

EFEK JUS BAWANG BOMBAY (*ALLIUM CEPA LINN.*) TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA MENCIT YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN (STZ)

Annisa' Hasanah

Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Bendungan Sutami 188 A Sumbersari Malang,
Lowokwaru, Kota Malang, 65145, Indonesia, (0341) 582060

ABSTRAK

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia. Sekitar 90% pria penderita DM mengalami penurunan kualitas spermatozoa. STZ merupakan bahan toksik yang merusak sel β pankreas. Kandungan quercetin yang tinggi dalam bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) melindungi spermatozoa dari kerusakan. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan posttest only control group design. Besar sampel menggunakan rumus Federer dengan jumlah sampel 32 ekor mencit yang dibagi empat kelompok perlakuan : K0 adalah kelompok kontrol diberi placebo dan jus bawang bombay 1 g/kgBB, K1 adalah kelompok kontrol DM yang diinduksi STZ dosis rendah 50 mg/kgBB, K2 adalah kelompok induksi STZ dosis rendah dan jus bawang bombay 0,5 g/kgBB, K3 adalah kelompok induksi STZ dosis rendah dan jus bawang bombay 1 g/kgBB. Kualitas spermatozoa yang diperiksa adalah motilitas spermatozoa. Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan uji Mann-Whitney. Uji normalitas dengan Shapiro-Wilk didapatkan $p < 0,05$ pada semua parameter (data tidak berdistribusi normal). Hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan $p < 0,05$, menunjukkan ada perbedaan signifikan motilitas pada keempat kelompok perlakuan. Uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan signifikan motilitas antar kelompok ($p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian jus bawang bombay dosis 0,5 g/kgBB dan 1 g/kgBB meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Kata Kunci : Jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.), motilitas spermatozoa, mencit (*Mus musculus*), streptozotocin (STZ)

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is metabolic disease characterized by hyperglycemia. Approximately 90% of men with diabetes decreased spermatozoa quality. STZ is a toxic substance that damages pancreatic β cells. High content of quercetin in onion protects spermatozoa from damage. This research is an experimental study with posttest only control group design. Sample size using the Federer formula with 32 mice samples were divided into four groups : control group (K0) is given a placebo and 1 g/kgBW onion juice, K1 is a group of low dose STZ-induced diabetes control, K2 is low dose STZ induced group and 0,5 g/kgBW onion juice, K3 is low dose STZ induced group and 1 g/kgBW onion juice. Spermatozoa quality which examined is motility. Data were analyzed with Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney test. Normality test with Shapiro-Wilk obtained $p < 0.05$ for all parameters. Kruskal-Wallis test results obtained $p < 0.05$, showed significant differences in motility. Mann-Whitney test showed a significant difference in motility between groups ($p < 0.05$). The conclusion of this study is 0.5 g/kgBW and 1 g/kgBW onion juice increased spermatozoa motility of STZ-induced diabetic mice.

Key words : Onion juice (*Allium cepa* Linn.), spermatozoa motility, mice (*Mus musculus*), streptozotocin (STZ)

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) adalah suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat penurunan produksi dan sekresi insulin, resistensi insulin atau keduanya. Sekitar 90% pria penderita DM terbukti mengalami disfungsi seksual meliputi impotensi, ejakulasi dini, penurunan libido dan infertilitas akibat kegagalan fungsi testis (Amaral *et al.*, 2005).

Penelitian pada tikus penderita DM yang diinduksi dengan streptozotocin (STZ) membuktikan terjadinya peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan penurunan kapasitas antioksidan (Amaral *et al.*, 2005). Pada penelitian lain di tahun 2010 yang dilakukan pada tikus dengan induksi STZ, dilaporkan adanya penurunan level antioksidan pada DM akibat peningkatan produksi radikal

bebas dengan mengukur enzim antioksidan selular seperti *glutathione peroxidase* (GSHPx), *superoxide dismutase* (SOD), dan katalase (CAT) (Abdelmoaty *et al.*, 2010).

STZ merupakan bahan toksik yang dapat merusak sel β pankreas secara langsung. Mekanisme diabetogenik STZ melalui alkilasi DNA pada gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan sel β pankreas. STZ juga menginduksi terbentuknya radikal bebas, seperti superoksida (O_2^-), hydrogen peroksidase (H_2O_2), dan radikal hidroksil (OH^-) (Lenzen., 2008). Penelitian di tahun 2012 pada tikus yang diinduksi STZ dosis tinggi membuktikan bahwa kerusakan irreversible sel β pankreas terjadi pada hari ketiga setelah induksi dilakukan (Purwanto *et al.*, 2012). Penelitian lain pada tahun 2005 membuktikan adanya kerusakan spermatozoa dan testis tikus DM setelah 1 minggu induksi STZ dosis rendah (Amaral *et al.*, 2005).

Sel spermatozoa mamalia mempunyai komposisi lipid yang spesifik yaitu mengandung *high polyunsaturated fatty acids* (PUFA), plasmalogen dan spingomielin (Aitken et al., 1999). Kerusakan oksidatif pada komposisi lipid dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) spermatozoa pada penderita DM berhubungan dengan penurunan kualitas spermatozoa (Chen et al., 2007). Peningkatan lipid spermatozoa merupakan prekursor utama terjadinya peroksidasi yang menghasilkan ROS serta radikal bebas secara berlebihan. Hal tersebut menyebabkan menurunnya kualitas spermatozoa yang berpengaruh pada fertilitas pria (Chen et al., 2007). Penurunan kualitas spermatozoa ditunjukkan dengan penurunan motilitas spermatozoa (Mahboob et al., 2005).

Terapi medis untuk meningkatkan motilitas spermatozoa telah banyak diteliti, antara lain penggunaan preparat hormon androgen, *antioksidan* (carnitin, *glutathione*, vit C + vit E dan asthaxantin), gonadotropin, *trace elements* (selenium, zinc) dan asam folat, serta kallikrein dan pentoxifylline (Isidori et al., 2006). Bawang bombay (*Allium cepa Linn.*) yang sering digunakan di dalam menu masakan sehari-hari dan telah lama digunakan sebagai obat tradisional merupakan salah satu bahan alam yang diduga mempunyai efek meningkatkan motilitas spermatozoa selain obat-obat terstandar yang sudah ada. Bawang bombay mempunyai efek antibiotik, antiatherogenik, antikanker dan antidiabetes (Lee et al., 2008). Aksi biologis bawang bombay untuk kesehatan dipengaruhi oleh kandungan flavonoid dan *alk(en)yl cysteine sulphoxides*, keduanya merupakan antioksidan poten (Lee et al., 2008). Kandungan quercetin (QE) yang tinggi dalam bawang bombay dapat melindungi DNA spermatozoa dari kerusakan dan oksidasi. QE mencegah *oxidant injury* dan kematian sel dengan meningkatkan radikal oksigen melawan peroksidasi lipid (Laughton et al., 2001). Penelitian efek androgenik bawang bombay terhadap spermatogenesis tikus sehat di tahun 2008 membuktikan adanya peningkatan serum total testosteron, *level luteinizing hormone* (LH) dan *folicle stimulating hormone* (FSH), total antioxidant capacity (TAC), motilita spermatozoa serta menurunnya konsentrasi malondialdehyde (MDA) (Khaki et al., 2008).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian efek pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa Linn.*) terhadap motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Rumusan Masalah

Apakah pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa Linn.*) dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Tujuan Penelitian

Tujuan umum

Membuktikan efek pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa Linn.*) terhadap motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Tujuan khusus

Membuktikan dosis bawang bombay (*Allium cepa Linn.*) yang dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Manfaat Penelitian

Manfaat teoritis

Memberi informasi ilmiah tentang efek pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa Linn.*) terhadap peningkatan kualitas spermatozoa pada mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Manfaat praktis

1. Meningkatkan nilai ekonomis bawang bombay (*Allium cepa Linn.*).
2. Sebagai dasar penelitian lanjutan pada manusia ke arah fitofarmaka (obat herbal dari bawang bombay) yang dapat memperbaiki kualitas spermatozoa penderita DM.

METODE PENELITIAN

Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian posttest only control group design (Zainuddin, 2011).

Populasi dan Sampel

Populasi

- Populasi dalam penelitian menggunakan mencit

Sampel

- Sampel dalam penelitian menggunakan mencit dengan kriteria berkelamin jantan, berumur 3 bulan, berat badan 25-30 gram dan dalam kondisi fisik sehat.
- Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer (Hanafiah, 2001) :

$$(t-1) (r-1) > 15$$

$$(4-1) (r-1) > 15$$

$$r > 6$$

Keterangan :

t : jumlah kelompok

r : jumlah replikasi

Menghindari kemungkinan hewan coba mati, (f) = 10% maka jumlah replikasi dikalikan 1/1-f sehingga : $1/(1-0,1) \times 6 = 6,67 \approx 7$, dengan pertimbangan bahwa distribusi normal minimal tercapai pada sampel dengan jumlah 30, maka pada penelitian ini masing-masing kelompok tidak berjumlah 7 tetapi 8 (Lameshow et al., 1990), sehingga jumlah replikasi pada penelitian ini adalah 8 ekor per kelompok dan besar sampel keseluruhan menjadi 32 ekor.

Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling technique*. Randomisasi dilakukan dengan cara memberikan label nomer pada mencit kemudian dilakukan pengundian untuk memasukkan mencit ke dalam kelompok masing-masing 8 ekor mencit.

Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Pemberian jus bawang bombay
Pemberian streptozotocin (STZ)

2. Variabel tergantung : Motilitas spermatozoa
3. Variabel moderator : Berat badan hewan coba.
4. Variabel kendali : Kesehatan fisik hewan coba, cara pemberian jus bawang Bombay, pemeliharaan dan perawatan hewan coba

Definisi Operasional Penelitian

1. Pemberian jus bawang bombay . Bawang bombay yang digunakan adalah bawang bombay jumbo lokal produksi Batu Malang. Dosis jus bawang bombay yang diberikan ada 2 macam yaitu sebesar 0,5 g/kg BB dan 1 g/kg BB mencit (Bab 4.7 Pembuatan Sediaan dan Penentuan Dosis), diberikan 1x/hari dimulai hari ke-7 post induksi STZ selama 28 hari. Larutan stok dibuat setiap hari.
2. Pemberian STZ . Induksi DM dilakukan dengan STZ dosis rendah yaitu 50 mg/kg BB dalam larutan dapar asam sitrat 0,05 M pH 4,3-4,5. STZ disuntikkan secara intraperitoneal (IP), dilakukan 1 kali. Dosis sesuai dengan kebutuhan per ekor mencit, untuk mencit 25-30 gram dosis STZ yang diberikan : 0,05 ml, 0,057 ml, 0,06 ml, 0,062 ml, 0,064 ml, 0,066 ml. STZ dalam dapar sitrat dibuat di Laboratorium Biokimia FK Unair. Perhitungan dan protokol pemberian STZ terlampir (lampiran 3).
3. Motilitas spermatozoa pada penelitian ini adalah spermatozoa dengan gerakan progresif, cepat ke depan (tipe A) diperiksa dengan mikroskop cahaya merk *Olympus* dan manual *counter clicker merk suntree*, pembesaran 400 kali per 5 lapang pandang. Normal jika >50% spermatozoa motil.
4. Kesehatan fisik hewan coba pada penelitian ini bisa dilihat dari gerakan mencit yang aktif, kulit dan bulu yang mengkilap tanpa luka, mata yang terang tidak layu dan kadar gula darah normal yaitu sebesar 62,8-176 mg/dl (Kusumawati, 2004).
5. Cara pemberian jus bawang bombay dilakukan secara oral menggunakan sonde modifikasi. Spuit 1 ml diberi kanul yang panjangnya sekitar 10 cm dengan ujung tajamnya dimodifikasi dengan ditambah bentuk bundar untuk kemudian dimasukkan ke dalam mulut (Kusumawati, 2004).
6. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di kandang hewan coba di laboratorium embriologi FKH UA. Kandang terbuat dari plastik polystyrene yang dimodifikasi dan ditutup dengan anyaman kawat aluminium, beralaskan sekam. Ukuran kandang 10 x 10 x 13 cm. Makanan menggunakan bahan pakan standar PT Japfa Comfeed diberikan 2x sehari dan diberi minum air minum kemasan ad libitum. Sekam harus diganti 2x sehari setelah hiperglikemia karena urin mencit yang mengandung glukosa mudah mengiritasi kulit mencit.

Bahan Penelitian

Hewan coba adalah mencit jantan dari laboratorium hewan coba FKH UA sebanyak 32 ekor, umur 3 bulan, berat badan 25-30 gram, kondisi fisik sehat dan diaklimatisasi selama 1 minggu.

Bawang bombay yang digunakan adalah bawang bombay jumbo lokal produksi Batu Malang. Bahan kimia dan reagen pemeriksaan yang digunakan adalah : (1) air minum kemasan untuk membuat jus, (2) STZ 50 mg/kg BB dalam larutan dapar asam sitrat 0,05 M pH 4,3-4,5 (3) QE kontrol (Sigma Aldrich Co) pada proses KLT (4) D10% dan glukosa untuk OGTT.

Instrumen Penelitian

Instrumen yang diperlukan dalam penelitian ini adalah (1) kandang individual ukuran 10 cm x 10 cm x 13 cm, (2) timbangan gram torbal (torsion balance), (3) spidol warna kuning untuk memberi tanda pada badan tikus, (4) spuit 1 ml, (5) sonde modifikasi, (6) Nescometer dan strip glukosa Nescotest (7) pisau bedah dan gunting, (8) gelas obyek dan gelas penutup, (9) mikroskop cahaya merk Olympus, (10) manual counter clicker merk suntree (11) freeze dryer merk Eyela (12) Jus ekstraktor merk Panasonic (13) komputer.

Pembuatan sediaan dan penghitungan dosis jus bawang bombay 1700 g bawang bombay dikupas kulitnya, dicuci, di jus menggunakan jus ekstraktor kemudian di freeze dryer untuk menghasilkan serbuk bawang bombay.



Gambar 4.2 Serbuk bawang bombay hasil freeze dryer

- 1700 g bawang bombay segar = 147, 42 g serbuk bawang bombay (hasil freeze dryer)
- 1 g bawang bombay segar = 0,087 g serbuk bawang bombay
- 1 g bawang bombay/250 g BB tikus/hari (Khaki et al, 2008) = 0,087 g serbuk bawang bombay.
- Sehingga untuk tikus dengan BB 200 g :

$$\frac{200}{250} \times 0,087 \text{ g} = 0,0696 \text{ g serbuk bawang bombay/200 g BB tikus}$$

- Konversi perhitungan dosis tikus (200 g) ke mencit (20 g) adalah (Kusumawati, 2004) :
0,0696 g x 0,14 = 0,009744 g dibulatkan menjadi 0,01 g serbuk bawang bombay/20 g BB mencit = 0,005 g serbuk bawang bombay/10 g BB mencit
Jadi dosis jus bawang bombay yang diberikan per kg BB mencit adalah :

$$\frac{1000}{20} \times 0,01 \text{ g} = 0,5 \text{ g serbuk bawang bombay/kg BB mencit}$$

- Dosis untuk kelompok pertama : 0,5 g serbuk/kg BB mencit
- Dosis untuk kelompok kedua : 1 g serbuk/kg BB mencit
- BB mencit dalam penelitian sebesar 25-30 gram. Pembuatan larutan stok menggunakan BB terbesar.

Rencana pemberian sediaan : $1 \text{ ml}/100 \text{ g BB} = 0,1 \text{ ml}/10 \text{ g BB}$ mencit. Jadi 30 g BB mencit akan mendapat 0,3 ml jus.

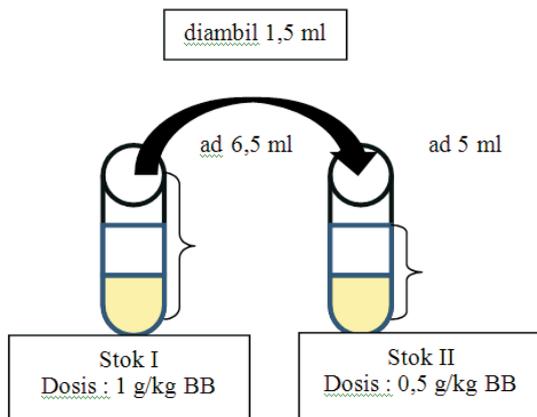
- Kebutuhan larutan stok/hari = $0,3 \text{ ml} \times 1 \text{ hari} \times 8 \text{ replikasi} = 2,4 \text{ ml}$ dibulatkan menjadi 5 ml.
- Cara membuat stok sediaan jus bawang bombay dilakukan dengan menghitung terlebih dahulu stok untuk dosis 1 g serbuk/kgBB mencit
Konversi dosis mencit (20 g) untuk dosis 1 g serbuk/kgBB mencit à Image

$$\frac{0,01 \text{ g serbuk}}{10 \text{ g BB mencit}} \rightarrow \text{pemberian: } \frac{0,01 \text{ g serbuk}}{0,1 \text{ ml}} = \frac{0,1 \text{ g serbuk}}{\text{ml}}$$

Stok untuk dosis 1 g serbuk/kgBB à

$$\frac{0,1 \text{ g serbuk}}{\text{ml}} = \frac{0,65 \text{ g serbuk}}{6,5 \text{ ml}}$$

diambil 1,5 ml



Pembuatan sediaan dan penghitungan dosis STZ. BB mencit pada penelitian 25-30 gram. Misal BB mencit 30 gram dengan dosis STZ 50 mg/kgBB diberikan single dose IP, keperluan STZ mencit tersebut :

$$\frac{50}{1000} \times 30 \text{ gram} = 1,5 \text{ mg/ekor}$$

Kebutuhan STZ untuk 32 mencit = $1,5 \times 32 = 48 \text{ mg}$. Konsentrasi STZ 22,5 mg/ml dalam dapar sitrat. Dosis STZ terhitung 1,5 mg/ekor mencit, maka mencit dgn BB 30 gram akan memperoleh :

$$\frac{1,5}{22,5} = 0,06 \text{ ml larutan STZ dalam dapar sitrat}$$

Kebutuhan volume dapar sitrat untuk 32 mencit = $0,06 \times 32 = 1,9 \text{ ml}$

Kebutuhan larutan STZ masing-masing mencit didasarkan pada berat badan masing-masing mencit (lampiran 3).

Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah pemeliharaan hewan coba dengan tujuan adaptasi terhadap lingkungan baru. Aklimatisasi dilakukan di laboratorium embriologi FKH UA selama 1 minggu, apabila terdapat hewan coba yang sakit atau mati, atau BB turun > 10%, maka akan dikeluarkan dari penelitian.

Pembagian kelompok perlakuan

Mencit sebanyak 32 ekor dibagi secara acak (randomisasi) ke dalam 4 kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus. Keempat kelompok tersebut adalah :

- K0: Kelompok kontrol yang diberikan dapar sitrat 4,5% injeksi IP 1x pemberian + jus bawang bombay dosis 1 g/kg BB 1x/hari per sonde.
- K 1: Kelompok kontrol yang diberikan STZ 50 mg/kg BB dalam dapar sitrat 4,5% injeksi IP 1x pemberian + air minum kemasan 0,1 ml /10 g BB ad libitum per sonde.
- K2 : Kelompok pemberian STZ 50 mg/kg BB dalam dapar sitrat 4,5% injeksi IP 1x pemberian + jus bawang bombay dosis 0,5 g/kg BB 1x/hari diberikan hari ke-7 post induksi selama 28 hari per sonde.
- K3 : Kelompok pemberian STZ 50 mg/kg BB dalam dapat sitrat 4,5% injeksi IP 1x pemberian + jus bawang bombay dosis 1 g/kg BB 1x/hari diberikan hari ke-7 post induksi selama 28 hari per sonde.

Pengambilan sampel testis hewan coba

Mencit dikorbankan dengan menggunakan teknik dislokasi servikal pada hari ke-28 (akhir dari periode perlakuan). Masing-masing mencit diambil kedua testisnya dengan cara pembedahan melalui insisi pada dinding abdomen. Testis dikeluarkan dan isi kauda epididimis diperas keluar untuk diperiksa spermatozoanya.

Pembuatan sediaan spermatozoa

Cairan ejakulat yang diperas dari kauda epididimis dicampur dengan larutan NaCl 0,9%, dengan perbandingan 1:10 supaya lebih encer sehingga tidak mudah kering saat diamati di bawah mikroskop.

Pengamatan spermatozoa

Spermatozoa diperoleh dari cairan ejakulat yang diperas dari cauda epididimis, lalu diamati di bawah mikroskop cahaya merk Olympus pembesaran 400x dalam bentuk sediaan basah.

Pengumpulan data

Data hasil penelitian adalah persentase spermatozoa dengan kriteria motilitas tipe A

Analisis data

Analisis deskriptif

Analisis deskriptif untuk mengetahui rerata (*mean*), standar deviasi (SD), uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas untuk mengetahui apakah data penelitian berdistribusi normal atau tidak dengan uji Shapiro-Wilk. Uji homogenitas untuk mengetahui apakah data penelitian homogen atau tidak (keseragaman varian populasi), dilakukan sebagai syarat uji ANOVA.

Analisis analitik

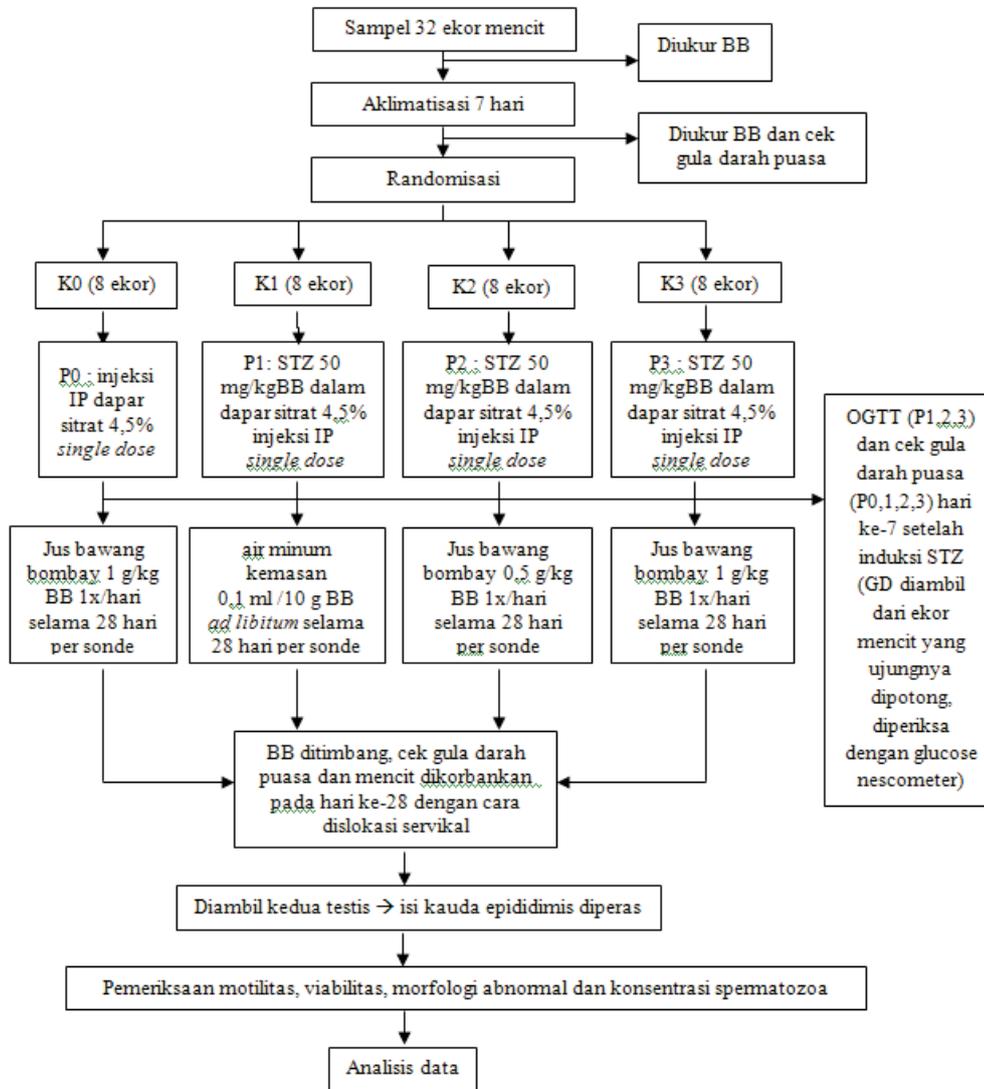
Uji ANOVA satu arah untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata untuk lebih dari dua kelompok sampel. Uji LSD sebagai uji lanjutan ANOVA untuk melihat hasil pengukuran variabel dari periode waktu mana yang berbeda dan melihat hasil pengukuran variabel dari kelompok mana yang berbeda.

Uji normalitas data yang tidak berdistribusi normal (syarat uji ANOVA tidak terpenuhi) maka dilakukan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan mencit, perlakuan dan pengambilan organ penelitian dilakukan di laboratorium embriologi FKH UA Surabaya. Proses freeze dryer KLT, dan densitometer dilakukan di TDC. Waktu penelitian antara bulan Juni-Juli 2013.

Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.6 Kerangka operasional penelitian

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris menggunakan rancangan penelitian posttest only control group design untuk membuktikan efek jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) terhadap motilitas spermatozoa mencit yang diinduksi streptozotocin (STZ). Sebanyak 32 ekor mencit dibagi empat kelompok, masing-masing terdiri dari delapan ekor mencit. K0 adalah kelompok kontrol (pemberian plasebo + jus bawang bombay 1 g/kgBB), K1 adalah kelompok kontrol DM (pemberian STZ + air minum kemasan ad libitum), K2 adalah kelompok perlakuan pertama (pemberian STZ + jus bawang bombay 0,5 g/kgBB) dan K3 adalah kelompok perlakuan kedua (pemberian STZ + jus bawang bombay 1 g/kgBB).

Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari kemudian dilakukan randomisasi kelompok. Induksi STZ dilakukan setelah aklimatisasi secara intraperitoneal (IP), single dose dengan dosis sesuai BB. Penimbangan BB dilakukan sebelum dan sesudah aklimatisasi serta hari ke-28 post induksi STZ. Pengukuran gula darah puasa (GDP) dilakukan sesudah aklimatisasi, hari ketujuh post induksi STZ (sebelum OGTT, 30 dan 60 menit sesudah OGTT), serta hari ke-28 post induksi STZ. Perlakuan dilakukan selama 28 hari lalu mencit dikorbankan pada hari tersebut dan diperiksa kualitas spermatozoanya.

Hasil Analisis Deskriptif

BB mencit

BB mencit yang diukur pada penelitian ini meliputi BB sbml (BB sebelum aklimatisasi), BB ssdh (BB sesudah

aklimatisasi) dan BB akhir (BB akhir perlakuan / hari ke-28 post induksi STZ), dinyatakan dalam satuan gram. Hasil analisis deskriptif BB mencit dapat dilihat pada Tabel 5.1 di bawah ini.

Tabel 5.1 Nilai rerata (mean) dan simpang baku (SD) BB sbml, BB ssdh dan BB akhir mencit

Kelompok	N	Rerata ± SD BB sbml [*]	Rerata ± SD BB ssdh ^{**}	Rerata ± SD BB akhir ^{***}
K0	8	27,50 ± 2,67	27,75 ± 2,43	31,13 ± 2,75
K1	7	28,57 ± 2,44	28,57 ± 2,44	22,57 ± 2,57
K2	8	26,25 ± 2,31	26,50 ± 2,20	23,75 ± 1,98
K3	8	26,88 ± 2,56	27,25 ± 2,31	25,62 ± 3,02
Total	31	27,26 ± 2,53	27,48 ± 2,35	25,87 ± 4,15

Sumber : Data primer

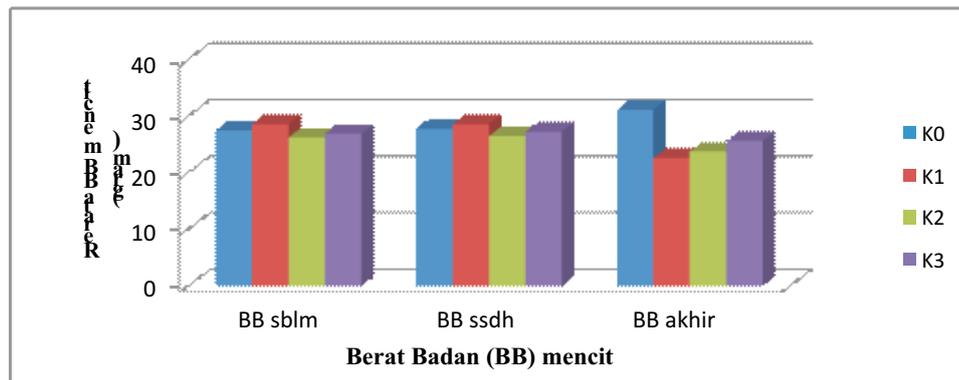
* : BB sebelum aklimatisasi (gram)

** : BB sesudah aklimatisasi (gram)

*** : BB akhir perlakuan / hari ke-28 post induksi STZ (gram)

Tabel 5.1 menunjukkan rerata total BB mencit (BB sbml, ssdh dan akhir) pada keempat kelompok tidak jauh berbeda. rerata total BB ssdh adalah rerata BB yang tertinggi. Rerata total BB akhir mengalami sedikit penurunan

dibandingkan dengan BB sbml dan BB ssdh. BB akhir pada kelompok K0 mengalami peningkatan dibanding BB sbml dan BB ssdh, sedangkan pada K1, K2 dan K3, BB akhir mengalami penurunan.



Keterangan :

K0 : Kontrol

K1 : Kontrol streptozotocin (STZ)

K2 : STZ + jus bawang bombay dosis 0,5 g/kgBB

K3 : STZ + jus bawang bombay dosis 1 g/kgBB

Gambar 5.1 Diagram batang rerata BB sbml, BB ssdh dan BB akhir mencit

Data pada gambar 5.1 menunjukkan bahwa BB sbml dan BB ssdh tertinggi pada K1 dan terendah pada K2. BB akhir mencit mengalami peningkatan pada K0 dan terjadi penurunan BB akhir pada K1, K2, dan K3 dengan K1 sebagai kelompok dengan BB akhir terendah.

GDP mencit

GDP yang diperiksa pada penelitian ini meliputi GDP awal (GDP setelah aklimatisasi), GDP hari ketujuh post induksi STZ serta GDP akhir (GDP hari ke-28 post induksi STZ). GDP hari ketujuh yang diperiksa meliputi GDP pra OGTT, GDP 30 dan 60 menit setelah OGTT. Hasil analisis deskriptif GDP mencit dapat dilihat pada Tabel 5.2 dan 5.3.

Tabel 5.2 Nilai rerata (mean) dan simpang baku (SD) GDP awal, GDP hari ketujuh dan GDP akhir mencit

Kelompok	N	Rerata ± SD GDP awal*	Rerata ± SD GDP hari ketujuh**	Rerata ± SD GDP akhir***
K0	8	117,75±21,61	120,50±20,31	130,88±17,84
K1	7	136,14±17,65	144,29±24,36	198,14±10,88
K2	8	110,88±21,65	138,63±45,53	73,75±12,44
K3	8	124,37±27,37	135,88±21,12	95,63±21,36
Total	31	121,84±23,27	134,52±29,70	122,23±49,20

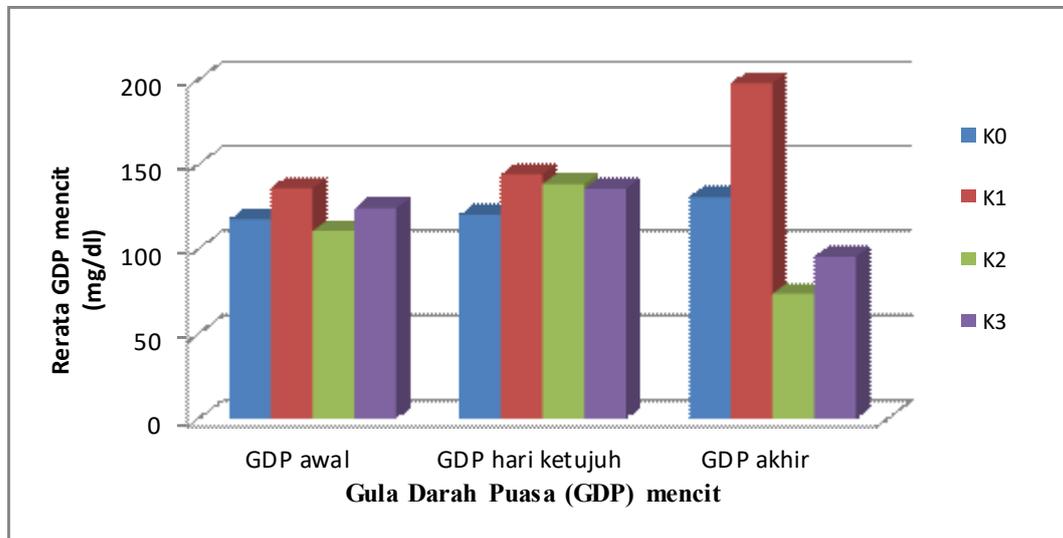
Sumber : Data primer

* : GDP setelah aklimatisasi (mg/dl)

** : GDP hari ketujuh post induksi STZ (mg/dl)

*** : GDP hari ke-28 post induksi STZ / akhir perlakuan (mg/dl)

Tabel 5.2 menunjukkan rerata GDP mencit pada K0 dan K1 terus mengalami peningkatan, dengan peningkatan yang lebih tinggi pada K1 dibanding K0. GDP pada K2 dan K3 mengalami peningkatan pada hari ketujuh kemudian menurun pada akhir perlakuan.



Keterangan :

K0 : Kontrol

K1 : Kontrol streptozotocin (STZ)

K2 : STZ + jus bawang bombay dosis 0,5 g/kgBB

K3 : STZ + jus bawang bombay dosis 1 g/kgBB

Gambar 5.2 Diagram batang rerata GDP awal, GDP hari ketujuh dan GDP akhir

Data pada gambar 5.2 menunjukkan bahwa GDP awal tertinggi pada K1 dan terendah pada K2. GDP hari ketujuh tertinggi pada K1 dan terendah pada K0. GDP akhir pada K0 dan K1 mengalami peningkatan sedangkan pada K2 dan K3 mengalami penurunan.

Tabel 5.3 Nilai rerata (mean) dan simpang baku (SD) GDP hari ketujuh (pra OGTT), GDP 30 menit post OGTT (OGTT30), dan GDP 60 menit post OGTT (OGTT60) mencit

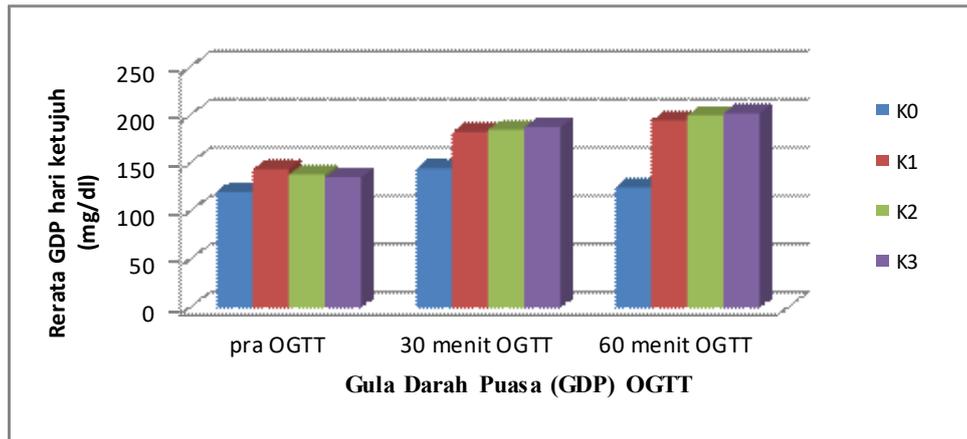
Kelompok	N	Rerata ± SD GDP pra OGTT*	Rerata ± SD OGTT30*	Rerata ± SD OGTT60*
K0	8	120,50±20,31	145,00±16,33	125,25±17,73
K1	7	144,29±24,35	182,86±14,96	194,86±13,19
K2	8	138,63±45,53	185,38±21,08	200,13±16,51
K3	8	135,88±21,12	187,88±17,79	202,25±10,61
Total	31	134,52±29,70	175,03±24,74	180,16±35,90

Sumber : Data primer

* : GDP dinyatakan dalam mg/dl

Tabel 5.3 menunjukkan rerata GDP mencit pada keempat kelompok meningkat setelah 30 menit OGTT. 60

menit setelah OGTT, GDP pada K0 menurun sedangkan GDP K1, K2 dan K3 semakin meningkat.



Keterangan :

K0 : Kontrol

K1 : Kontrol streptozotocin (STZ)

K2 : STZ + jus bawang bombay dosis 0,5 g/kgBB

K3 : STZ + jus bawang bombay dosis 1 g/kgBB

Gambar 5.3 Diagram batang rerata GDP pra OGTT, GDP OGTT 30 menit dan GDP OGTT 60 menit

Data pada gambar 5.3 menunjukkan bahwa GDP pra OGTT tertinggi pada K1 dan terendah pada K0. 30 menit dan 60 menit post OGTT, GDP tertinggi pada K3 terendah pada K0.

Motilitas Spermatozoa

Tabel 5.4 Nilai rerata (mean) dan simpang baku (SD) motilitas spermatozoa

Kelompok	N	Motilitas (%) Rerata ± SD
K0	8	84,75±2,76
K1	7	37,71±4,35
K2	8	75,25±6,65
K3	8	95,38±2,45

Sumber : Data primer

Tabel 5.4 menunjukkan rerata motilitas spermatozoa paling besar pada K3 sebesar 95,38% dan terendah pada K1 sebesar 37,71%.

Hasil uji normalitas data

Uji normalitas data dilakukan untuk mengetahui apakah distribusi sebuah data mengikuti atau mendekati distribusi normal. Uji normalitas data pada penelitian ini menggunakan uji Shapiro-Wilk (besar sampel < 50) dengan taraf signifikansi (p) 0,05.

Tabel 5.5 Hasil uji normalitas data motilitas spermatozoa mencit dengan uji Shapiro Wilk

Variabel	Signifikansi (p)*
Motilitas spermatozoa (%)	0,000

Sumber : Data primer

* : signifikan pada $p > 0,05$ (data berdistribusi normal)

Tabel 5.5 di atas menunjukkan bahwa data pada semua variabel tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), kemudian dilakukan upaya transformasi data dengan ANOVA agar data berdistribusi normal. Data tidak berdistribusi normal setelah upaya transformasi sehingga syarat untuk dilakukan uji parametrik dengan ANOVA tidak terpenuhi.

Hasil Analisis Analitik

Hasil uji normalitas menunjukkan keempat variabel penelitian berdistribusi tidak normal sehingga analisis selanjutnya menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Uji Kruskal-Wallis motilitas spermatozoa mencit tiap kelompok

Tabel 5.6 Hasil uji Kruskal-Wallis spermatozoa mencit tiap kelompok

Variabel	N	p*
Motilitas (%)	31	0,000

Sumber : Data primer

* : signifikan pada $p < 0,05$

Tabel 5.6 merupakan hasil uji Kruskal-Wallis motilitas spermatozoa mencit yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan dengan $p < 0,05$.

Uji Mann-Whitney motilitas spermatozoa mencit antar kelompok

Uji Mann-Whitney dilakukan untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda motilitas spermatozoa (sepadan dengan uji post hoc pada ANOVA). Hasil uji Mann-Whitney pada keempat variabel ditunjukkan pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil uji Mann-Whitney perbandingan motilitas spermatozoa mencit antar kelompok

Kelompok	Motilitas (%)
K0 dan K1	0,001
K0 dan K2	0,003
K0 dan K3	0,001
K1 dan K2	0,001
K1 dan K3	0,001
K2 dan K3	0,001

Sumber : Data primer

* : signifikan pada $p < 0,05$

Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara motilitas spermatozoa mencit pada semua kelompok yang dibandingkan.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) terhadap kualitas (motilitas, viabilitas, morfologi abnormal dan konsentrasi) spermatozoa mencit yang diinduksi STZ. Induksi STZ ditujukan untuk membuat model hewan coba DM yang ditandai dengan hiperglikemia. STZ merupakan bahan diabetogenik yang banyak digunakan dalam penelitian selain aloksan. Induksi STZ dalam penelitian ini menggunakan STZ dosis rendah sebesar 50 mg/kgBB secara IP, dosis tunggal (AMDCC, 2003). Pemberian jus bawang bombay per sonde 1x/hari dengan 2 dosis yaitu 0,5 g/kgBB dan 1 g/kgBB selama 28 hari dimulai hari ketujuh post induksi STZ. Hiperglikemia bermakna (late diabetic phase) terjadi pada hari ke-28 setelah induksi STZ dosis rendah (AMDCC, 2003). STZ yang digunakan untuk induksi pada penelitian ini merupakan bahan toksik yang dapat merusak sel β pankreas secara langsung (Lenzen., 2008), sehingga penelitian ini tidak bisa dilakukan pada manusia. Mekanisme diabetogenik STZ melalui alkilasi DNA pada gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan sel β pankreas. STZ juga menginduksi terbentuknya radikal bebas, seperti superoksida (O_2^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil (OH^-) (Lenzen., 2008).

Gambaran BB Mencit yang Diinduksi STZ

Hasil analisis deskriptif pada BB mencit, didapatkan adanya kenaikan BB di akhir perlakuan pada K0 serta didapatkan penurunan pada K1, K2 dan K3 dibanding BB sesudah aklimatisasi. Hasil analisis deskriptif menggambarkan bahwa mencit yang diinduksi STZ (K1, K2, K3) memiliki BB akhir yang lebih rendah dibandingkan dengan mencit yang tidak diinduksi STZ (K0). Hal tersebut menggambarkan bahwa induksi STZ menyebabkan penurunan BB mencit dan jus bawang bombay tidak mempengaruhi kenaikan BB pada mencit yang dibuat DM dengan induksi STZ.

Penurunan jumlah insulin yang diproduksi sel β pulau langerhans pankreas yang terjadi pada mencit dengan induksi STZ menyebabkan uptake glukosa darah dalam sel-sel tubuh menurun (Guyton, 2006). Tubuh tidak dapat memanfaatkan glukosa sebagai sumber energi utama sehingga membongkar cadangan energi dari protein dan lemak tubuh. Kondisi ini sama dengan keadaan saat puasa yaitu terjadi penurunan kadar insulin dan peningkatan glukagon. Kadar insulin rendah menyebabkan penguraian protein otot sehingga dihasilkan asam amino yang digunakan hati untuk glukoneogenesis. Penurunan kadar insulin menyebabkan glukosa yang masuk ke sel otot dan jaringan adipose berkurang (Guyton, 2006).

Proses lipolisis lebih besar dibandingkan sintesa lipid pada jaringan adipose ketika insulin rendah. Hal tersebut menyebabkan pelepasan asam lemak dari jaringan adipose meningkat sehingga meningkatkan asam lemak dalam darah. Asam lemak akan digunakan sel otot untuk sumber energi alternatif. Glikogen dalam hati dan otot dibongkar, protein otot diurai dan asam amino digunakan untuk glukoneogenesis dalam hati, simpanan trigliserida dalam jaringan adipose juga diurai (Sherwood, 2001). Hal tersebut mengakibatkan mencit yang diinduksi STZ mengalami penurunan BB.

Gambaran GDP Mencit yang Diinduksi STZ

Hasil analisis deskriptif pada GDP mencit, didapatkan GDP mencit pada K0 dan K1 terus mengalami peningkatan dengan peningkatan yang lebih besar pada K1. Peningkatan GDP pada K1 menunjukkan keadaan hiperglikemia, pada mencit didapatkan GDP > 176 mg/dl. Peningkatan GDP pada K2 dan K3 didapatkan pada hari ke-7 post induksi STZ dan menurun pada akhir perlakuan. Penurunan GDP pada akhir perlakuan pada penelitian ini disebabkan karena pemberian jus bawang bombay pada K2 dan K3 yang mempunyai peran sebagai antioksidan.

STZ menyebabkan kerusakan sel β pankreas di mana terjadi gangguan metabolisme berupa gangguan oksigenasi sel yang dalam waktu tertentu menyebabkan kerusakan bahkan kematian sel (Khaki et al., 2009). Quercetin yang ada dalam bawang bombay merupakan antioksidan poten yang mampu meningkatkan toleransi glukosa pada tikus DM yang diinduksi STZ dan meningkatkan aktifitas glukokinase hepar (insulin like effect) (Vessal et al., 2003), meningkatkan aktivitas enzim antioksidatif sebagai perlindungan terhadap DM (Coskum et al., 2005), serta meningkatkan potensi sekresi insulin dan melindungi fungsi sel β pankreas melawan stres oksidatif yang dipicu oleh peningkatan H_2O_2 (Youl et al., 2010).

Hasil analisis deskriptif GDP mencit pada hari ketujuh post induksi, dilakukan pengukuran GDP sebelum OGTT, 30 dan 60 menit sesudah OGTT. Gambaran yang didapatkan adalah peningkatan GDP mencit 30 menit setelah OGTT pada seluruh kelompok. Kadar gula darah mencit mencapai puncak 30 menit setelah pembebanan glukosa (Yamazaki et al., 2009). Pengamatan 60 menit setelah OGTT didapatkan penurunan GDP pada K0 serta peningkatan pada K1, K2 dan K3. Peningkatan GDP 60 menit setelah OGTT menunjukkan fase intoleransi glukosa pada mencit K1, K2 dan K3.

Awal pemberian terapi DM memerlukan waktu yang tepat agar terapi berhasil mengintervensi keadaan hiperglikemia. OGTT merupakan parameter yang digunakan untuk memulai terapi pada penelitian ini. OGTT dilakukan pada hari ketujuh post induksi STZ dosis rendah untuk mengetahui keadaan intoleransi glukosa. Beda kadar glukosa antara 30 sampai 60 menit post OGTT menunjukkan toleransi tubuh terhadap glukosa (kerja insulin). Respon pembebanan glukosa pada mencit mencapai puncak pada 30 menit dan kembali normal setelah 60 menit post OGTT. Kadar glukosa yang tidak turun (lebih tinggi atau sama dengan kadar glukosa menit ke-30) menunjukkan bahwa tubuh intoleran terhadap glukosa (early stage diabetic) (Yamazaki et al., 2009).

Gambaran Kualitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi STZ

Hasil analisis deskriptif pada motilitas spermatozoa mencit menunjukkan motilitas tertinggi ada pada K3 (mencit DM + jus bawang bombay 1 g/kgBB) sebesar 95,38 % dan terendah pada K1 (kontrol DM) sebesar 37,71%. Hal tersebut menggambarkan bahwa DM menyebabkan penurunan motilitas dan jus bawang bombay memperbaiki penurunan motilitas tersebut.

Motilitas adalah unsur yang penting dalam fertilisasi dan merupakan salah satu gambaran spermatozoa sehat. Motilitas spermatozoa penting untuk melewati hambatan alamiah serviks, daerah pertemuan utero tuba, isthmus, tuba fallopii dan saat penetrasi spermatozoa ke dalam sel telur (Hayati, 2007). Motilitas yang diperiksa pada penelitian ini adalah motilitas spermatozoa yang aktif dan progresif. Aktif berarti bergerak cepat, progresif berarti bergerak lurus maju ke depan.

Kelompok K3 yang diberi jus bawang bombay sebesar 1 g/kgBB merupakan kelompok dengan gambaran motilitas tertinggi, semakin besar dosis yang diberikan maka kandungan quercetin dalam jus bawang bombay akan lebih banyak dan lebih meningkatkan motilitas spermatozoa mencit. Induksi STZ pada kelompok K1 tanpa pemberian jus bawang bombay menyebabkan motilitas spermatozoa mencit rendah. STZ memicu stres oksidatif dengan adanya peningkatan ROS yang selanjutnya memicu kerusakan testis sehingga menurunkan kualitas spermatozoa, salah satunya adalah motilitas (Agarwal and Said, 2005).

PENUTUP

Kesimpulan

1. Pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ
2. Pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) dosis 0,5 g/kgBB dan 1 g/kgBB dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis toksik (lethal dose) jus bawang bombay untuk keamanan terapi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek jus bawang bombay (bisa dengan dosis yang berbeda atau tetap menggunakan dosis dalam penelitian ini) terhadap parameter lain yang berhubungan dengan kualitas spermatozoa seperti pemeriksaan hormon testosteron, sel leydig, sel sertoli, sel-sel spermatogenik maupun kadar FSH dan LH pada mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.