

Pengaruh Pemberian Suplemen Vitamin D Terhadap Jumlah dan Morfologi Sperma Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang dipapari Asap Rokok

Iskandar¹, Yuziani², Annisaul Ula³

¹ Staf pengajar bagian Obgyn, Fakultas Kedokteran, Universitas Malikussaleh

² Staf pengajar bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Malikussaleh

³ Mahasiswa Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Malikussaleh

*Corresponding Author : iskandar@unimal.ac.id

Abstrak

Infertilitas adalah masalah kesehatan global yang mempengaruhi jutaan orang usia reproduksi diseluruh dunia. Salah satu faktor penyebab infertilitas pada pria adalah rokok. Rokok mengandung zat-zat berbahaya yang dapat meningkatkan radikal bebas didalam tubuh yang akan menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa. Radikal bebas tersebut bisa dinetralkan dengan antioksidan. Vitamin D₃ diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan memiliki peran penting dalam reproduksi pria Karena enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme vitamin D terekspresi pada saluran reproduksi pria. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh pemberian suplemen vitamin D terhadap peningkatan jumlah sperma tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur wistar yang dipapari asap rokok. Penelitian ini menggunakan metode *posttest only control group design*. Perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok secara acak dengan jumlah 5 ekor tikus pada setiap kelompok. Kelompok K1 sebagai kontrol negatif hanya diberi pakan dan air. Kelompok K2 sebagai kontrol positif diberi paparan asap rokok 4 batang/hari. Kelompok P1, diberi vitamin D 0,2 µg/ekor. Kelompok P2, dipapari asap rokok 4 batang/hari dan vitamin D 0,2 µg/ekor. Data dianalisis dengan uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk melihat perbedaan bermakna antar kelompok. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa pemberian vitamin D berpengaruh signifikan pada jumlah sperma tikus putih ($p < 0,05$), Uji BNT didapatkan perbedaan bermakna antara K2 dengan K1, P2 dan P3. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian suplemen vitamin D berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sperma tikus yang dipapari asap rokok.

Kata kunci: Infertilitas; Radikal Bebas; Antioksidan; Reproduksi Pria; Metabolisme

The Effect of Vitamin D Supplementation on Sperm Count and Sperm Morphology of Male Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*) exposed to Cigarette Smoke

Abstract

Infertility is a global health problem that affects millions of people of reproductive age worldwide. One of the factors that cause infertility in men is smoking. Cigarettes contain harmful substances that can increase free radicals in the body which will cause a decrease in the number of spermatozoa. These free radicals can be neutralized with antioxidants. Vitamin D₃ is known to have antioxidant activity and has an important role in male reproduction because enzymes that play a role in vitamin D metabolism are expressed in the male reproductive tract. This study was conducted to determine the effect of vitamin D supplementation on increasing sperm count of white rats (*Rattus norvegicus*) wistar strain exposed to cigarette smoke. This study used the *posttest only control group design* method. The treatments were randomly divided into 4 groups with 5 rats in each group. Group K1 as a negative control was only given feed and water. Group K2 as a positive control was exposed to cigarette smoke 4 cigarettes/day. Group P1, given vitamin D 0.2 µg. Group P2, exposed to cigarette smoke 4 cigarettes/day and vitamin D 0.2 µg. There was significant difference in sperm count between groups that showed in *Oneway ANOVA* test and also significant differences between K2 with K1, P2 and P3 in *Post Hoc* test. The conclusion of this study is vitamin D supplements has an effect on increasing the sperm count of rats exposed to cigarette smoke.

Keyword: infertility; Free Radicals; Antioxidants; Male Reproduction; Metabolism

Pendahuluan

Infertilitas adalah suatu gangguan dari sistem reproduksi, kondisi ini ditandai dengan ketidakmampuan untuk hamil secara alami bagi pasangan suami istri usia subur setelah satu tahun teratur melakukan hubungan seksual tanpa perlindungan alat kontrasepsi. Infertilitas adalah masalah kesehatan global yang mempengaruhi jutaan orang usia reproduksi diseluruh dunia. Berdasarkan data *World Health Organization (WHO)*, sekitar 48 juta pasangan dan 186 juta individu mengalami infertilitas secara global (1). Prevalensi infertilitas di Indonesia saat ini adalah 10-15% dari 40 juta pasangan usia subur yang mengalami masalah dalam kesuburan (2). Kasus infertilitas yang berasal dari faktor pria sekitar 40%, dengan dua kelompok penyebab yaitu disfungsi ereksi (60%) dan kualitas ejakulat yang buruk (40%) (3). Hasil analisis semen pada kasus-kasus infertilitas menunjukkan bahwa penyebab infertil terbanyak adalah gangguan konsentrasi, gangguan morfologi dan motilitas spermatozoa (4).

Reactive Oxygen Species (ROS) menjadi salah satu mediator penting terjadinya infertilitas. Terbentuknya ROS dipicu oleh faktor lingkungan seperti polusi dan faktor gaya hidup seperti kebiasaan merokok (5). Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, menunjukkan jumlah perokok di Indonesia yang berusia di atas 15 tahun sebanyak 33,8%, terdiri dari 62,9% laki-laki dan 4,8% perempuan (6). Aceh merupakan salah satu provinsi dengan prevalensi perokok terbanyak di Indonesia. Menurut Riskesdas Provinsi Aceh (2013), proporsi perokok di Provinsi Aceh adalah 29,3%, terdiri dari perokok aktif sebanyak 25,0%, perokok kadang-kadang 4,3%, sedangkan mantan perokok 2,5% dan bukan perokok 68,2% (7). Asap rokok terbukti mempengaruhi kualitas spermatozoa, hal ini berdasarkan penelitian Jems dkk (2014) dimana dilakukan pemaparan asap rokok pada tikus dengan dosis 10 batang rokok/ekor/hari selama 20, 40, dan 60 hari. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemaparan asap rokok dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa, viabilitas spermatozoa, peningkatan presentase abnormalitas spermatozoa dan penurunan jumlah sel-sel spermatogenik tikus yang tidak kembali ke kondisi normal setelah proses penyembuhan (*recovery*) (8).

Penurunan jumlah sperma ini diakibatkan oleh kandungan zat kimia pada asap rokok seperti nikotin, tar, karbondioksida sehingga berpotensi untuk menimbulkan peningkatan produksi radikal bebas (9). Peningkatan radikal bebas ini akan merusak membran dari sel-sel spermatogenik, mengganggu transport ion-ion penting bagi proliferasi dan pertumbuhan sel-sel spermatogenik, merusak DNA spermatozoa dan meningkatkan terjadinya apoptosis spermatozoa (10). Kandungan zat kimia pada asap rokok juga dapat menyebabkan penurunan

jumlah spermatisit pakiten dan spermatid karena dalam asap rokok masih banyak zat-zat kimia yang menghambat spermatogenesis, sehingga mengakibatkan konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan menjadi sedikit atau terjadi penurunan (11).

Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen diantaranya adalah enzim katalase yang berikatan dengan Fe, *glutathione peroxidase* dan *glutathione S-transferase* yang berikatan dengan Se, *superoxide dismutase* yang berikatan dengan Cu, Zn dan Mn, akan tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk (12). Salah satu antioksidan eksogen adalah vitamin D.

Penelitian tentang vitamin D dalam dunia kedokteran banyak dikaitkan dengan kesehatan tulang namun dalam beberapa dekade terakhir, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa vitamin D₃ memiliki aktivitas antioksidan (13). Vitamin D tidak hanya berkontribusi untuk menjaga metabolisme kalsium normal, efek antioksidan vitamin D adalah di antara peran non-kalsemia terbaru yang disarankan dari senyawa ini (14). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa vitamin D₃ memiliki aktivitas antioksidan. Vitamin D₃ telah dibuktikan sebagai antioksidan membran yang menghambat peroksidasi lipid yang diinduksi zinc pada sistem saraf pusat. Vitamin D₃ mengurangi stres oksidatif dengan menaikkan pertahanan antioksidan sistem, termasuk kandungan glutathion, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase pada astrosit dan di hati (13). Penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al.* (2003), menunjukkan bahwa vitamin D₃ memiliki efek neuroprotektif terhadap apoptosis yang diinduksi oleh zinc pada substansia nigra (15). Penelitian Ibi *et al.* (2001) menyebutkan Vitamin D₃ tidak berperan langsung sebagai *scavenger* radikal bebas, melainkan menginduksi sintesis protein yang menyediakan efek neuroproteksi terhadap efek sitotoksik yang diinduksi oleh oksigen reaktif (16).

Vitamin D selain memiliki aktivitas antioksidan dalam sebuah penelitian dilaporkan bahwa enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme vitamin D terekspresi pada saluran reproduksi pria, sehingga menunjukkan bahwa vitamin D memiliki peran penting dalam reproduksi pria (17). Penelitian oleh Blomberg Jensen *et al.*, tahun 2010 “*Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract*” ditemukan bahwa Reseptor Vitamin D (VDR) mRNA terdeteksi pada testis, epididimis, vesikula seminalis dan prostat meskipun tingkat ekspresi yang bervariasi. Ekspresi tertinggi

ditemukan pada vesikula seminalis dan epididimis dengan ekspresi VDR yang hampir sama dengan ginjal (18). Penelitian lainnya menyebutkan bahwa vitamin D berpengaruh pada proses kapasitas spermatozoa dan peningkatan daya tahan hidup spermatozoa (19). Daya tahan hidup sperma, ini berhubungan dengan salah satu fungsi vitamin D yang berperan terhadap stabilisasi struktur kromosom dan mencegah kerusakan DNA pada sperma karena faktor eksogen maupun endogen (20). Penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat bagi masyarakat mengingat tingginya minat masyarakat terhadap dark chocolate yang diharapkan mampu menghambat efek radikal bebas yang ditimbulkan oleh asap rokok.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Grup Design* yang dilakukan pada bulan maret 2022 di Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan kriteria jenis kelamin jantan, memiliki berat 150-200 gram, berusia 10-12 minggu, aktif, dan tidak memiliki kelainan anatomis yang tampak. Total jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus yang terbagi menjadi 4 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 5 hewan penelitoan dan 1 hewan cadangan. Waktu penelitian adalah 3 minggu yang dibagi menjadi masa adaptasi 1 minggu dan masa perlakuan 2 minggu.

Tikus diberikan masa adaptasi selama 7 hari dimana seluruh tikus diberikan pakan dan minum standar. Kemudian tikus dibagi menjadi 4 kelompok: kelompok K1 sebagai kontrol negatif hanya diberi pakan dan air. Kelompok K2 sebagai kontrol positif diberi paparan asap rokok 4 batang/hari. Kelompok P1, diberi vitamin D 0,2 µg/ekor. Kelompok P2, dipapari asap rokok 4 batang/hari dan vitamin D 0,2 µg/ekor. Perlakuan selama 14 hari, pada hari ke 15 semua tikus diterminasi dan diperiksa jumlah spermatozoanya.

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Data selanjutnya diolah menggunakan metode *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

Alat dan Bahan

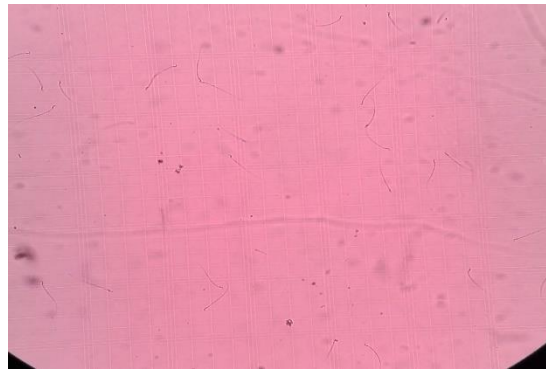
Alat yang digunakan adalah kandang pemeliharaan tikus yang terbuat dari plastik dengan tinggi 17,8 cm dan luas 148 cm² kandang pengasapan, mikroskop elektrik, mikropipet, sonde lambung, spuit 1 cc, tempat pakan dan minum tikus, *improved neubauer*,

kaca objek, *deckglass*, pipet leukosit, cawan petri, tabung beserta penutupnya, dan pisau dan gunting bedah.

Bahan yang digunakan adalah rokok kretek jenis gudang garam merah yang memiliki kandungan 39 mg tar dan 2,5 mg nikotin, minuman dan pakan standar tikus *brailer-II pellet* (BR2), NaCl 0,9 %, blackmores vitamin D3 1000 IU

Hasil Penelitian

Suspensi sperma yang telah dicampur NaCl dengan pengencaran sebesar 50 kali kemudian diamati dalam bilik hitung NI dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 kali. Gambar 1 menunjukkan gambaran spermatozoa tikus dibawah mikroskop cahaya.



Gambar 1 Spermatozoa tikus

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah spermatozoa tikus dibawah mikroskop cahaya dengan menggunakan bilik hitung NI, maka didapatkan jumlah dan rerata spermatozoa tikus sebagai berikut.

Tabel 1 Jumlah dan rerata jumlah sperma

Kelompok	Ulangan (juta/mm ³)					Rerata (juta/mL)
	1	2	3	4	5	
K1	96	112	86	108	135	107,4 ± 18,5
K2	48	25	19	52	94	47,6 ± 29,6
P1	97	125	102	111	142	115,4 ± 18,3
P2	89	123	56	82	118	93,6 ± 27,5

Sumber : Data Primer, 2022

Data yang diperoleh dari hasil penelitian selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program SPSS. Dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Dari kedua hasil uji tersebut menunjukkan hasil signifikan (*p*

$value > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal dan varians data homogen (tabel 2).

Tabel 2 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Perlakuan	Uji Normalitas	Uji Homogenitas
K1	0,861	
K2	0,456	
P1	0,668	0,696
P2	0,631	

Sumber : Data Primer, 2022

Selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan *oneway* ANOVA. Hasil analisis didapatkan $p = 0,02$ ($p < 0,05$), yang berarti dapat disimpulkan terdapat perbedaan rata-rata signifikan jumlah sperma tikus antar perlakuan atau dengan kata lain adanya pengaruh signifikan perlakuan terhadap jumlah sperma tikus, hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin D berpengaruh terhadap jumlah sperma yang dipapar asap rokok. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji BNT pada taraf uji 5% yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Analisa *Pos Hoc*

Kelompok	Rerata
K1	107,4 ± 18,5 ^a
K2	47,6 ± 29,6 ^b
P1	115,4 ± 18,3 ^{ac}
P2	93,6 ± 27,5 ^{ac}

Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata.

Sumber : Data Primer, 2022

Hasil uji lanjut BNT menunjukkan bahwa jumlah sperma Kelompok K1 berbeda nyata dengan kelompok K2 tetapi K1 tidak berbeda nyata dengan P1 dan P2. Jumlah sperma K2 berbeda nyata dgn P1 dan P2. Jumlah sperma P1 dgn P2 tidak berbeda nyata.

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin D terhadap jumlah spermatozoa tikus yang dipapari asap rokok. Besar sampel adalah 24 ekor yang

terbagi menjadi 4 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 5 hewan penelitian dan 1 hewan cadangan.

Pemaparan asap rokok 4 batang/hari selama 30 menit (kelompok K2) selama 14 hari menunjukkan rerata jumlah sperma tikus lebih rendah dibandingkan kelompok K1 (kontrol), kelompok P1 (diberi vitamin D 0,2 µg), dan kelompok P2 (asap rokok 4 batang/hari + vitamin D 0,2 µg). Hal ini dapat dihubungkan dengan asap rokok yang mengandung berbagai senyawa oksigen reaktif yang merupakan sumber utama radikal bebas yang berasal dari lingkungan. Penelitian Hosseinzadeh menunjukkan bahwa pada pria yang merokok, memiliki kadar ROS dalam semen yang lebih tinggi dari pria yang bukan perokok (21). Kadar ROS yang berlebihan akan memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan terganggunya keseimbangan antara produksi radikal bebas dengan pertahanan antioksidan di dalam tubuh. Stres oksidatif akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah oksidasi komponen lipid pada membran sel seperti fosfolipid, glikolipid, dan komponen lipid yang mengandung asam lemak tak jenuh. Membran sel spermatozoa mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap ROS (22).

Sperma merupakan sel yang dihasilkan oleh fungsi reproduksi pria. Sel tersebut mempunyai bentuk khas yaitu mempunyai kepala, leher dan ekor. Spermatozoa merupakan sel hasil maturasi dari sel epitel germinal yang disebut spermatogonia. Spermatogonia terletak dalam dua sampai tiga lapisan sepanjang batas luar epitel tubulus. Proses perkembangan spermatogonia menjadi sperma disebut spermatogenesis (23). Jika proses spermatogenesis terganggu, maka hasil dari spermatogenesis juga akan terganggu. Salah satu penyebab kerusakan sel ataupun jaringan adalah akibat pembentukan radikal bebas.

Asap rokok mengandung berbagai zat toksik yang kompleks, beberapa dari zat tersebut adalah radikal bebas. Asap rokok dapat diuraikan menjadi gas dan partikulat. Beberapa unsur pokok pada asap rokok dalam bentuk gas adalah CO, CO₂, NO, NO₂, dan HCN. Beberapa unsur asap rokok dalam bentuk partikulat adalah tar, nikotin, metal, fenol/semikuinon/kuinon. Kandungan CO dalam asap rokok dapat menyebabkan berkurangnya kemampuan darah dalam membawa oksigen yang dapat mengakibatkan kematian sel karena minimnya suplai oksigen (24). Nikotin adalah agen oksida yang potensial dan dapat mempengaruhi integritas membran plasma dan DNA sperma. Nikotin dalam asap rokok dapat menstimulasi medulla adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat, sehingga mekanisme umpan balik antara hipotalamus, hipofisis anterior, dan testis terganggu. Akibatnya, proses sintesis hormon testosteron dan spermatogenesis akan terganggu (25).

Penelitian ini didukung oleh penelitian Hayati yang menyatakan bahwa senyawa radikal yang menyebabkan stres oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi pada lipid membran spermatozoa sehingga terjadi kerusakan membran dan penurunan integritas membran spermatozoa yang pada akhirnya berdampak terhadap penurunan konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa (26).

Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa paparan asap rokok 1 batang rokok kretek selama 30 hari sudah dapat memberikan efek penurunan terhadap kualitas spermatozoa yang dinilai dari konsentrasi, morfologi, dan motilitas spermatozoa (27).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vitamin D dengan dosis 0,2 µg setiap harinya pada kelompok perlakuan P1 tidak memberikan perbedaan jumlah spermatozoa yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok K1 (kontrol) yang hanya diberi pakan dan minum standar. Perlakuan ini dilakukan untuk mengetahui manfaat pemberian vitamin D terhadap spermatozoa tikus tanpa pemaparan asap rokok. Kelompok P1 yang telah diberi vitamin D tidak mengalami peningkatan atau penurunan jumlah sperma dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin D tidak memiliki peran penting dalam reproduksi pria seperti meningkatkan jumlah sperma, hasil ini tidak sejalan dengan penelitian yg dilakukan oleh Syauqi yang menyatakan bahwa enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme vitamin D terekspresi pada saluran reproduksi pria, sehingga menunjukkan bahwa vitamin D memiliki peran penting dalam reproduksi pria (17). Penelitian ini juga tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Getea dkk yang berjudul "*Role of vitamin d3 in male fertility and increase quality of seminal fluid*", dalam penelitiannya didapatkan kesimpulan bahwa terdapat hubungan antara vitamin D dan kualitas cairan sperma, vitamin D memainkan peran penting dalam kesuburan dimana vitamin D dan VDR mempunyai peran yang efisien dalam meningkatkan jumlah sperma (28).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vitamin D dengan dosis 0,2 µg setiap harinya pada kelompok perlakuan P2 yang dipapar asap rokok memberikan peningkatan jumlah spermatozoa yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok K2 yang hanya diberikan paparan asap rokok tanpa vitamin D.

Peningkatan radikal bebas karena asap rokok akan merusak membran dari sel-sel spermatogenik, mengganggu transport ion-ion penting bagi proliferasi dan pertumbuhan sel-sel spermatogenik, merusak DNA spermatozoa dan meningkatkan terjadinya apoptosis spermatozoa sehingga mengakibatkan konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan menjadi sedikit atau terjadi penurunan (10). Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas

dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen, akan tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk (12). Dalam beberapa dekade terakhir, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa vitamin D₃ memiliki aktivitas antioksidan. Kemampuan vitamin D₃ sebagai antioksidan yang merangsang proliferasi sel dan untuk menghambat apoptosis adalah dengan cara meningkatkan nitrat oksida endotel sintase (eNOS) dan produksi nitrit oksida (NO), peningkatan produksi nitrit oksida oleh Vitamin D akan berhubungan dengan penurunan penanda stress oksidatif. *Hypoxia-inducible factor-1α* (HIF-1α) menjadi stabil ketika NO berada dalam konsentrasi yang tinggi (sekitar 100 Nm) dan menjaga dari kerusakan jaringan, sehingga vitamin D₃ dapat melawan efek negatif dari oksidan pada sel endotelial, meningkatkan kelangsungan hidup dari sel dengan menstimulasi produksi NO yang mencegah sel dari kematian dimana stress oksidatif yang lebih lanjut akan memicu apoptosis sel (29). Selain itu, vitamin D₃ telah dilaporkan mengurangi stres oksidatif dengan menaikkan pertahanan antioksidan sistem, termasuk kandungan glutathion, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase pada astrosit dan di hati (13).

Hal ini menunjukkan bahwa vitamin D dapat menurunkan stress oksidatif sehingga mampu meningkatkan jumlah sperma tikus yang dipapari asap rokok. Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nafisah dkk yang menyatakan bahwa adanya pengaruh penurunan stress oksidatif oleh vitamin D ditandai pada MDA sebagai penanda stress oksidatif, yang dapat diartikan bahwa semakin tinggi nilai 25 (OH) D maka semakin menurunkan stress oksidatif dalam tubuh (30). Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya yang didapatkan bahwa vitamin D berpengaruh pada proses kapitasi spermatozoa dan peningkatan daya tahan hidup spermatozoa. Daya tahan hidup sperma, ini berhubungan dengan salah satu fungsi vitamin D yang berperan terhadap stabilisasi struktur kromosom dan mencegah kerusakan DNA pada sperma karena faktor endogen maupun eksogen seperti paparan asap rokok (19).

Kesimpulan dan saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pemberian suplemen vitamin D terhadap jumlah sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang dipapari asap rokok, kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut :

1. Paparan asap rokok 4 batang/hari selama 30 menit dapat menurunkan jumlah sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan,
2. Pemberian suplemen vitamin D dosis 0,2 µg tidak mampu memberikan efektivitas terhadap peningkatan jumlah sperma pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan,
3. Pemberian suplemen vitamin D dosis 0,2 µg dapat meningkatkan jumlah sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang dipaparkan asap rokok 4 batang/hari selama 30 menit.

Saran

Diperlukan penelitian lanjutan yang antara lain bertujuan untuk :

1. Mengevaluasi kualitas sperma dengan parameter yang lebih beragam, antara lain morfologi sperma, motilitas sperma, dan viabilitas sperma.
2. Mengetahui dosis optimal vitamin D yang memiliki efek protektif terhadap penurunan jumlah sperma
3. Mengevaluasi jumlah sperma secara in vivo, sehingga dapat dilakukan penilaian jumlah sperma sebelum dan setelah dilakukan pemaparan serta setelah pemberian vitamin D sehingga tingkat kepercayaan dalam penelitian meningkat.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Universitas Malikussaleh atas pembiayaan penelitian ini dengan Dana Penelitian Pnedapatan Negara Bukan Pajak (PNBP) dalam Daftar Isian Pelaksanaan Negara (DIPA) Universitas Malikussaleh tahun anggaran 2022.

Referensi

1. World Health Organization. WHO Masalah Infertilitas. 2011; Available from: <http://www.who.int>.
2. Nuraini. Fertilitas Penduduk Indonesia. Utami DRW, Nur S, Ritonga DH, editors. Jakarta: Badan Pusat Statistik; 2010. 34 p.
3. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. 2015;13(1):1–9.
4. Mahdi BM. Semen Analysis and Insight into Male Infertility. Open Access Maced J Med Sci. 2021;9(2):252–6.
5. Adewoyin M, Ibrahim M, Roszaman R, Isa MLM, Alewi NAM, Rafa AAA, et al. Male Infertility: The Effect of Natural Antioxidants and Phytochemicals on Seminal Oxidative Stress. Dis (Basel, Switzerland). 2017 Mar;5(1).

6. Kemenkes RI. Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. Kementerian Kesehat RI. 2019;53(9):1689–99.
7. Ridwan E, Sihombing M, Sapardin A. Riskesdas Provinsi Aceh tahun 2013 [Internet]. pertama. Herman S, Puspasari N, editors. Vol. 7. Jakarta: Lembaga Penerbitan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI; 2013. 803–809 p. Available from: <https://www.pusat2.litbang.kemkes.go.id/wp-content/uploads/2018/03/Pokok-Pokok-Hasil-Riskesdas-Prov-Aceh-.pdf>
8. Jems A, Unitly A, Kusumorini N, Agungpriyono S, Satyaningtjas AS. Perubahan Kualitas Spermatozoa Dan Jumlah Sel-Sel Spermatogenik Tikus Yang Terpapar Asap Rokok. *J Kedokt Hewan*. 2015;8(2):8–11.
9. Gadea J, Molla M, Selles E, Marco MA, Garcia-Vazquez FA, Gardon JC. Reduced glutathione content in human sperm is decreased after cryopreservation: Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Cryobiology* [Internet]. 2011;62(1):40–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2010.12.001>
10. Sari P. Effect of Cigarette Smoke in Quality and Quantity Spermatozoa. *J Major* [Internet]. 2014;3(7):102–6. Available from: joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/485
11. Fitriani, Eriana K, Sari W. The effect of cigarettes smoke exposed causes fertility of male mice (*Mus musculus*). *natural*. 2009;10(1):1–6.
12. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med* [Internet]. 2018;54(4):287–93. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090506817301550> [07-07-2021]
13. Lin AMY, Chen KB, Chao PL. Antioxidative effect of vitamin D3 on zinc-induced oxidative stress in CNS. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1053:319–29.
14. Mokhtari Z, Hekmatdoost A, Nourian M. Antioxidant efficacy of vitamin D. *J parathyroidis* [Internet]. 2017;5(1):11–6. Available from: http://jparathyroid.com/Article/JPD_20160924145139
15. Lin AMY, Fan SF, Yang DM, Hsu LL, Yang CHJ. Zinc-induced apoptosis in substantia nigra of rat brain: neuroprotection by vitamin D3. *Free Radic Biol Med*. 2003 Jun;34(11):1416–25.
16. Ibi M, Sawada H, Nakanishi M, Kume T, Katsuki H, Kaneko S, et al. Protective effects of 1 alpha,25-(OH)(2)D(3) against the neurotoxicity of glutamate and reactive oxygen species in mesencephalic culture. *Neuropharmacology*. 2001 May;40(6):761–71.
17. syauqy ahmad. ekspresi enzim metabolisme vitamin d pada sistem reproduksi pria. 2015;3:1–12.
18. Blomberg Jensen M, Nielsen JE, Jørgensen A, Rajpert-De Meyts E, Kristensen DM, Jørgensen N, et al. Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. *Hum Reprod*. 2010;25(5):1303–11.
19. Aquila S, Guido C, Perrotta I, Tripepi S, Nastro A, Andò S. Human sperm anatomy: ultrastructural localization of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D 3 receptor and its possible role

- in the human male gamete. 2008;25:555–64.
20. Chatterjee M. Vitamin D and genomic stability. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen*. 2001;475(1–2):69–87.
 21. Hosseinzadeh C, Jorsarae GA ME. Cigarette smoking and the risk of infertility. Pa; 2007.
 22. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 2003;79(4):829–43.
 23. Sherwood L. *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem*. 9th ed. Jakarta: EGC; 2018. 910 p.
 24. U.S. Department of Health and Human Services. *How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease. How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General*. 2010. 792 p.
 25. Yuhendri Putra. Pengaruh Rokok Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*, Strain Jepang). *J Sainstek*. 2014;6(1):30–42.
 26. Hayati A, Mangkoewidjojo A, Hinting S, S. M. Hubungan kadar MDA spermatozoa dengan integritas membran spermatozoa tikus (*Rattus norvegicus*) setelah pemaparan 2-methoxyethanol. *J Biol*. 2006;11.
 27. Batubara IVD, Wantouw B, Tendean L. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *J e-Biomedik*. 2013;1(1):330–7.
 28. Getea FK, Alquraishi FS, Mohammed SH. Role of vitamin d3 in male fertility and increase quality of seminal fluid. *Int J Pharm Res*. 2020;12(3):992–5.
 29. Uberti F, Morsanuto V, Molinari C. Vitamin D in Oxidative Stress and Diseases. 2017;11:13.
 30. Zahra N, Johan A, Ngestiningsih D. Hubungan Antara Kadar Vitamin D Dengan Kadar Malondialdehid (Mda) Plasma Pada Lansia. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2019;8(1):333–42.