

Efek Rokok Berfilter dan Tidak Berfilter terhadap Reproduksi Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus* L.)

Filtered and Unfiltered Cigarette Effect on White Rats Male Reproduction (*Rattus norvegicus* L.)

Agung Budiantoro^{*}, Nurul Amalia Farhanah

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan

*E-mail: agung.budiantoro@bio.uad.ac.id

ABSTRACT

Cigarette smoke can cause various health problems, one of which is a decrease in fertility in males. The purpose of this study was to determine the effect of smoke exposure between with and without filter hand-rolled kretek cigarettes (SKT) and white cigarettes on white rats male reproduction: sperm quality in the form of sperm motility and viability, also the structure of seminiferous tubules. This study used 5 treatment groups (KP), namely controls not given exposure to cigarette smoke (KP0), exposure to unfiltered kretek cigarette smoke (KP1), exposure to filtered kretek cigarettes (KP2), exposure to unfiltered white cigarette smoke (KP3) and exposure to secondhand smoke. filtered white cigarettes (KP4) with treatment placement arrangement in a Completely Randomized Design (CRD) and if there is a significant difference, a Duncan Multiple Range Test (DMRT) is carried out. The results obtained on sperm quality, namely sperm motility and viability, decreased. Good quality at KP0 then the quality decreases successively starting from KP1, KP2, KP3 and KP4. The results on histopathological observations of the seminiferous tubules, there were no pathological changes found in all treatments. In contrast to the histopathology of seminiferous tubules, the number of spermatogenic cells showed a significant difference between treatments with the least average spermatogenic count and a decrease in the number of cells from spermatogonia cells to spermatid cells, namely in the treatment group exposure to filtered white cigarette smoke (KP4). Overall, the exposure that caused the most severe impact on all measured parameters was in the treatment group of filtered white cigarette smoke (KP4).

Keywords: Cigarette smoke, spermatozoa, tubulus seminiferus.

PENDAHULUAN

Rokok merupakan salah satu olahan dari tanaman genus *Nicotiana* yang menjadi salah satu penyebab menurunnya kondisi tubuh bagi yang mengonsumsinya. Rokok dianggap salah satu hal yang menimbulkan efek kecanduan bagi pemakainya karena mengandung zat-zat kimia tertentu, terutama nicotin. Senyawa nicotin terdapat pada tanaman genus *Nicotiana*. Salah satu spesies dari genus *Nicotiana* yang sering digunakan pada olahan rokok yaitu *Nicotiana tabacum*.

Pengolahan rokok, terutama rokok kretek asli di Indonesia dengan ciri khas mengandung campuran antara tembakau dan cengkih serta dapat juga ditambahkan flavor (Florentika and Kurniawan, 2022). Jenis rokok, selain rokok kretek maka ada jenis rokok putih. Perbedaan mendasar dari kedua jenis rokok ini yaitu pada bahan baku yang digunakan. Rokok putih hanya berbahan dasar tembakau saja sedangkan rokok kretek berbahan dasar tembakau dan cengkeh. Berdasarkan pembuatannya, rokok dibuat menggunakan mesin dan tangan. Pembuatan

rokok dengan tangan disebut Sigaret Kretek Tangan (SKT), sedangkan rokok yang dibuat menggunakan mesin disebut Sigaret Kretek Mesin (SKM). Penggunaan filter dalam rokok dipasarkan dalam bentuk Rokok Non Filter (RNF) dan Rokok Filter (RF) (Aji *et al.*, 2015). (Marieta & Lestari, 2021) kandungan senyawa sebatang rokok diantaranya adalah tar, nikotin, toluidine, ammonia, urethane, acetone, naphthylamine, methanol, pyrene, dimethylnitrosamine, naptalene, cadmium, carbon monoxide, benzopyrene, vinyl chloride, hydrogen cyanide, oluene, arsenic, dibenzacridine, phenol, butane, polonium-210.

Asap rokok mengeluarkan berbagai gas yang mengandung racun karsinogenik, rokok dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti katarak, alopecia areata, gangguan pendengaran, karies, osteoporosis, penyakit kardiovaskular, kemandulan dan impotensi, penyakit paru obstruktif kronis, kanker payudara, kanker kulit, dan kanker paru (Marieta & Lestari, 2021). Beberapa penelitian mengenai dampak buruk dari asap rokok

terhadap sistem reproduksi, salah satunya yang dilakukan oleh Osadchuk *et al.* (2023), menunjukkan bahwa berkurangnya tingkat kualitas parameter air mani, terutama kadar seng mani, serta terjadi peningkatan fragmentasi DNA sperma dan teratozoospermia.

Kualitas spermatozoa yang dihasilkan berpengaruh terhadap fertilitas suatu individu. Pembentukan spermatozoa yang dimulai dari sel spermatogonium disebut dengan spermatogenesis. Proses spermatogenesis yang terjadi di tubulus seminiferus menjadi hal yang perlu diperhatikan karena akan berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi struktur histologi testis serta kualitas sperma. Berbagai dampak yang dihasilkan rokok terhadap struktur histologi tubulus seminiferus maupun kualitas sperma sudah banyak diketahui oleh masyarakat.

Namun, dampak dari kedua jenis rokok dan pengaruh filter yang menimbulkan dampak paling buruk terhadap kerusakan reproduksi individu jantan, khususnya terhadap histopatologis tubulus seminiferus dan kualitas sperma belum diketahui (Singh and Kathiresan, 2015). Filter berperan dalam penyaringan senyawa-senyawa berbahaya pada rokok seperti tar dan nikotin. Dampak rokok berfilter juga masih berbahaya terhadap penurunan jumlah spermatozoa di tikus putih (Putra, 2014).

Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh paparan asap antara rokok Sigaret Kretek Tangan (SKT) dengan dan tanpa filter dan rokok putih berfilter dan tanpa filter terhadap reproduksi tikus jantan putih (*Rattus norvegicus* L.) dengan parameter kualitas Spermatozoa dan Struktur Tubulus Seminiferus Tikus Putih.

METODE

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah satu buah alat pelinting rokok, gagang pelinting rokok, lima buah kandang tikus putih berukuran 50 x 40 x 40 cm³, dua buah *smoking chamber* ukuran 50 x 40 x 40 cm³ dengan ventilasi sebesar 5 x 15 cm², spidol permanen, botol minuman tikus, neraca Ohaus, dua buah neraca analitik, dua buah *syringe* 50 ml, empat buah selang plastik 40 cm, pipet tetes, pipet ukur 1 ml, propipet, gelas arloji, bunsen, pinset, kotak parafin, perangkat alat bedah, kuas, mikroskop, rotary mikrotom, mikropipet 10 µL, Hemositometer *Double Improved Neubaur*, gelas obyek, *cover glass*, *hand counter*, *hot plate*, botol flakon, *embedding cassette*, *paraffin embedding*, cawan petri, kamera optiLab, kamera, komputer,

gunting, baskom, *staining jar vertical*, alat tulis kantor, 25 ekor tikus putih *strain* Wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang berumur dua bulan dengan berat 130-160 gram yang berasal dari peternakan tikus di Condong Catur Yogyakarta yang telah bersertifikat, pakan tikus putih berupa pelet, air keran, asam pikrat, rokok putih merk SA, rokok kretek, kain kasa, rajangan tembakau, rajangan cengkeh, kertas sigaret, lem kertas, kapas, aquades, NaCl 0,90%, paraffin murni, bouin, alkohol, xylol, toluol, entelan, mayers albumin, pewarna hematoxylin, pewarna eosin 2 %, korek api, label, tisu.

Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Ahmad Dahlan No.011801012. Parameter penelitian dibatasi pada kualitas spermatozoa; Motilitas sperma, viabilitas sperma serta jumlah sel-sel spermatogenic dan juga struktur histologi tubulus seminiferus. Penelitian ini dilakukan pada hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) *strain* wistar yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan tersebut; kontrol (KPO) yaitu tanpa pemaparan asap rokok, kelompok perlakuan pemaparan asap rokok kretek tanpa filter (KP1), kelompok perlakuan pemaparan asap rokok kretek berfilter (KP2), kelompok perlakuan pemaparan asap rokok putih tanpa filter (KP3), kelompok perlakuan pemaparan asap rokok putih berfilter (KP4). Masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus putih.

Langkah kerja yang dilakukan antara lain pembuatan rokok kretek, aklimatisasi tikus putih, rancangan pembuatan *smoking chamber*, penentuan dosis rokok putih dan rokok kretek, perlakuan pemaparan asap rokok, proses pembedahan, pembuatan suspensi sperma, pengamatan motilitas sperma, pengamatan viabilitas sperma, pembuatan preparat sayatan melintang testis tikus putih, analisis histopatologis tubulus seminiferus serta perhitungan jumlah sel-sel spermatogenic. Perlakuan pemaparan asap rokok dilakukan selama 32 hari dengan pemaparan asap rokok selama 30 menit setiap harinya. Parameter pengamatan kualitas sperma yaitu pada motilitas sperma dan viabilitas sperma.

Parameter motilitas sperma, viabilitas sperma dan jumlah sel-sel spermatogenic dianalisis dengan uji Anova Apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$ 0,05% maka dilanjutkan uji *Post Hoc comparison* dengan menggunakan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Gambaran histopatologis tubulus seminiferus dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Baik tidaknya tingkat reproduksi tikus putih yang dipapar rokok berfilter maupun tidak dapat dilihat salah satunya dengan parameter kualitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa dianalisis dengan mengukur; motilitas sperma dan viabilitas sperma.

Tabel 1. Hasil uji DMRT motilitas sperma berbagai kriteria pada setiap perlakuan

Perlakuan	Motilitas Sperma(%)			
	Kriteria I	Kriteria II	Kriteria III	Kriteria IV
KP0	22,71 ± 6,016 ^c	18,92 ± 3,658 ^{bc}	22,87 ± 3,209 ^a	35,51 ± 5,532 ^a
KP1	25,73 ± 4,496 ^c	26,87 ± 3,685 ^{ab}	22,31 ± 1,643 ^{ab}	25,11 ± 8,456 ^b
KP2	43,94 ± 14,691 ^b	20,72 ± 5,778 ^{bc}	18,63 ± 2,073 ^{ab}	13,70 ± 4,650 ^c
KP3	45,63 ± 5,155 ^b	32,30 ± 9,542 ^a	14,96 ± 2,222 ^b	7,12 ± 2,995 ^c
KP4	73,12 ± 16,327 ^a	15,73 ± 5,823 ^c	5,20 ± 2,624 ^c	5,95 ± 7,810 ^c

Keterangan: Uji Anova dilanjutkan dengan Uji DMRT (p<0.05). Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan

Tabel 2. Rerata viabilitas sperma pada setiap perlakuan

Perlakuan	Viabilitas Sperma±SE
Kontrol	86.938 ± 3.135 ^a
KP1	17.138 ± 5.531 ^b
KP2	16.150 ± 6.175 ^b
KP3	16.322 ± 3.096 ^b
KP4	14.814 ± 4.104 ^b

Keterangan: Uji Anova dilanjutkan dengan Uji DMRT (p<0.05). Huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan

Motilitas sperma

Penentuan motilitas sperma dibedakan menjadi beberapa kriteria yaitu Kriteria I: Immotil (tidak bergerak), Kriteria II: motilitas rendah, sperma tidak bisa berpindah dari tempatnya dan hanya bisa menggerakkan ekornya (*vibrating-like movement*), Kriteria III: Pergerakan sperma tidak linier (*non-linier motility*), sperma bergerak lambat dan hanya bergerak memutar atau tidak lurus, dan Kriteria IV: Motilitas sperma progresif, sperma berenang sangat kuat dan cepat serta pergerakannya lurus. Motilitas tersebut berdasar kemampuan menuju ke ovum (Moradpour, 2019). Berdasarkan hasil yang didapatkan, uji ANOVA pada motilitas sperma pada semua kriteria menunjukkan *p value* < 0,05 sehingga dilakukan uji lanjut untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Hasil uji *Post-hoc Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada setiap kriteria motilitas sperma disajikan dalam Tabel 1.

Hasil uji DMRT pada motilitas sperma kriteria I yaitu pergerakan sperma immotil atau tidak bergerak menunjukkan terdapat beda nyata antara kelompok perlakuan KP4 (rokok putih berfilter) dengan kelompok kontrol (KP0) dan kelompok perlakuan (KP2, KP3, KP4). Antara kelompok kontrol dan KP1 tidak terdapat beda nyata. Kelompok perlakuan rokok putih berfilter (KP4) terlihat memiliki rerata kriteria I (immotil) terbesar yaitu mencapai 73,12%, sedangkan rerata terkecil immotil yaitu pada kelompok kontrol sebesar 22,71%. Tingginya kriteria I (immotil) pada kelompok

perlakuan KP4 (rokok putih berfilter) menunjukkan bahwa rokok ini pengaruh paling buruk berbeda nyata dibandingkan semua perlakuan. Motilitas sperma dipengaruhi oleh morfologi sperma. Dalam proses spermatogenesis jika terganggu senyawa kimia beracun dari asap rokok maka sperma yang terbentuk akan mengalami kecacatan sehingga motilitas semakin jelek. Efek senyawa kimia dari rokok menyebabkan gangguan pada spermatogenesis. Terjadi peningkatan produksi radikal bebas dapat menurunkan antioksidan pada semen. Lebih lanjut dapat menimbulkan kerusakan DNA melalui fragmentasi DNA seluler dan abnormalitas morfologi (kepala, leher dan ekor) spermatozoa. Abnormalitas ini menyebabkan motilitas sperma terganggu (Aina, 2005).

Rerata motilitas paling tinggi ditunjukkan oleh kelompok kontrol. Rerata pada motilitas sperma kriteria IV (motilitas baik) pada kontrol menunjukkan hasil yang berbanding terbalik dengan motilitas sperma pada perlakuan lainnya. Rerata kontrol menunjukkan presentase sperma dengan motilitas progresif, sperma berenang sangat kuat dan cepat serta pergerakannya lurus sebesar 35,51% sedangkan pada KP4 sangat kecil, sebesar 5,95%. Motilitas spermatozoa sangat penting karena berkaitan erat dengan kemampuan spermatozoa di dalam proses pembuahan. Semakin baik motilitas spermatozoa maka semakin besar kemungkinan pembuahan bisa terjadi dan sebaliknya (Ariani *et al.*, 2023).

Viabilitas Sperma

Data hasil uji ANOVA pada viabilitas sperma menunjukkan p value < F tabel yang berarti terdapat beda nyata antar perlakuan. Uji selanjutnya yaitu *pos-hoc comparison* yaitu uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui beda nyata pada setiap perlakuan. Analisis pada uji DMRT diketahui bahwa pada nilai $p < 0.05$ terdapat beda nyata antara perlakuan kontrol (KP0) dengan perlakuan lain (KP1, KP2, KP3 dan KP4). Terlihat jelas bahwa paparan asap rokok menurunkan secara signifikan viabilitas sperma. Tabel 2 berikut ini merupakan hasil yang didapatkan dari uji DMRT viabilitas sperma dengan teknis apus yang memakai pewarna eosin 2 % dengan minimal sperma yang dihitung yaitu sebanyak 200 sperma.

Tabel 2. menunjukkan nilai viabilitas spermatozoa KP0 (kontrol, tanpa asap rokok) sangat tinggi, berbeda nyata dengan kelompok perlakuan dengan pemberian asap rokok (KP1, KP2, KP3 dan KP4). Kedua jenis rokok yang menggunakan filter ataupun tanpa filter sama-sama menunjukkan hasil yang negatif terhadap viabilitas sperma. Viabilitas semakin tinggi maka kualitas sperma semakin baik. Hasil yang didapatkan pada viabilitas sperma, terjadi penurunan berturut-turut dari KP1, KP2, KP3, dan KP4 sehingga yang terburuk adalah KP4. Viabilitas menunjukkan ketahanan hidup sperma di lingkungan luar. Viabilitas sperma pada tikus kontrol (tanpa pemeparan asap rokok) paling tinggi, hal ini menunjukkan bahwa asap rokok berdampak negatif terhadap viabilitas sperma. Viabilitas yang kurang baik ini, pada penelitian Unitly (2022), dapat ditingkatkan dengan terapi sirup cengkeh.

Penurunan viabilitas sperma tikus putih dikarenakan terjadinya stress oksidatif yang ditimbulkan oleh asap rokok. Stress oksidatif mempengaruhi daya tahan dari spermatozoa yang dihasilkan. Radikal bebas khususnya dapat bersifat sitotoksik yang dapat menghambat pembentukan Adenosin Trifosfat (ATP) mitokondria sehingga pembentukan mitokondria sperma akan terhambat (Anbarasi *et al.*, 2005; Anbarasi *et al.*, 2005)). Terhambatnya pembentukan ATP pada

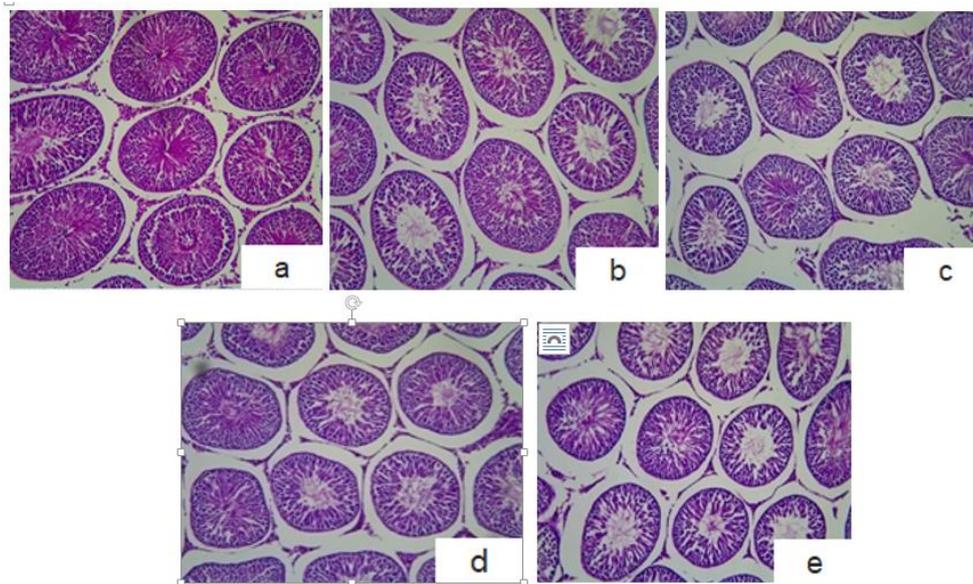
mitokondria akan menurunkan metabolisme yang terjadi pada sperma. Penurunan metabolisme ini akan menyebabkan gerakan sperma melambat bahkan tidak terdapat pergerakan sama sekali atau sperma mengalami kematian karena ATP yang berfungsi sebagai sumber energi ada dalam jumlah yang sedikit atau tidak terbentuk sama sekali.

Gambaran struktur histopatologi tubulus seminiferus

Penilaian gambaran histologis tubulus seminiferus dilakukan oleh *Expert Judgment* di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada. Hasil yang diperoleh dari pengamatan pada 5 tubulus seminiferus pada setiap ulangan yaitu semua perlakuan tidak menunjukkan adanya perubahan patologik. Semua perlakuan memiliki skor pada kriteria (Johnsen, 1970) sebesar 10, karena tidak didapatkan kerusakan yang berarti.

Gambar 1 menunjukkan evaluasi histopatologi tubulus seminiferus yang dilakukan oleh *expert judgment*. Tubulus seminiferi pada Gambar 1a dan 1b menunjukkan kriteria Jhonsen *score* yang memenuhi nilai 10. Parameter yang terlihat pada kontrol maupun pada perlakuan KP1 yaitu terlihat masih terdapat sel-sel spermatogenik dan spermatozoa yang berkumpul di tengah lumen. Walaupun terlihat jelas diameter lumen diantara kedua kelompok perlakuan ini berbeda sehingga jumlah sel nya pun akan berbeda. Jumlah spermatozoa pada KP0 terlihat juga lebih banyak daripada KP1 pada gambaran histologis tersebut.

Gambar 1c. menunjukkan pada lumen tubulus seminiferous tertutup oleh spermatozoa yang berkumpul di tengah, sedangkan pada Gambar 1d menunjukkan diameter lumen terlihat lebih lebar meskipun masih terdapat beberapa spermatozoa berada di tengah lumen tersebut. Kedua gambar ini menunjukkan *score* Jhonsen dengan nilai 10 meskipun terdapat perbedaan lebar dari lumen. Gambar 1e menunjukkan lumen yang berada di tengah tubulus seminiferus terlihat lebih lebar dibandingkan dengan Gambar 1c maupun Gambar 1d.



Gambar 1. Penampang melintang tubulus seminiferus testis pewarnaan HE dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 10x10: (a) KP0(b) KP1, (c) KP2, (d) KP3, (e) KP4

Berdasarkan gambaran histologis tubulus seminiferus pada semua perlakuan tidak menunjukkan adanya perubahan patologik yang signifikan dilihat dari susunan sel-sel spermatogenik. Hanya sedikit berbeda pada jumlah spermatozoa yang berkumpul di tengah lumen pada KP0 dengan kelompok perlakuan lainnya. Paparan asap rokok ini mempengaruhi jumlah dari sel-sel spermatogenik yang dihasilkan pada KP1, Kp2, Kp3, dan Kp4 karena lebar lumennya berbeda namun perlakuan yang diberikan belum mencapai kerusakan histopatologi tubulus seminiferus. Pemberian paparan asap rokok selama 32 hari tidak menunjukkan kerusakan patologik yang terlihat signifikan pada tubulus seminiferus secara menyeluruh sehingga perhitungan jumlah sel-sel spermatogenik menjadi penentu bagaimana pengaruh paparan asap rokok pada tiap perlakuan pada spermatogenesis yang terjadi.

Pemberian nikotin berpotensi menyebabkan perubahan degeneratif pada seminiferus tubulus, yang dimanifestasikan oleh perubahan arsitektur umum dan pengurangan jumlah diameter dan ketebalan epitel sebanding dengan dosis (Nesseim *et al.*, 2011 dalam Zulfikar *et al.*, 2022). Kerusakan yang disebabkan asap rokok tidak sampai menimbulkan efek yang dapat dilihat secara jaringan, namun dampaknya cukup untuk menurunkan mekanisme fisiologinya (Holgate, 1999). Hal ini berarti, paparan asap rokok dalam waktu 32 hari

sudah dapat menurunkan jumlah sel spermatogeniknya meskipun kerusakan tersebut belum dapat diidentifikasi jika hanya dilihat secara jaringan. Senyawa beracun dalam rokok mengakibatkan reaksi histologis akibat hipoksemia yang disebabkan oleh asap. Pada penelitian Iring *et al.*, (2023), terdapat penurunan diameter dari tubulus seminiferus pada tikus yang terpapar rokok, baik rokok konvensional maupun vapor.

Jumlah sel-sel spermatogenik

Data yang diperoleh dari perhitungan sel-sel spermatogenik dianalisis menggunakan *Analysis of Variant (ANOVA)* dengan $p\text{ value} < 0,05$ pada semua sel spermatogenik sehingga dilakukan uji lanjutan yaitu Uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* untuk diketahui perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian pada Tabel 3 menunjukkan bahwa pada kontrol (KP0) berbeda nyata dengan perlakuan paparan asap rokok KP1, KP2, KP3 dan KP4. Jumlah sel spermatogenik paling banyak pada perlakuan kontrol tanpa paparan asap rokok. Penurunan jumlah sel spermatogenik pada kelompok perlakuan, salah satunya kemungkinan disebabkan karena turunnya hormon testosteron karena senyawa beracun rokok. Penurunan hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig ini mengakibatkan penurunan pada spermatogenesis.

Tabel 3. Hasil Uji DMRT Jumlah Sel-Sel Spermatogenik pada Setiap Perlakuan

Perlakuan	Rerata Jumlah Sel		
	Spermatogonia	Spermatisit	Spermatid
KP0	65,40 ± 9,44987 ^a	176,60 ± 21,11398 ^a	208,60 ± 39,04869 ^a
KP1	44,60 ± 12,83745 ^b	64,00 ± 4,30116 ^b	83,20 ± 29,07232 ^b
KP2	48,80 ± 9,95992 ^b	58,40 ± 10,01499 ^b	68,40 ± 13,72224 ^{bc}
KP3	43,20 ± 10,56882 ^b	60,00 ± 6,20484 ^b	96,20 ± 29,53303 ^b
KP4	41,80 ± 5,11859 ^b	43,20 ± 5,89067 ^c	45,20 ± 9,57601 ^c

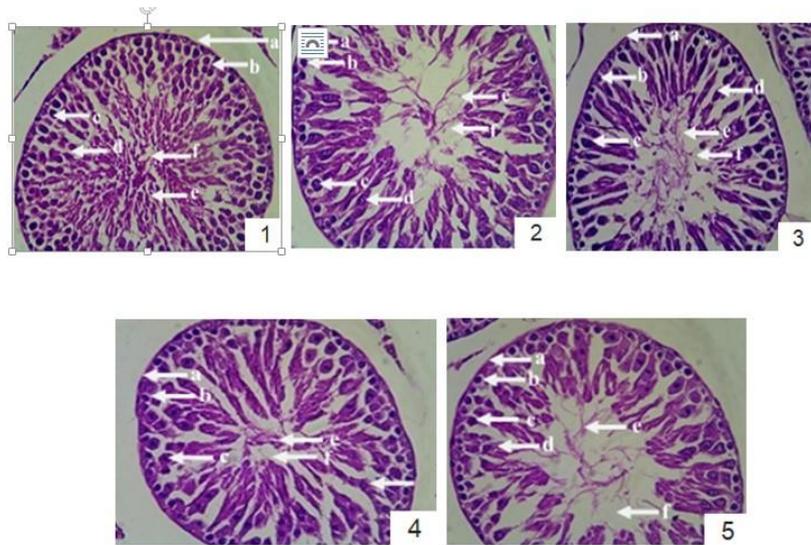
Keterangan: Uji Anova dilanjutkan dengan Uji DMRT ($p < 0.05$). Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan

Senyawa kimia yang terkandung di dalam rokok seperti hidrokuinon atau kuinon, *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Nitrite Oxide* (NO) mempengaruhi terjadinya penurunan sel-sel germinal di dalam tubulus seminiferus. *Nitrite Oxide* (NO) memiliki efek terhadap biosintesis yang terjadi pada sel leydig yang mengakibatkan turunnya testoteron. *Reactive Oxygen Species* (ROS) memiliki dampak negatif pada reproduksi individu jantan meskipun jika jumlahnya tidak terlalu banyak dapat dihambat oleh enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) (Hayati *et al.*, 2006). Dalam kondisi normal, ROS berfungsi mengatur kapasitas sperma yang dihasilkan. Adanya ROS yang berlebihan menunjukkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif sendiri mempengaruhi sekresi *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) yang akan mempengaruhi produksi dari LH dan FSH. Penurunan LH dan FSH ini kemudian menghambat sel sertoli dalam menghasilkan *Androgen Binding Protein* (ABP) yang berperan dalam memacu spermatogonium dalam melakukan spermatogenesis (Hayati *et al.*, 2006).

Sel-sel spermatogenik yang berada di tubulus seminiferus berasal dari sel germinal spermatogonium. Pembentukan sel germinal ini merupakan proses panjang dari mekanisme hipotalamus-hipofisis dan hormon yang dihasilkan. Spermatogenesis sangat dipengaruhi oleh hormon yang dihasilkan, salah satunya hormon testoteron (Rahmawati, 2015).

Data pada Tabel 3 menunjukkan pada sel spermatogonia terdapat beda nyata antara kontrol dengan semua kelompok perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa pemaparan asap rokok jenis rokok putih ataupun rokok kretek akan mempengaruhi pembentukan sel spermatogonia. Semua perlakuan menunjukkan penurunan jika dibandingkan dengan kontrol. Menurut Hayati *et al.* (2006), spermatogonium

lebih tahan terhadap kerusakan atau masuknya toksik kedalam testis dikarenakan spermatogonium dilindungi oleh sel sertoli yang berperan sebagai pelindung dari masuknya zat-zat berbahaya seperti merkuri (Hg), kadmium dan senyawa lain yang terdapat di dalam asap rokok. Lain halnya dengan sel spermatogonia, sel spermatisit dan sel spermatid lebih rentan terhadap perubahan fisiologis testis. Hal itu menjadikan sel spermatisit dan sel spermatid memiliki jumlah sel yang lebih menunjukkan adanya bahan berbahaya yang masuk ke dalam tubuh. Salah satunya stres oksidatif. Hasil menunjukkan bahwa sel spermatisit pada Tabel 3 terdapat beda nyata pada taraf $p < 0,05$ antara kontrol (KP0) dengan perlakuan (KP1, KP2 dan KP3 dan KP4). Jumlah spermatisit yang paling sedikit dihasilkan yaitu pada perlakuan pemaparan asap rokok putih berfilter (KP4). Stres oksidatif serta polimer berbahaya pada rokok putih berfilter lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Stres oksidatif dapat mengganggu terjadinya pembelahan sel dan sintesis RNA yang sedang dilakukan oleh spermatid pakiten. Hal ini menjadikan spermatid sedang dalam posisi yang rawan diserang oleh senyawa yang berbahaya yang terdapat di dalam rokok seperti radikal bebas (Unitly *et al.*, 2022). Perlakuan pemaparan asap rokok kretek berfilter (KP2) dan perlakuan pemaparan asap rokok putih berfilter (KP4) menunjukkan hasil paling buruk dari semua perlakuan. Hal ini menjadi jelas karena data yang diperoleh dari perhitungan jumlah sel-sel spermatogenik sebanding dengan kriteria motilitas sperma serta viabilitas sperma. Gambar sayatan melintang testis tikus putih strain Wistar semua perlakuan yang diwarnai menggunakan Hematoxilyn-Eosin dan diamati pada mikroskop perbesaran 10 x 40 dan didokumentasikan menggunakan optilab dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Penampang melintang tubulus seminiferus testis pewarnaan HE dengan menggunakan mikroskop. pada perbesaran 100x: (1) KP, (2) KP1, (3) KP2, (4) KP3, (5) KP4. Keterangan: (a) membran basalis. (b) spermatogonium. (c) spermatosit. (d) spermatid. (e) spermatozoa. (f) lumen

Terlihat dari kelima gambar di atas menunjukkan luas lumen dan kerapatan sel-sel spermatogenik yang berbeda. Perbedaan ini menunjukkan jumlah yang berbeda pula (Tabel 3.). Perlakuan paparan rokok menyebabkan penurunan drastis jumlah spermatozoa. Kandungan senyawa yang bersifat toksik pada rokok kretek lebih tinggi ataukah lebih rendah dari dari rokok putih, karena putih juga mengandung saus rahasia yang kandungan senyawanya belum diketahui. Hal ini dapat diasumsikan bahwa selain dari penggunaan bahan tambahan cengkeh, senyawa saus yang terdapat pada rokok putih menyebabkan rokok putih berdampak lebih buruk terhadap reproduksi individu jantan (jumlah spermatozoa signifikan lebih sedikit).

Perbedaan mendasar rokok putih dan rokok kretek yaitu pada bahan tambahan cengkeh. Cengkeh mengandung senyawa eugenol yang tinggi, terutama pada kuncup bunganya. Salah satu fungsi dari eugenol sendiri yaitu *afrodisiaka* yang berperan sebagai salah satu penyedia testosteron eksogen. Testosteron eksogen ini berfungsi sebagai stimulan pada reseptor androgen dengan sistem syaraf dan berhubungan dengan mekanisme hipotalamus dan hipofisis (Dipiro *et al.*, 2015). Bahan tambahan cengkeh pada rokok kretek yang bila dibakar akan menghasilkan senyawa fenol berupa eugenol. Senyawa fenol ini berfungsi sebagai antioksidan. Cengkeh walaupun telah

melewati pembakaran, senyawa fenol masih belum mengalami kerusakan. Fenol sendiri berfungsi sebagai antioksidan dan pemberi rasa yang khas pada rokok. Hal ini yang memungkinkan efek buruk rokok kretek lebih kurang daripada efek buruk rokok putih.

Filter digunakan pada rokok sebagai penyaring senyawa-senyawa kimia berbahaya seperti tar dan nikotin. Filter rokok berbahan dasar 95% senyawa anorganik selulosa asetat. Selulosa asetat sebagai filter menyerap racun yang ada pada rokok saat dihisap. Daya serap pada selulosa asetat dimanfaatkan untuk mengurangi CO dan HC yang juga terkandung dalam asap rokok. Selain dari asap rokok, CO dan HC merupakan senyawa kimia yang biasa berasal dari gas buangan kendaraan bermotor.

Gas CO berbahaya bila terhirup oleh manusia karena mengakibatkan gangguan pernapasan dan mempunyai efek jangka panjang gangguan syaraf serta jantung. Kemungkinan yang dapat disimpulkan yaitu radikal bebas atau ROS (*Reaction Oxygen Species*) yang terdapat di dalam rokok dapat mendegradasi senyawa selulosa asetat dan senyawa ini akan berpadu dengan senyawa lain yang terdapat di dalam rokok sehingga menimbulkan dampak yang lebih toksik terhadap tubuh dibandingkan rokok tanpa filter. Hal ini bertentangan dengan tujuan awal penambahan filter yaitu untuk menyaring tar dan nikotin sehingga kadar yang masuk ke

dalam tubuh lebih sedikit. Namun meskipun filter rokok dapat memfilter tar dan nikotin yang masuk ke dalam tubuh, terdapat senyawa lain seperti *Nitrite Oxide* (NO) dan karbon monoksida (CO) yang tidak dapat difilter dan dapat masuk ke dalam tubuh (Hendianto & Hendrasarie 2020).

Pengaruh adanya filter rokok memiliki efek paling destruktif pada semua parameter yang diteliti. Filter rokok pada rokok putih menghasilkan dampak yang paling buruk terhadap reproduksi tikus, khususnya jumlah sel spermatogenik dan kualitas spermatozoanya. Filter rokok yang mengandung selulosa asetat dikatakan dapat memfilter tar dan nikotin yang masuk ke dalam tubuh. Namun pada kenyataannya, filter ini tidak dapat menyaring semua senyawa kimia toksik di dalam asap rokok yang bersifat toksik ke dalam tubuh (Zavos *et al.*, 1998). Pada penelitian terbaru oleh Zulfikar *et al.* (2022), penurunan diameter tubulus seminiferus selain terjadi karena terpapar rokok konvensional juga terjadi pada penggunaan rokok vapor.

Selain bahan utama filter yaitu asetil asetat, filter rokok mengandung senyawa-senyawa kimia lain diantaranya karbon monoksida (CO), sodium serta pemanis buatan. Senyawa-senyawa yang terdapat pada filter seperti karbon monoksida serta sodium dapat berikatan dengan asap rokok yang mengandung bahan berbahaya lain sehingga kandungan karbon monoksida (CO) yang terdapat pada rokok berfilter lebih tinggi dibandingkan dengan rokok tanpa filter. Rokok sendiri mengandung karbon monoksida, sehingga saat asap rokok yang mengandung karbon akan semakin tinggi jika ditambahkan filter yang juga mengandung karbon monoksida (Muzi *et al.*, 1998; Jaffe & Chavasse, 1999).

KESIMPULAN

Dampak pemaparan asap rokok berbahaya bagi tubuh yaitu dapat menurunkan kualitas sperma baik secara motilitas dan viabilitasnya serta penurunan jumlah sel-sel spermatogeniknya. Motilitas sperma yang terpapar asap rokok putih berfilter menunjukkan penurunan paling buruk dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Penurunan fertilitas individu jantan yang dipapari asap rokok putih berfilter dimulai dari pembentukan sel-sel spermatogenik yang berlanjut pada tahap spermiogenesis atau pembentukan spermatozoa. Gambaran histologis tubulus seminiferus tidak menunjukkan adanya perubahan histologi pada

semua perlakuan dikarenakan pemaparan yang dilakukan belum mencapai kerusakan jaringan dan hanya berpengaruh terhadap mekanisme fisiologis dari tubulus seminiferus. Secara umum, efek rokok putih berfilter paling berbahaya bagi reproduksi daripada rokok yang lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Ahmad Dahlan melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat yang membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrien JAU, La Eddy, Maria N & Jesmendy R. 2022. Peningkatan Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa *Rattus norvegicus* Terpapar Asap Rokok Pasca Diterapi Sirup Cengkeh. **14**(1): 14-20.
- Aina N. 2005. *Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Galur Swiss*. [Skripsi UNS]. 2005.
- Aji A, Maulinda L, dan S. Amin. 2015. Isolasi Nikotin dari Puntung Rokok sebagai Insektis. *Jurnal Teknologi Kimia*. **4**(1).
- Anbasari K, Vani G & Devi CS. 2005. Protective Effect of Bacoside A on Cigarette Smoking-Induced Brain Mitochondrial Dysfunction in Rats. *J. Environ Pathol. Toxicol. Oncol.* **24**: 225- 34.
- Ariani M, Febriana A, Sari FD, Khairunisa, Atifah Y dan Rahmatika H. 2023. Pengaruh Pemberian Ekstrak Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Natur Indonesia*. **21**(22).
- Dipiro JT, Wells BG, Schwinghammer TL & Dipiro CV. 2015. *Pharmacotherapy Handbook*. Ninth edition. USA: The Mc. Graw Hill Company
- Fitriani EK & Widya E. 2010. The Effect of Cigarettes smoke Exposed Causes Fertility of Male Mice (*Mus musculus*). *J. Natural*. **10**(2): 12-17.
- Florentina R & W Kurniawan. 2022. Analisis Kuantitatif Tar dan Nikotin Terhadap Rokok Kretek yang Beredar di Indonesia. *Jurnal ERUDITIO*. **2**(2).
- Hayati A, Mangkoewidjojo S, Hitting A & Moedjopawiro S. 2006. Hubungan Kadar MDA Spermatozoa dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus Norvegicus*) setelah Pemaparan 2-

- Methoxyethanol. *J Berkala Penelitian Hayati*. **11**: 151-154.
- Hendianto MR & Hendrasarie N. 2020. Kemampuan Filter Rokok Non-Pakai Sebagai Adsorben Dalam Mengurangi Gas Emisi CO Dan HC. *Jurnal Serambi Engineering*. **V**:4.
- Holtage S, Jonathan MS, Hillel SK, Robert LM. 1999. *Air Pollution and Health*. London: Academic Press
- Iring AR, Rambung E & Winarso H. 2023. Differences in Diameter and Thickness of The Seminiferous Tubules of Male Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*) after Being Exposed To e-Cigarette Smoke And Conventional Cigarettes. *Malahayati International Journal of Nursing and Health Science*. **06**(5).
- Jaffe D & Chavasse L. 1999. Comparing the Co Content of Cigarette Smoke and Auto Exhaust Using Gas Chromatography. *Journal of College Science Teaching*. **29**(3): 172-176.
- Johnsen SG. 1975. Testicular Biopsy Score Count--A Method For Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 335 Hypogonadal Males. *Hormones*. **1**(1): 2-25.
- Kemendes. 2018. Kandungan dalam Sebatang Rokok.
<https://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/penyakit-paru-kronik/apa-saja-kandungan-dalam-sebatang-rokok>
- Ludmila MK & Osadchuk A. 2023. Effects of Cigarette Smoking on Semen Quality, Reproductive Hormone Levels, Metabolic Profile, Zinc and Sperm DNA Fragmentation in Men: Results from a Population-Based Study. *Frontiers in Endocrinology*. **14**: 1-14.
- Marieta A & Lestari K. 2022. *Narrative Review* : Rokok dan Berbagai Masalah Kesehatan yang Ditimbulkannya. *Jurnal Farmaka*. **20**(2).
- Moradpour F. 2019. A Review on Animals Semen Characteristics: Fertility, Reproduction and Development. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*. **10**(2): 1-9.
- Muzi G, Dell OM & Abbritti G. 1998. Objective Assessment of Ocular and Respiratory Alterations in Employee A Sick Building. *American Journal of Industrial Medicine*. **34**: 79-88.
- Osadchuk L, Kleshchev M & Osadchuk A. 2023. Effects of Cigarette Smoking on Semen Quality, Reproductive Hormone Levels, Metabolic Profile, Zinc and Sperm DNA Fragmentation in Men: Results From a Population-Based Study. *Frontiers in Endocrinology*.
- Putra Y. 2014. Pengaruh Rokok terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang). *Jurnal Sainstek*. **VI**(01): 30-42.
- Rahmawati I. 2015. Perbedaan Jumlah Sel-Sel Spermatis Primer dan Spermatid Setelah Pemberian Nikotin Antara 2 Minggu dan 3 Minggu Pada Mencit (*Mus musculus*). *The Indonesian Journal of Health Science*. **5**(2).
- Singh CR & Kathiresan K. 2015. Effect of Cigarette Smoking on Human Health and Promising Remedy by Mangroves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **5**(2):162-167.
- Stephen TH, Koren HS, Samet JM. 2006. Air Pollution and Health. *Hong Kong Practitioner*. **28**(9): 361-362.
- Unitly AJA, Eddy L, Nindatu M & Reasoja J. 2022. Peningkatan Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa *Rattus norvegicus* Terpapar Asap Rokok Pasca Diterapi Sirup Cengkeh. *Jurnal Biologi Edukasi*. **14**(1).
- Zavos PM, Correa JR, Antypas S & Zarmakoupis. 1998. Effects of Seminal Plasma from Cigarette Smokers on Sperm Viability and Longevity. *Fertility and Sterility*. **69**: 425-429
- Zulkiflar MA, Hestianah EP, Hermadi HA, Utama S, Hernawati T, Kuncorojakti S & Luqman EM. 2022. Effect of Exposure to E-Cigarette Vapor and Cigarette Smoke on Seminiferous Tubules Diameter and Spermatozoa Quality of Mice (*Mus musculus*). *Journal of Ecology Environment and Conservation*. **28**(3): 1246-1251.

