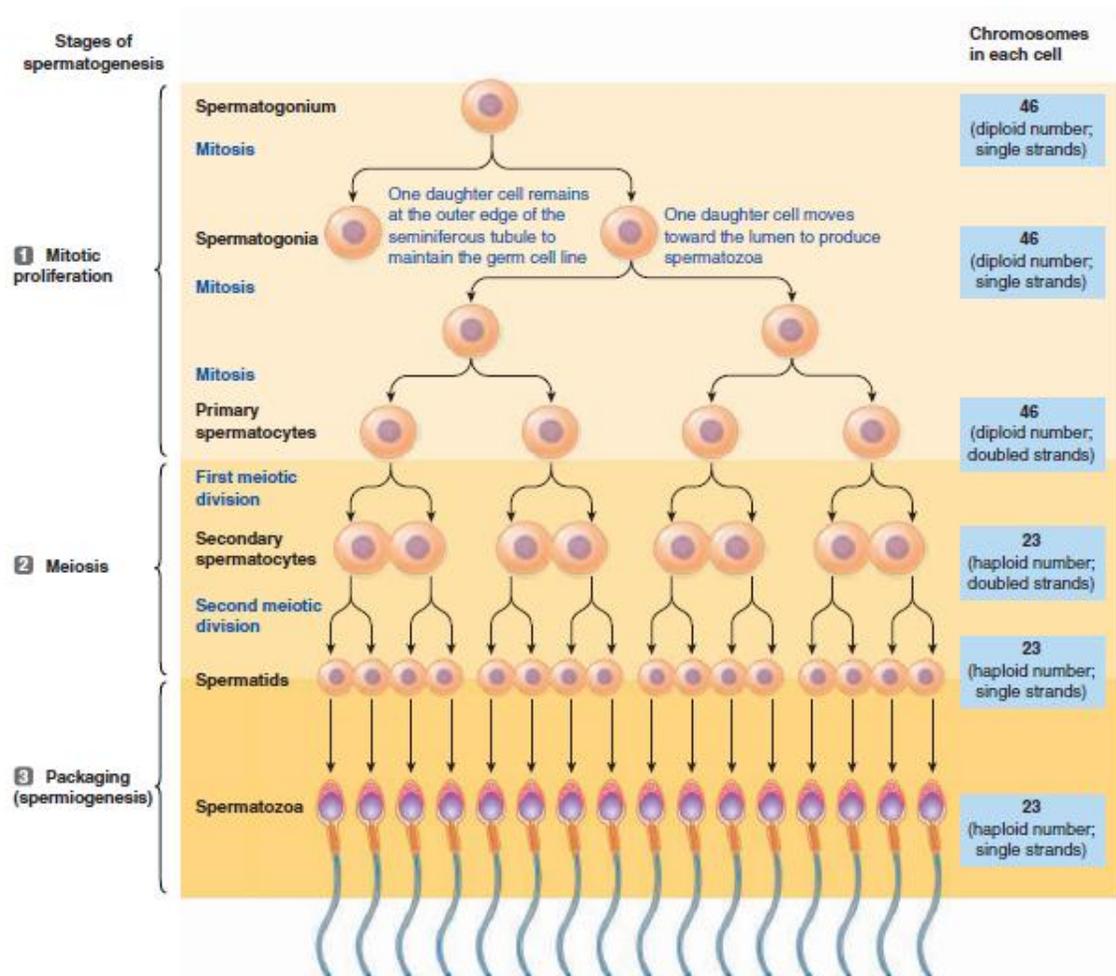
Spermatogenesis merupakan proses kompleks dimana sel germinal primordial yang relatif belum berdiferensiasi, spermatogonia (yang mempunyai komplemen diploid, 46 kromosom), berproliferasi dan berubah menjadi spermatozoa motil yang mempunyai kromosom haploid (23 kromosom). Spermatogenesis terjadi di tubulus seminiferus selama masa seksual aktif sebagai akibat stimulasi hormon gonadotropik pituitari anterior (LH dan FSH), dimulai rata-rata umur 13 tahun sampai sepanjang hidupnya namun berkurang dengan bertambahnya usia.¹³ Pada manusia, spermatogenesis membutuhkan waktu 64 hari untuk berkembang dari spermatogonia sampai menjadi sperma.¹⁴

Tahap pertama spermatogenesis adalah Bergeraknya spermatogonia dari sel sertoli menuju lumen sentral tubulus seminiferus. Spermatogonia yang berada di lapisan membran terluar dari tubulus bermitosis terus menerus dan menghasilkan sel anak yang memiliki 46 kromosom identik dengan sel induknya. Proliferasi sel ini menghasilkan pasokan sel germinativum baru terus menerus.¹⁵ Sel spermatogonia yang berada dilapisan terluar akan melewati barrier, mengalami perubahan perkembangan dan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer yang mempunyai kromosom diploid (2n).¹⁴

Secara singkat, setiap spermatosit primer akan mengalami replikasi DNA dan meiosis dimulai. Pada meiosis I, pasangan kromosom homolog pada fase metafase akan mengalami *crossing over*. Kemudian, benang spindle meiotik akan menarik satu (duplikat) kromosom dari setiap pasang menuju kutub berlawanan sel yang telah terpisah. Sel ini disebut spermatosit sekunder, yang memiliki kromosom haploid.¹⁴

Pada meiosis II, kromosom akan berjajar pada satu garis selama fase metafase, dan dua kromatid tiap kromosom berpisah. Empat haploid sel hasil dari meiosis II disebut spermatid (23 kromosom). Setelah meiosis, spermatid mengalami spermiogenesis.¹⁵¹³

Pada tahap spermiogenesis, terjadi perkembangan spermatid haploid menjadi sperma. Tidak terjadi pembelahan sel di spermiogenesis, tiap spermatid berkembang menjadi sperma tunggal. Selama proses ini, spermatid yang berbentuk bulat berubah menjadi panjang dan ramping.¹³ Pada tahap ini akan ada beberapa proses seperti pembentukan akrosom yang dibentuk oleh aparatus golgi. Selubung ini mengandung sejumlah enzim yang memainkan peranan penting, termasuk hialuronidase dan enzim proteolitik yang memungkinkan sperma memasuki ovum yang membuahinya. Pembentukan ekor yang disebut *flagellum* dapat bergerak sehingga memberi motilitas sperma untuk bergerak maju. Spermatid juga akan mengalami pepadatan dan pemanjangan inti, serta kehilangan sebagian besar sitoplasmanya.¹³



Gambar 1. Spermatogenesis (dikutip dari Human Physiology from Cells to System, Sherwood, 2014)

2.2 Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa memiliki tiga bagian : kepala yang ditudungi akrosom, bagian tengah, dan ekor. Kepala terutama terdiri dari nukleus, yang mengandung informasi genetik sperma. Akrosom, menutupi dua pertiga anterior dari nukleus, merupakan vesikel terisi enzim yang memungkinkan

sperma menembus oosit sekunder saat fertilisasi. Akrosom merupakan modifikasi lisosom, dibentuk oleh agregasi vesikel-vesikel yang diproduksi oleh kompleks golgi-retikulum endoplasma sebelum organel ini disingkirkan. Enzim akrosomal tetap inaktif sampai sperma kontak dengan ovum. Mobilitas spermatozoa dihasilkan oleh suatu ekor panjang mirip cambuk (*flagellum*) yang gerakannya dijalankan oleh energi ATP yang dihasilkan oleh mitokondria yang terkonsentrasi di bagian tengah sperma.¹³ *Flagellum* mempunyai tiga komponen utama, yaitu :

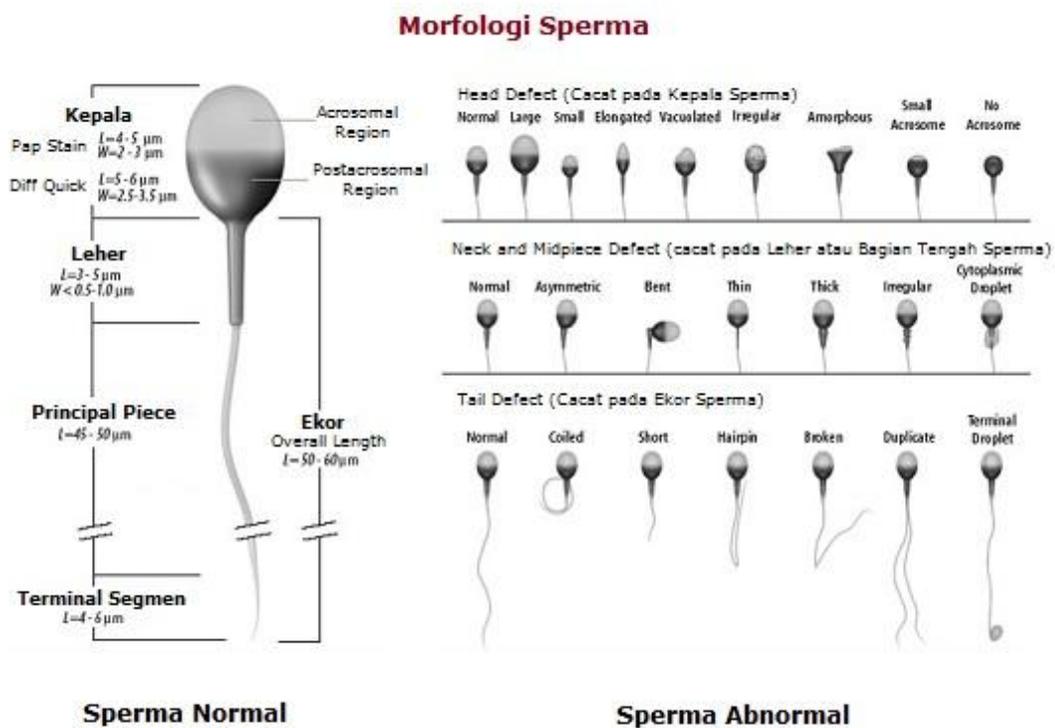
- a. Sebuah sentral *skeleton* yang terbentuk dari 11 mikrotubulus, yang disebut *axonema*
- b. Sebuah membran tipis yang menyelimuti *axonema*
- c. Mitokondria yang mengelilingi bagian proksimal dari *axonema*.¹³

Morfologi merupakan salah satu dari pemeriksaan spermatozoa dan termasuk pemeriksaan mikroskopis selain pemeriksaan jumlah dan motilitas spermatozoa. Penilaian morfologi sperma dilakukan dengan sediaan hapus sperma yang diwarnai dengan giemsa di baca dengan pembesaran 1000x.

Kriteria morfologi sperma disebut normal bila :

- a. Kepala berbentuk oval, akrosom menutupi sepertiga panjangnya, panjang 3-5 mikron, lebar setengah sampai dengan dua pertiga panjang kepala

- b. *Midpiece* berukuran langsing (kurang dari setengah lebar kepala), panjang 2 kali panjang kepala dan berada dalam satu garis panjang sumbu kepala
- c. Ekor mempunyai batas tegas, berupa garis panjang 9 kali panjang kepala



Gambar 2. Morfologi spermatozoa normal dan abnormal (dikutip dari WHO Guidelines 2010)

Menurut buku petunjuk praktikum biologi FK UNDIP, dengan pengecatan giemsa maka spermatozoa normal nampak berbentuk oval dengan bagian ujung lebih terang dan bagian pangkal dekat leher gelap.³²

Bentuk abnormal dari spermatozoa biasanya kurang dari 30% dan meliputi:

- a. Defek pada kepala: besar atau kecil, meruncing, pyriform, bulat, amorf, vakuolisasi (lebih besar dari vakuola atau >20% dari daerah kepala diduduki oleh vakuola), vakuola di wilayah pasca-akrosom, daerah akrosom kecil atau besar (<40% atau >70% dari daerah kepala), kepala ganda, atau kombinasi dari beberapa defek.
- b. Defek pada leher dan *midpiece* : penyisipan asimetris *midpiece* ke dalam kepala, tebal atau tidak teratur, tajam membungkuk, normal tipis, atau kombinasi dari beberapa defek.
- c. Defek ekor : pendek, *hairpin* halus, tajam bersudut, lebar tidak teratur, tergulung, atau kombinasi dari beberapa defek.
- d. Sitoplasma *droplet* : ini dikaitkan dengan spermatozoa abnormal dihasilkan dari proses spermatogenesis yang rusak. Spermatozoa ditandai dengan tumpukan sitoplasma yang bentuknya tidak teratur, besarnya sepertiga atau lebih dari ukuran kepala sperma, sering juga dikaitkan dengan defek *midpiece*.

2.3 Faktor yang mempengaruhi morfologi spermatozoa

Adapun faktor yang mempengaruhi morfologi sperma antara lain :

1. Suhu

Suhu memegang peranan penting pada spermatogenesis. Pada mamalia spermatazoa hanya dapat diproduksi bila suhu testis 29-30°C, sedikitnya 1,5-2.0C· dibawah suhu dalam tubuh, kenaikan suhu beberapa derajat akan menghambat proses spermatogenesis, sebaliknya suhu rendah akan meningkatkan spermatogenesis pada manusia. ¹⁶

2. Merokok

Asap rokok dapat memberikan dampak buruk terhadap fungsi reproduksi pria karena terdapat radikal bebas yang dapat merusak sel. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang tidak stabil akibat kehilangan elektron, dan dapat menyebabkan kerusakan DNA pada berbagai sel tubuh. ^{5,1718}

3. Usia

Umur mempengaruhi kesuburan dimana pada usia tertentu tingkat kesuburan seorang pria akan mulai menurun secara perlahan-lahan. Kesuburan pria ini diawali saat memasuki usia pubertas ditandai dengan perkembangan organ reproduksi pria, rata-rata umur 12 tahun. Perkembangan organ reproduksi pria mencapai keadaan stabil umur 20 tahun. Tingkat kesuburan akan bertambah sesuai dengan penambahan umur dan akan mencapai puncaknya pada umur 25 tahun. Setelah usia 25 tahun kesuburan

pria mulai menurun secara perlahan-lahan, dimana keadaan ini disebabkan karena perubahan bentuk dan faal organ reproduksi.

4. Alkohol

Dalam testis, alkohol dapat mempengaruhi sel-sel Leydig yang memproduksi dan mengeluarkan testosteron. Alkohol juga mengganggu fungsi sel Sertoli testis yang memainkan peranan penting dalam pematangan sperma. Dalam kelenjar hipofisis, alkohol dapat menurunkan produksi, rilis, dan/atau kegiatan LH dan FSH.¹⁶

5. Obat Gonadotoksik

Beberapa penelitian menunjukkan adanya sejumlah zat pestisida yang toksin terhadap gonad, antara lain imidakloprid, organofosfat, organoklorin, 7 karbamat, fumigan, dan beberapa herbisida serta fungisida. Obat-obatan tertentu seperti marijuana, heroin, kokain juga dapat menekan fungsi reproduksi pria.¹⁹

6. Nutrisi

Kandungan nutrisi kaya oksidan, misalnya makanan yang mengandung vitamin C, vitamin E, polifenol, flavonoid, dan jenis-jenis antioksidan lain dapat memperbaiki kualitas sperma karena mencegah kerusakan sel gonad akibat radikal bebas.⁹

7. Varicocele

Aliran darah vena abnormal dari skrotum meningkatkan produk sisa metabolisme dan mengurangi ketersediaan oksigen dan nutrisi yang diperlukan untuk perkembangan sperma.^{4,20}

2.4 Radikal Bebas dan Asap Rokok

2.4.1 Asap Rokok sebagai Radikal Bebas

Radikal bebas dan oksidan memainkan peran ganda sebagai senyawa beracun dan bermanfaat, karena bisa berbahaya atau bermanfaat bagi tubuh. Mereka diproduksi baik dari metabolisme sel normal maupun dari sumber luar (polusi, asap rokok, radiasi, obat-obatan). Bila kelebihan radikal bebas tidak dapat secara bertahap dihancurkan, akumulasi di tubuh menghasilkan fenomena yang disebut stres oksidatif.²¹ Radikal bebas terbentuk sebagai akibat dari pembentukan ATP oleh mitokondria. Produk sampingan ini biasanya berbentuk ROS dan RNS yang dihasilkan oleh proses redoks seluler. Pada konsentrasi tinggi, mereka mengakibatkan stres oksidatif, sebuah proses merusak yang dapat mengubah membran sel dan struktur lainnya seperti protein, lipid, lipoprotein, dan asam deoksiribonukleat (DNA).¹⁰

Radikal bebas, dalam pengertian kimia, adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Elektron tersebut cenderung untuk membentuk pasangan dengan menarik elektron lain sehingga terbentuk radikal baru. Hal ini berakibat radikal bebas memiliki dua sifat yaitu reaktifitas tinggi dan dapat mengubah suatu molekul menjadi elektron. Dengan demikian secara teoritis radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen.

Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya, dapat pula terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya.²²

Asap rokok merupakan hasil pembakaran tembakau dalam bentuk aerosol yang mengandung sekitar 10^{10} partikel / mL, terdiri dari polimer karbon yang mudah menyerap dengan logam berat teradsorpsi, *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH), N-nitrosamin dan bahan kimia lainnya. Radikal bebas dan oksidan dalam fasa gas ada dalam kondisi stabil dimana mereka terus terbentuk dan hancur dan konsentrasinya meningkat seiring usia asap.²² Fase partikulat (tar) terdiri dari partikel halus dan sangat halus (0,1-1,0 μm , diameter aerodinamis) yang menembus jauh ke dalam alveoli. Beberapa komponen larut air dari tar, ACT dapat menghasilkan anion superoksida ($\text{O}_2^{\cdot -}$) dan selanjutnya H_2O_2 dan radikal hidroksil reaktif (HO^{\cdot}), yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada lipida membran seluler, protein, enzim dan DNA.¹⁰

2.4.2 Morfologi Spermatozoa dan Kaitannya dengan Asap Rokok

Asap rokok telah terbukti menyebabkan berbagai bentuk disfungsi reproduksi, yang merupakan penyebab utama fertilitas pada laki-laki dan perempuan, seperti Bayi Berat Lahir Rendah, kematian prenatal dan neonatal, dan disfungsi ereksi.^{7,23,24}

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 sperma.^{7,22}

Radikal bebas menyebabkan kegagalan kapasitas sehingga reaksi akrosom tidak terjadi, kemudian terjadi rusaknya membran plasma sperma yang berguna untuk menembus selaput sel telur yang berakibat menurunnya morfologi spermatozoa normal. 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.³⁸

2.5 Buah Alpukat sebagai Antioksidan dan Dosisnya

2.5.1 Buah Alpukat sebagai Antioksidan

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel. Reaksi ini sering disebut sebagai oksidasi. Oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, lemak dan DNA sel dapat menyebabkan penuaan dan menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan

kanker. Pengaruh radikal bebas ini bisa dinetralisir oleh senyawa antioksidan.
10,24,25

Antioksidan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS. Baru-baru ini ada bukti yang menyebutkan bahwa antioksidan alami dapat mencegah konsekuensi dari serangan ROS. Antioksidan alami terkandung dalam tanaman obat, buah, dan sayuran.⁹

Buah alpukat (*Persea americana*) merupakan buah tropis yang penting dan merupakan sumber fitokimia lipofilik yang baik seperti asam lemak tunggal tak jenuh, karotenoid, vitamin E dan sterol.¹² Buah alpukat mengandung molekul bioaktif yang melindungi sel-sel tubuh manusia terhadap radikal bebas. Analisis fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, fenolat dan flavonoid pada buah alpukat.²⁶ Antioksidan utama yang terdapat buah alpukat adalah karotenoid teroksidasi. Selain itu, alpukat mengandung persone A dan B yang merupakan molekul bioaktif yang melindungi dari peradangan dan karsinogenesis.^{11,25,27}

Menurut penelitian, alpukat menunjukkan aktivitas antioksidan total yang tinggi karena adanya flavonoid dan tanin.²⁸ Konstituen senyawa fenolik seperti tanin dan flavonoid merupakan antioksidan yang sangat kuat terhadap radikal bebas.^{25,29}

2.5.2 Dosis

Berdasarkan penelitian terdahulu, dosis buah alpukat yang disarankan untuk manusia adalah 300 gram. Dosis ini dikonversikan untuk tikus wistar

dengan faktor konversi 0,018, sehingga didapatkan dosis untuk tikus wistar sebesar 5,4 gram/1 ml/hari. Untuk memperoleh dosis tersebut, maka dilakukan pengenceran dengan menggunakan aquades hingga mendapatkan larutan 100ml, sehingga alpukat yang dibutuhkan adalah 540 gram.³⁰

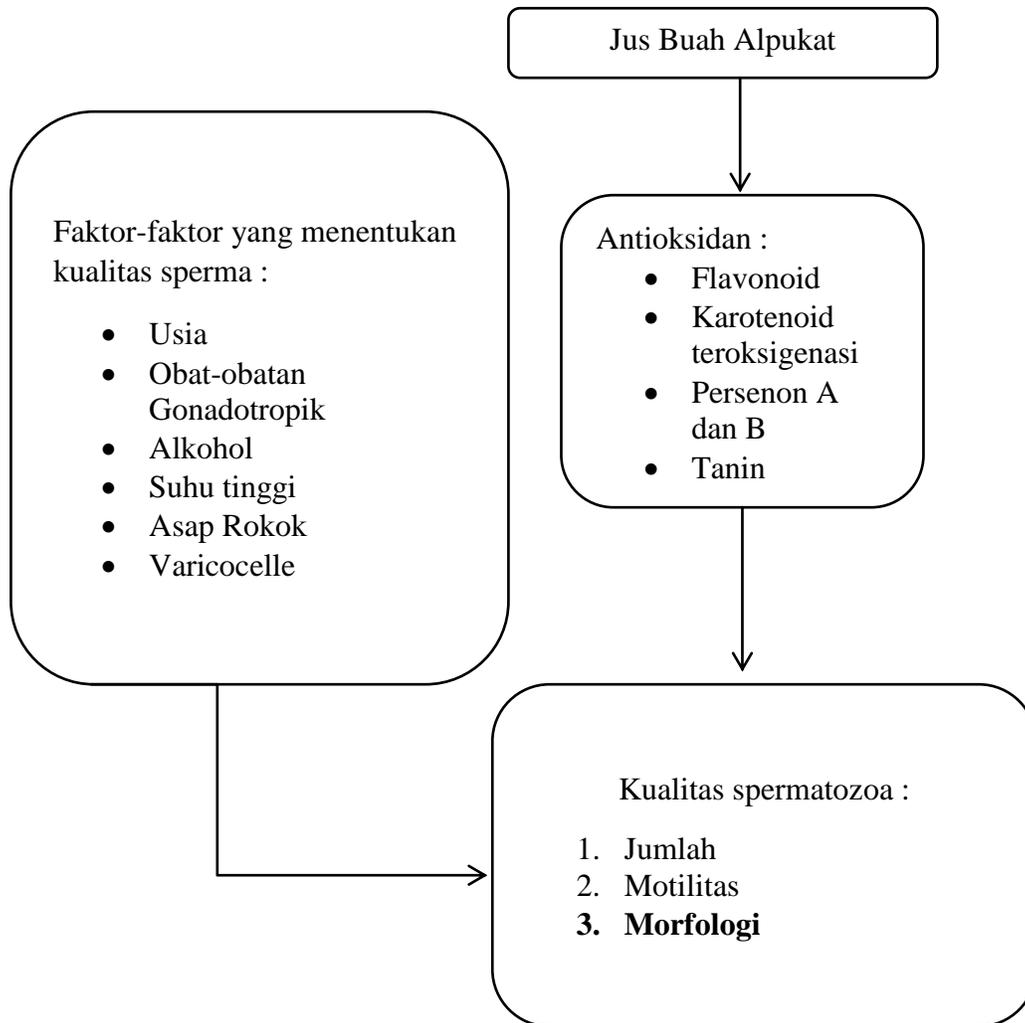
Dosis kedua dan ketiga merupakan kelipatan dari dosis pertama, yaitu 10,8 gram (2 ml) dan 16,2 gram (3 ml).³¹

Tabel 2. Konversi dosis manusia dan antar jenis hewan³¹

Ditanya	Mencit	Tikus	Marmut	Kelinci	Manusia
	20 g	200 g	400 g	1,5 kg	70 kg
Diketahui					
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	387,9
Tikus 20 g	0,14	1,0	1,74	3,9	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	14,20
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	1,0

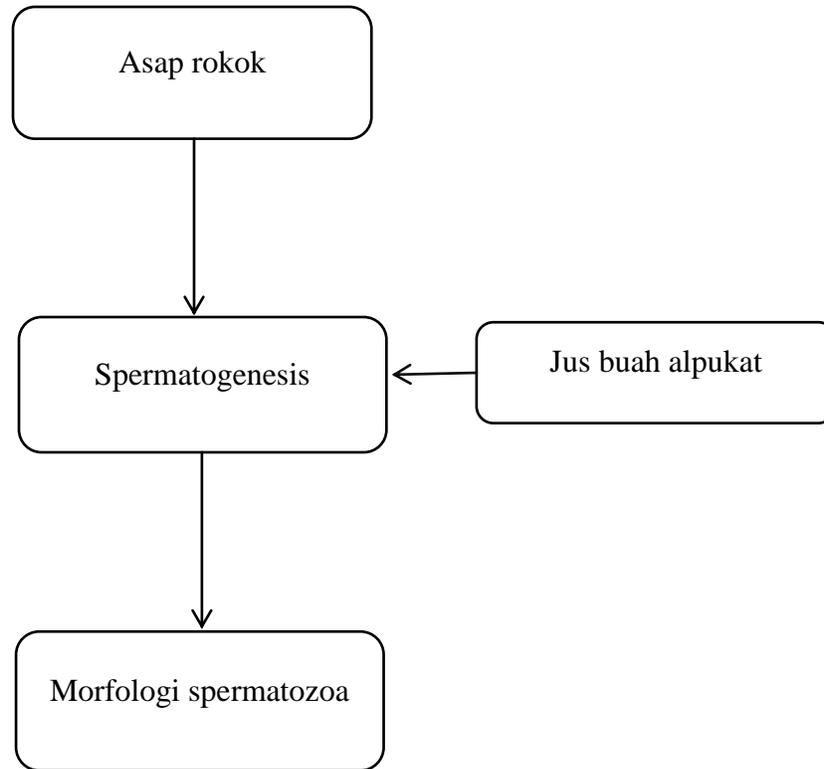
2.6 Kerangka Teori

Kerangka teoritis pada penelitian dapat digambarkan secara skematis sebagai berikut :



Gambar 3. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Persentase morfologi normal spermatozoa tikus wistar yang dipapar asap rokok dan diberi jus buah alpukat akan lebih tinggi daripada tikus wistar yang hanya dipapar asap rokok.