



Pengaruh Beta Glukan terhadap Kualitas Sperma Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Kuinin Sulfat

Effect of Beta Glucans on Sperm Quality of White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Quinine Sulfate

Mike Susianti*, Achadiyani, Sunardjati Sudigdo Adi

Anti-Aging dan Aesthetic Medicine, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

*email: myq25_dr@yahoo.com

Abstract

*Infertility is the failure of conception in couples who have been married for more than one year. One of the causes of male infertility is Reactive Oxygen Species (ROS). The increase in ROS causes a decrease in the enzymatic reaction of CAT and SOD resulting in damage to the spermatogenesis process and a decrease in sperm quality. Quinine Sulfate (KS) as an induction of infertility, triggers the formation of excess ROS in the male reproductive organs. The antioxidant activity of Beta Glucan (BG) is known to have the ability to reduce ROS production so increase CAT and SOD enzymatic reactions. To determine the effect of BG on the number, morphology, viability and motility of KS-induced Wistar rat sperm. An experimental study on 28 adult Wistar rats divided into 4 groups randomly and given treatment for 60 days. The control group (P0) received 0.5 ml aquades, group 1 (P1) QS 10 mg / kg bw / day, group 2 (P2) BG 50 mg / kg bw / day, group 3 (P3) QS 10 mg / kg bw / day and BG 50 mg / kg bw / day. Data were statistically analyzed with one way Anova / Kruskal-Wallis test and LSD post hoc test / Mann-Whitney test. In this study, it was found that there was a significant difference in the mean with p value <0.05 . In the P3 group, the administration of QS and BG at a dose of 50 mg / kg bw / day increased sperm count, improved the morphology, motility and viability of rat sperm compared to the P1 group which was only given KS. BG increase sperm count, improve the normal morphology of sperm, increase sperm viability, and increase sperm motility in QS induced adult wistar strain male rats (*Rattus norvegicus*)*

Keywords: beta glucan; quinine sulfate; Rattus norvegicus; ROS; sperm quality

Abstrak

Infertilitas merupakan kegagalan konsepsi pada pasangan yang telah menikah lebih dari satu tahun. Infertilitas pada pria salah satunya disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Peningkatan ROS menyebabkan terjadinya penurunan reaksi enzimatik CAT dan SOD sehingga terjadi kerusakan proses spermatogenesis dan penurunan kualitas sperma. Kuinin Sulfat (KS) sebagai induksi infertilitas, memicu terbentuknya ROS berlebih pada alat reproduksi pria. Aktivitas antioksidan dari *Beta Glucan* (BG) diketahui memiliki kemampuan untuk menurunkan produksi ROS sehingga meningkatkan reaksi enzimatik CAT dan SOD. Mengetahui efek BG terhadap jumlah, morfologi, viabilitas dan motilitas sperma tikus wistar yang diinduksi KS. Studi eksperimental pada 28 tikus dewasa galur Wistar dibagi 4 kelompok secara acak dan diberi perlakuan selama 60 hari. Kelompok kontrol (P0) diberi akuades 0,5 ml, kelompok 1 (P1) diberi Kuinin Sulfat 10 mg/kg bb/hari, kelompok 2 (P2) diberi BG 50 mg/kg bb/hari, serta kelompok 3 (P3) diberi KS 10 mg/kg bb/hari dan BG 50 mg/kg bb/hari. Analisis data menggunakan uji statistik *one way anova/Kruskal-Wallis* dan uji *post hoc* LSD / uji *Mann-Whitney*. Pada penelitian ini ditemukan adanya

perbedaan rerata yang bermakna dengan nilai p value < 0,05. Pada kelompok P3 pemberian KS dan BG dosis 50 mg/kg bb/hari dapat meningkatkan jumlah sperma, dan memperbaiki morfologi, motilitas dan viabilitas sperma tikus dibandingkan kelompok P1 yang hanya diberikan KS. Pemberian BG mampu meningkatkan jumlah sperma, memperbaiki morfologi sperma, meningkatkan viabilitas dan motilitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa galur wistar yang diinduksi KS.

Kata Kunci : beta glukan; kualitas sperma; kuinin sulfat; *Rattus norvegicus*; ROS

PENDAHULUAN

Infertilitas adalah kegagalan konsepsi pada pasangan yang telah menikah lebih dari satu tahun dan tidak menghasilkan keturunan. Infertilitas terbagi atas primer dan sekunder. Infertilitas primer terjadi bila pasangan belum pernah memiliki keturunan, sedangkan infertilitas sekunder apabila pasangan pernah memiliki keturunan kemudian tidak mengalami kehamilan lagi (Evans, 2017 dan Speroff L, 2010).

World Health Organization (WHO) sekitar 60-80 juta pasangan subur di seluruh dunia memiliki masalah infertilitas dan meningkat 1 sampai 3 juta setiap tahun (Menkveld R, 2010). Berdasarkan Badan Pusat Statistik (BPS) 2015 dari total 237 juta penduduk Indonesia, terdapat 39,8 juta wanita usia subur, dan sebanyak 10-15% dinyatakan infertil. Berdasarkan data di atas, maka diperkirakan sebanyak 4 sampai 6 juta pasangan di Indonesia memerlukan terapi untuk mendapatkan keturunan (Badan Pusat Statistik, 2013).

Infertilitas sebanyak 40% disebabkan oleh wanita, 20% oleh pria dan 40% lainnya disebabkan oleh faktor pria dan wanita. Penyebab infertilitas wanita disebabkan oleh 27,4% kerusakan pada tuba falopi, 20% gangguan menstruasi, 9,1% kelainan pada endometrium, 2,7% gangguan seksual, dan 45,5% pada wanita perokok (Zoe R, 2009). Penelitian ahli andrologi di Eropa pada tahun 2011 menjelaskan bahwa penyebab infertilitas pria 25% disebabkan oleh varikokel, 10% akibat infeksi, 5% karena faktor imunologis, 20% disebabkan oleh kelainan endokrin, iatrogenik (infeksi akibat tindakan medis seperti pemasangan kateter), trauma, obat-obatan, dan kelainan sistemik (Dohle G.R, 2010). Pada 30-40% kasus, tidak ditemukan kelainan penyebab dari infertilitas pada pria. Pada kasus ini pria tidak memiliki riwayat penyakit yang mempengaruhi fertilitas, tidak ditemukan kelainan pada pemeriksaan fisik, serta pemeriksaan laboratorium endokrin, genetik, dan biokimia. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti gangguan endokrin akibat polusi lingkungan, *reactive oxygen species* (ROS), atau gangguan genetik (Wagner, H, 2017). Tingginya kadar ROS pada sperma menyebabkan 40,88% sampai 80% dari kasus infertilitas pada pria (Bui A. D, 2018).

Kerusakan oksidatif terjadi saat produksi ROS mengganggu mekanisme pertahanan oksidan (Izyumov DS, 2010). ROS merupakan penyebab sitotoksik pada spermatozoa (Makker K, 2009). Peningkatan produksi ROS diakibatkan oleh proses sintesis *protein uncoupling* pada epididimis, sehingga terjadi penurunan reaksi enzimatik CAT dan SOD yang menyebabkan terbentuknya H_2O_2 dan NO yang toksik (Berry J, 2018). Aktivitas SOD dan CAT yang menurun secara signifikan menyebabkan kerusakan proses spermatogenesis dan menghasilkan penurunan kualitas sperma (O'Flaherty C, 2014).

Kualitas sperma normal dinilai dari parameter sperma yaitu jumlah, morfologi, motilitas, dan viabilitas sperma. Kualitas sperma normal (normozoosperma) yaitu jumlah volume semen 1,5 ml (1,4-1,7), jumlah sel sperma total 39 juta per ejakulasi (33-46), konsentrasi sperma 15 juta (12-16), spermatozoa yang bergerak cepat 32% (31-34), viabilitas spermatozoa yang

hidup 58% (55-63), bentuk morfologi normal spermatozoa 4% (3-4), pH 7,2 -7,8 (WHO, 2010).

Penelitian ini, peneliti menggunakan model tikus percobaan sebagai induksi infertilitas yang diberikan Kuinin sulfat (Osinubi AA, 2007). Berdasarkan penelitian Farombi dkk (2012), dinyatakan bahwa pemberian kuinin sulfat jangka pendek dengan dosis 10 mg/kg BB/hr (dosis terapeutik normal) pada tikus percobaan selama 8 minggu menyebabkan toksisitas spermatogenik epitel tubulus seminiferus dan jaringan interstitium testis sehingga mengganggu steroidogenik fungsi sel Leydig. Populasi sel spermatogonia menurun sekitar 49-50%. KS menyebabkan kerusakan pertahanan antioksidan testis yang ditandai dengan penurunan reaksi enzimatis *Catalase* (CAT) dan *Superoxide dismutase* (SOD), sehingga elektron keluar dari mitokondria meningkatkan produksi radikal bebas. Kemudian radikal bebas ini menyerang sel germinal dalam tubulus seminiferus yang mengarah apoptosis secara luas dan gangguan spermatogenesis. Pemberian KS menyebabkan abnormalitas bentuk sperma, menurunkan jumlah sperma, motilitas dan viabilitas yang merupakan indikator utama dari kualitas sperma (Farombi EO, 2012).

Antioksidan merupakan pertahanan alami melawan kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas (Walczak JR, 2013). Beta glukon (BG) merupakan salah satu antioksidan yang bekerja dengan mengikat radikal bebas dan melindungi sel dari kematian yang disebabkan oleh stres oksidatif (Kofuji K, 2012). Beta Glukan (BG) dapat menurunkan produksi ROS, sehingga terjadi peningkatan reaksi enzimatis CAT dan SOD (Hua Zhang, 2017).

Beta Glukan merupakan kelompok heterogen alami polisakarida, terdiri dari monomer D-glukosa yang terhubung oleh ikatan glikosidik β , yang terdapat pada dinding sel bakteri, jamur dan ragi, yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan energi (Rahar S, 2011). Terdapat dua jenis Beta Glukan yaitu beta 1,3/1,4 D-glukan dan beta 1,3/1,6 D-glukan. Beta 1,3/1,4 D-glukan terdapat pada sereal dan gandum, sedangkan beta 1,3/1,6 D-glukan terdapat pada jamur dan ragi (Feng MZ, 2015). Beta Glukan tidak menimbulkan toksisitas dan efek samping, dan telah dibuktikan sebagai antiinflamasi, antikanker, antimikroba, mengurangi kadar kolesterol darah dan meningkatkan respon insulin (Haggard L, 2013).

Penelitian Aid dkk(2016) di turki diketahui bahwa Beta Glukan merupakan antioksidan. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan model tikus percobaan sebagai induksi hepatotoksik yang diberikan asetaminofen. Pemberian BG pada tikus dosis 50 mg/kg BB/hr, terbukti dapat meningkatkan kadar enzim SOD dan CAT (Mustafa SA, 2015). Berdasarkan penelitian Hua zhang dkk. di Cina, tahun 2017 diketahui bahwa pemberian ekstrak beta glukon 1,3/ 1,6 dari jamur *Saccharomyces cerevisiae*, terbukti dapat meningkatkan kadar enzim SOD dan CAT (Hua Zhang, 2017). Saat ini belum ada penelitian ilmiah yang dilakukan mengenai pengaruh pemberian BG terhadap kualitas sperma.

Tikus putih galur Wistar memiliki organ, fisiologi, dan gen yang mirip dengan manusia sehingga banyak digunakan sebagai model patogenesis suatu penyakit (Olayaki L, 2008). Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai efek BG terhadap jumlah, morfologi, viabilitas dan motilitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa galur wistar yang diinduksi KS.

METODE

Bahan

1. Tikus putih(*Rattus norvegicus*) galur wistar
2. Beta glukon 50 mg/kg BB/hr, diproduksi oleh Solgar USA® merupakan suplemen nutrisi yang terdiri dari beta 1,3/1,6 glukon berasal dari dinding sel jamur *Saccharomyces cerevisiae* dan *Glazingagents (hydroxypropylmethyl*

cellulose, vegetable glycerin) untuk melindungi BG selama melewati saluran cerna.

3. Kuinin sulfat 10 mg/kg BB/hr
4. Makanan tikus berupa pellet dan air minum.
5. Aquabides pro-injeksi, PBS (*phospat buffered saline*), zat warna eosin, giemsa 3%, metanol 70-100%.

Cara Kerja

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap dan menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian. Subjek penelitian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3). Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung dari bulan November 2018 sampai Januari 2019. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 28 ekor tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) berumur 10 - 12 minggu dengan berat badan 200 - 250 gram, dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0) tanpa perlakuan, hanya diberi pellet dengan aquades 0,5 ml, kelompok perlakuan 1 (P1) diberi KS 10 mg/kg BB/hr, kelompok perlakuan 2 (P2) diberi BG 50 mg/kg BB/hr, kelompok perlakuan 3 (P3) diberi KS 10 mg/kg BB/hr setelah itu diberi BG 50 mg/kg BB/hr. Semua perlakuan selama 60 hari. Pada akhir perlakuan, tikus di *euthanasia* dengan kloroform secara inhalasi kemudian dibedah dengan dissecting kit untuk diambil cauda epididimis dan distal vas deferensnya untuk mengeluarkan spermatozoa. Suspensi sperma dari cauda epididimis ini yang dimasukkan ke dalam gelas arloji yang berisi PBS, dan dilakukan pembedahan dengan skalpel. Suspensi sperma yang telah homogen diambil dengan pipet tetes (50 μ L), dimasukkan/ diteteskan ke dalam kotak hemositometer/*improved* Neubauer dan ditutup dengan gelas penutup. Untuk pengamatan kualitas spermatozoa hewan coba meliputi jumlah spermatozoa, morfologi spermatozoa, motilitas dan viabilitas spermatozoa. Selanjutnya dilakukan pengamatan masing-masing perlakuan (K0, P1, P2, P3) pada mikroskop.

Pengumpulan sampel

Sampel/hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar berjenis kelamin jantan dewasa berusia sekitar 10-12 minggu, dan memiliki berat badan 200-250 gram. Jumlah hewan coba digunakan sebanyak 28 ekor, dengan 4 kelompok perlakuan, sehingga masing-masing 7 ekor untuk setiap kelompok perlakuan.

Analisis statistik

Pada akhir penelitian, antara kelompok 1, 2, 3 dan 4 yaitu P0, P1, P2, P3 dilakukan dengan uji Analisa statistik dimulai dengan melakukan uji normalitas menggunakan uji *Sapphiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50, dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Bila hasil kedua uji tersebut memiliki nilai $p > 0,05$ berarti data berdistribusi normal dan homogen, maka data akan dianalisa menggunakan uji parametrik *one-way ANOVA*. Bila salah satu uji atau kedua uji memiliki nilai $p < 0,05$ berarti data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, maka data akan dianalisa menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*.

Bila hasil uji statistik *one-way ANOVA* signifikan, yaitu nilai $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji LSD (*Least Significant Difference test*). Jika hasil uji *Kruskal-Wallis* bermakna (nilai $p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Mann-Whitney*. Uji lanjut LSD maupun *Mann-Whitney*

bertujuan untuk mengetahui signifikansi antara dua kelompok perlakuan, yaitu antara P₀ dengan P₁, P₀ dengan P₂, P₀ dengan P₃, P₁ dengan P₂, P₁ dengan P₃, dan P₂ dengan P₃.

P₀= Tikus kelompok kontrol (Pellet+akuades 0,5 ml)

P₁= Tikus kelompok I yang diinduksi KS(KS 10 mg/kg bb/hr+akuades 0,5 ml)

P₂= Tikus kelompok II yang diberi BG(BG 50 mg/kg bb/hr+akuades 0,5 ml)

P₃= Tikus kelompok III yang diberi KS dan BG(KS 10 mg/kg bb/hr+akuades 0,5 ml kemudian diberikan BG 50 mg/kg bb/hr+akuades 0,5 ml)

HASIL DAN PEMBAHASAN

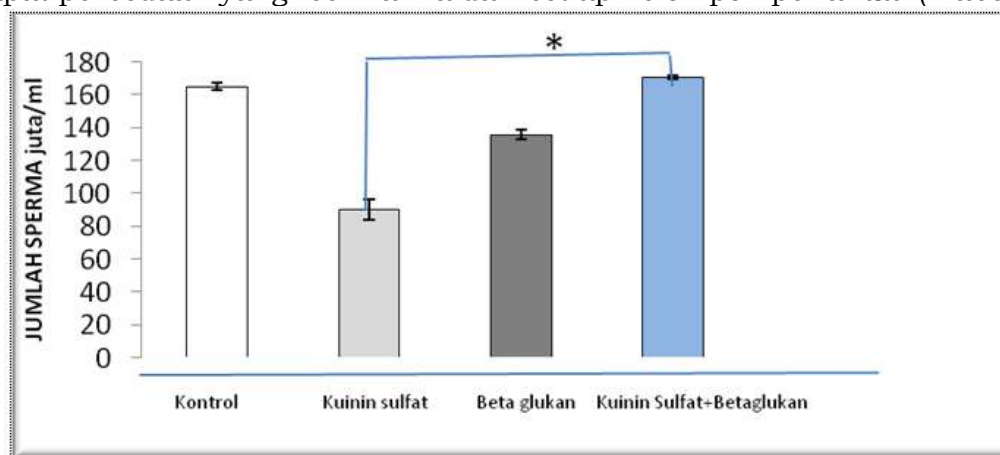
1. Analisis perbandingan jumlah sperma pada kelompok perlakuan

Tabel 1. Perbandingan Rerata Jumlah Sperma (juta/ml) Tikus Wistar pada Kelompok P₀, P₁, P₂, P₃

Variabel	Kelompok	N	Mean±Std	Nilai p
Jumlah Sperma (Juta)	P ₀	7	165.0±2.0	0,000*
	P ₁	7	90.1±6.1	
	P ₂	7	135.9±2.8	
	P ₃	7	170.7±1.3	

Keterangan : data berdistribusi normal dengan uji *Kruskal Wallis*. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0.05$. Tanda* menunjukkan nilai $p < 0.05$ artinya signifikan atau bermakna secara statistik. P₀= Kontrol, P₁=+Kuinin Sulfat, P₂=+Beta Glukan, P₃=+Kuinin sulfat dan Beta Glukan

Analisis ini dilakukan menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal, uji ini untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan. Hasil pengujian *Kruskal wallis* didapatkan $p=0,00$ ($p \text{ value} < 0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan (Tabel 1)



Gambar 1. Perbandingan Rerata Jumlah Sperma (juta/ml) Tikus Wistar pada Kelompok P₀, P₁, P₂, P₃

Terdapat perbedaan rerata jumlah sperma yang bermakna dengan nilai $p \text{ value} < 0,05$. antara kelompok yang hanya diberikan KS saja dengan kelompok KS yang ditambahkan BG (Gambar 1). Pada kelompok P₃ pemberian KS dan BG dosis 50 mg/kgbb/hari dapat meningkatkan jumlah sperma tikus dibandingkan kelompok P₁ yang hanya diberikan KS. Hal ini disebabkan antioksidan BG dapat mengikat radikal bebas, sehingga melindungi sel sperma dari kerusakan oksidatif. Pemberian KS menyebabkan peningkatan radikal bebas sehingga terjadi penurunan jumlah enzim SOD dan CAT (Farombi EO, 2012). Pada kelompok KS yang diberi BG (KS+BG) terbukti jumlah sperma meningkat, peningkatan jumlah sperma setelah diberi BG disebabkan mekanisme kerja

antioksidan BG meningkatkan enzim SOD dan CAT di sel Sertoli dan sel Leydig (Farombi EO, 2012). SOD adalah enzim yang membantu mengatur kadar superoksida dalam tubuh dengan mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida (Walczak JR, 2013). Hidrogen peroksida kemudian dinetralkan oleh CAT (Walczak JR, 2013). Beta Glukan merupakan salah satu antioksidan yang bekerja dengan mengikat radikal bebas dan mempertahankan membran sel (Kofuji K, 2012). Menurut penelitian Mustafa aid dkk. tahun 2016 di Turki diketahui bahwa BG merupakan antioksidan. Pemberian Beta Glukan pada tikus dosis 50 mg/kg BB/hr, terbukti dapat meningkatkan kadar enzim SOD dan CAT.

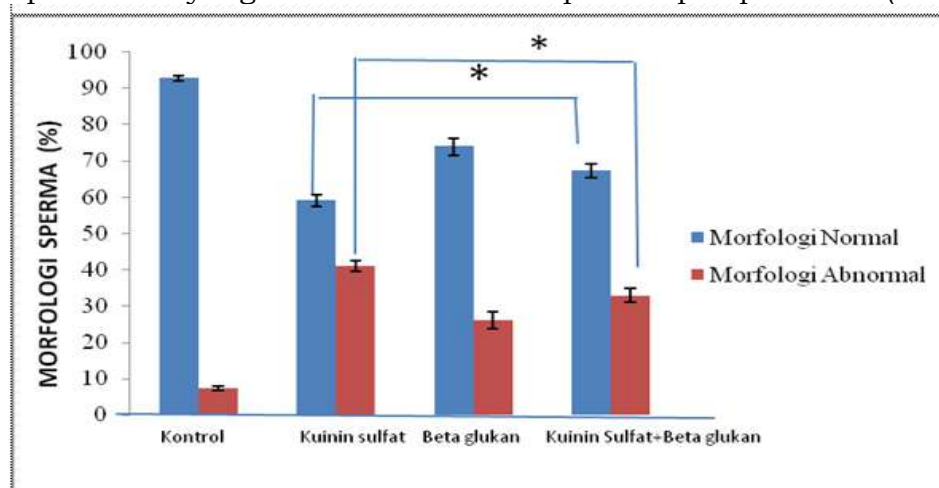
2. Analisis perbandingan morfologi sperma pada kelompok perlakuan

Tabel 2. Perbandingan Rerata Morfologi Sperma Tikus Wistar pada Kelompok P0, P1, P2, P3

Variabel	Kelompok	N	Mean±Std	Nilai p
Morfologi Normal	P ₀	7	92.6±1.8	0,000*
	P ₁	7	59.0±4.1	
	P ₂	7	73.9±6.2	
	P ₃	7	67.1±5.1	
Morfologi Abnormal	P ₀	7	7.4±1.9	0,000*
	P ₁	7	41.0±4.1	
	P ₂	7	26.1±6.2	
	P ₃	7	32.9±5.1	

Keterangan : data berdistribusi normal dengan uji one-way ANOVA . Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0.05$. Tanda* menunjukkan nilai $p < 0.05$ artinya signifikan atau bermakna secara statistik. P₀= Kontrol , P₁=+Kuinin Sulfat, P₂=+Beta Glukan, P₃=+Kuinin sulfat dan Beta Glukan

Analisis ini dilakukan menggunakan uji one-way ANOVA karena data berdistribusi normal, uji ini untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan. Hasil pengujian one-way ANOVA didapatkan $p = 0,00$ ($p \text{ value} < 0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan (Tabel 2)



Gambar 2. Grafik Perbandingan Rerata Morfologi Sperma Tikus Wistar pada Kelompok P0, P1, P2, dan P3.

Terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara variable morfologi sperma kelompok yang hanya diberikan KS saja dengan kelompok KS yang

ditambahkan BG (Gambar 2). Pada kelompok P3 pemberian KS dan BG dosis 50 mg/kgbb/hari dapat memperbaiki morfologi sperma tikus dibandingkan kelompok P1 yang hanya diberikan KS. Hal ini disebabkan antioksidan Beta Glukan memberikan efek perlindungan terhadap morfologi sperma dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh KS. Beta Glukan meningkatkan enzim SOD dan CAT, sehingga mampu memperbaiki proses spermatogenesis dan steroidogenesis (Walczak JR, 2013). Pemberian KS menyebabkan peningkatan stres oksidatif, dan penurunan enzim SOD dan CAT pada sperma sehingga menghambat proses spermatogenesis dan steroidogenesis (Osinubi AA, 2007). Meningkatnya bentuk spermatozoa yang abnormal dapat terjadi karena berbagai macam gangguan dalam proses spermatogenesis terutama pada tahap spermiogenesis (Osinubi AA, 2007). Spermatogenesis dapat terjadi melalui beberapa tahap pembelahan. Tahap awalnya spermatogonia akan mengalami perubahan menjadi spermatosit primer, kemudian menjadi spermatosit sekunder dan menjadi spermatid (Tortora GJ, 2014). Sebelum spermatid menjadi spermatozoa ada fase yang dilewati spermatid yang disebut fase spermiogenesis (Tortora GJ, 2014). Fase ini terdiri dari fase golgi, tutup, akrosom dan pematangan bertujuan untuk membentuk morfologi normal spermatozoa yang terdiri dari kepala, leher dan ekor yang normal (Guyton A.C, 2012). Peningkatan abnormalitas morfologi ini dapat disebabkan karena adanya pemberian KS yang mengganggu jalannya spermatogenesis dan steroidogenesis (Guyton A.C, 2012). Hormon testosteron sangat diperlukan untuk mengawali, mempertahankan proses spermatogenesis, serta mempertahankan kualitas spermatozoa termasuk morfologi sperma (Guyton A.C, 2012). Hal ini sesuai dengan penelitian Hua zhang dkk. di Cina, tahun 2017 diketahui bahwa pemberian ekstrak beta glukan 1,3/ 1,6 dari jamur *Saccharomyces cereviciae*, terbukti dapat meningkatkan kadar enzim SOD dan CAT (Hua Zhang, 2017).

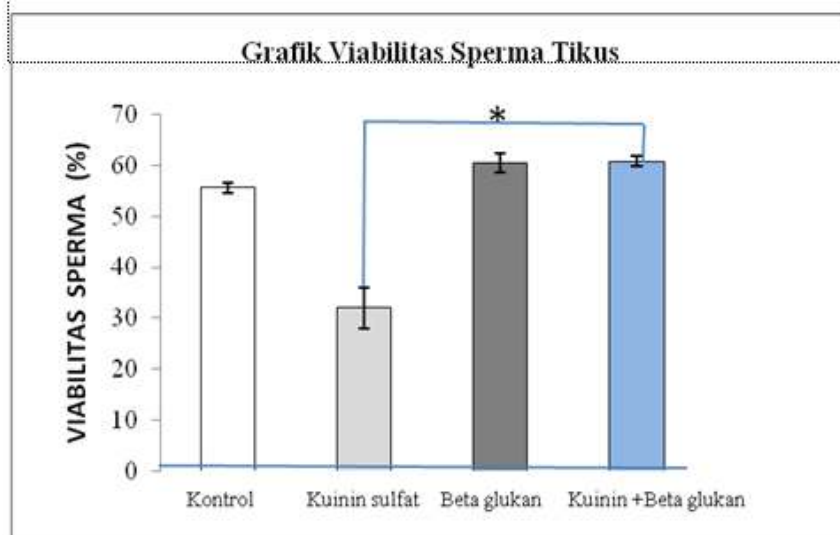
3. Analisis perbandingan viabilitas sperma pada kelompok perlakuan

Tabel 3. Perbandingan Rerata Viabilitas Sperma Tikus Wistar pada Kelompok P0, P1, P2, P3

Variabel	Kelompok	N	Mean±Std	Nilai p
Viabilitas	P ₀	7	55,6±1,1	0,001*
	P ₁	7	32,0±4,0	
	P ₂	7	60,5±1,9	
	P ₃	7	60,7±1,0	

Keterangan : data berdistribusi normal dengan uji *Kruskal Wallis*. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0.05$. Tanda* menunjukkan nilai $p < 0.05$ artinya signifikan atau bermakna secara statistik. P0= Kontrol , P1=+Kuinin Sulfat, P2=+Beta Glukan, P3=+Kuinin sulfat dan Beta Glukan

Analisis ini dilakukan menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal, uji ini untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan. Hasil pengujian *Kruskal wallis* didapatkan $p = 0,00$ ($p \text{ value} < 0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan(Tabel 3)



Gambar 3. Perbandingan Rerata Viabilitas Sperma Tikus Wistar pada Kelompok P0, P1, P2, dan P3

Terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara variable viabilitas sperma kelompok yang hanya diberikan KS saja dengan kelompok KS yang ditambahkan BG (Gambar 3). Pada kelompok P3 pemberian KS dan BG dosis 50 mg/kgbb/hari dapat meningkatkan viabilitas sperma tikus dibandingkan kelompok P1 yang hanya diberikan KS. Hal ini disebabkan antioksidan Beta Glukan meningkatkan enzim SOD dan CAT, sehingga BG mampu memperbaiki proses steroidogenesis (Kofuji K, 2012). Dengan adanya penurunan jumlah spermatozoa yang hidup oleh KS, disebabkan terganggunya proses steroidogenesis sehingga mengakibatkan penurunan hormon testosteron oleh sel leydig yang berperan dalam menjaga kelangsungan hidup spermatozoa di dalam epididimis. Kemampuan BG dalam meningkatkan enzim antioksidan SOD dan CAT dapat memperbaiki proses steroidogenesis sehingga terjadi peningkatan hormon testosteron yang menjaga kelangsungan hidup sperma (Kofuji K, 2012). Pada kelompok KS yang diberi BG (KS+BG) terbukti viabilitas sperma meningkat. Hal ini sesuai penelitian yang dilakukan oleh Ayumi Aoki dkk pada tahun 2014, BG efektif meningkatkan aktivitas enzim SOD dan CAT, dimana enzim tersebut dapat memperbaiki proses steroidogenesis sehingga produksi hormon testosteron yang berfungsi untuk kelangsungan hidup sperma pun meningkat.

4. Analisis perbandingan motilitas sperma pada kelompok perlakuan

Tabel 4. Perbandingan Rerata Motilitas Sperma Tikus Wistar pada Kelompok P0, P1, P2, P3

Variabel	Kelompok	N	Mean±Std	Nilai p
Cepat progresif	P ₀	7	41,4±1,0	0,000*
	P ₁	7	16,9±1,1	
	P ₂	7	36,6±0,9	
	P ₃	7	41,6±0,6	
Tidak progresif	P ₀	7	23,9±1,1	0,000*
	P ₁	7	50,6±0,8	
	P ₂	7	23,4±1,4	
	P ₃	7	24,6±1,3	

Keterangan : data berdistribusi normal dengan uji one-way ANOVA . Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0.05$. Tanda* menunjukkan nilai $p < 0.05$ artinya signifikan atau bermakna secara statistik. P0= Kontrol , P1=+Kuinin Sulfat, P2=+Beta Glukan, P3=+Kuinin sulfat dan Beta Glukan

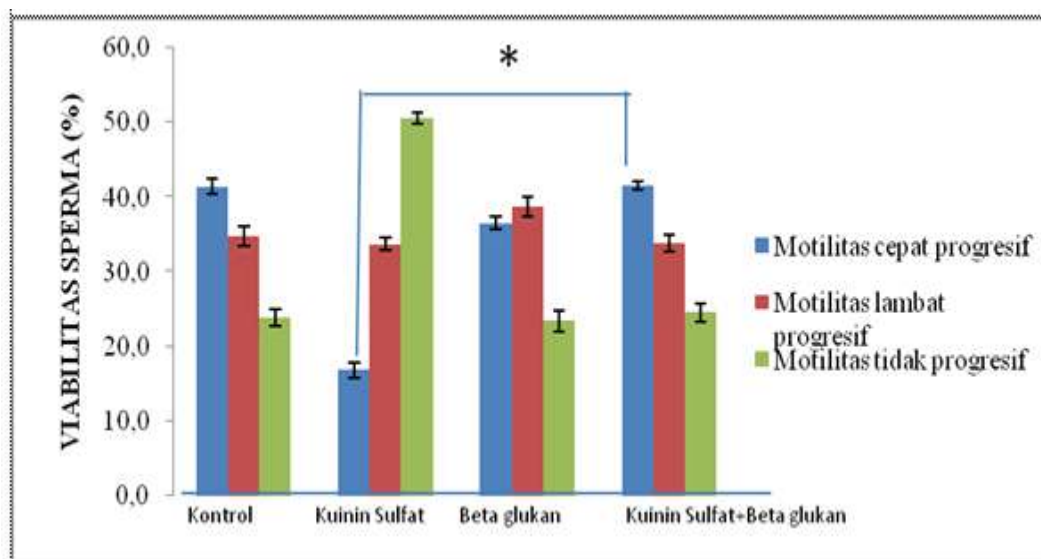
Analisis ini dilakukan menggunakan uji one-way ANOVA karena data berdistribusi normal, uji ini untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan. Hasil pengujian one-way ANOVA didapatkan $p=0,00$ ($p \text{ value} < 0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan (Tabel 4.1)

Tabel 5 Perbandingan Rerata Motilitas Lambat Sperma Tikus Wistar pada Kelompok P0, P1, P2, P3

Variabel	Kelompok	N	Mean±Std	Nilai p
Motilitas Lambat progresif	P ₀	7	34.7±1.3	0,059
	P ₁	7	33.7±0.9	
	P ₂	7	38.7±1.3	
	P ₃	7	33.9±1.1	

Keterangan : data berdistribusi normal dengan uji *Kruskal Wallis*. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Tanda* menunjukkan nilai $p > 0,05$ artinya tidak signifikan atau tidak bermakna secara statistik. P₀= Kontrol, P₁=+Kuinin Sulfat, P₂=+Beta Glukan, P₃=+Kuinin sulfat dan Beta Glukan

Analisis ini dilakukan menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal, uji ini untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan. Hasil pengujian *Kruskal wallis* didapatkan $p=0,059$ ($p \text{ value} > 0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok perlakuan (Tabel 5)



Gambar 4. Perbandingan rerata motilitas cepat, motilitas lambat, dan motilitas tidak bergerak spermatis tikus wistar pada kelompok P0, P1, P2, dan P3

Terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara variable motilitas spermatis cepat progresif dan motilitas spermatis tidak progresif pada kelompok yang hanya diberikan KS saja dengan kelompok KS yang ditambahkan Beta Glukan (Gambar 4), sedangkan tidak terdapat perbedaan rerata yang signifikan untuk variable motilitas lambat progresif pada kelompok yang hanya diberikan KS saja dengan kelompok KS yang ditambahkan Beta Glukan (Gambar 4). Spermatis yang diperlukan untuk fertilisasi adalah spermatis motilitas cepat progresif. Dengan kemampuan Beta Glukan meningkatkan enzim SOD dan CAT mampu menurunkan ROS pada mitokondria sehingga memperbaiki fungsi mitokondria untuk menghasilkan ATP yang berguna untuk motilitas spermatis bergerak cepat progresif menembus ovum untuk fertilisasi (Kofuji K, 2012). Pemberian KS

menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa, hal ini diakibatkan aktivitas KS meningkatkan ROS sehingga mengganggu kemampuan mitokondria untuk menghasilkan ATP sebagai sumber energi sperma untuk bergerak cepat menuju ovum untuk fertilisasi (Farombi EO, 2012). Beta Glukan mengandung enzim SOD dan CAT sehingga mampu meningkatkan ROS, hal ini sesuai dengan penelitian Hua zhang dkk. di Cina, tahun 2017, pemberian ekstrak beta gluklan 1,3/ 1,6 dari jamur *Saccharomyces cereviciae*, meningkatkan kadar enzim SOD dan CAT (Hua Zhang, 2017) dan pada penelitian Djanggan sargowo dkk di Malang pada tahun 2017, Beta Glukan banyak mengandung enzim anti oksidan SOD dan CAT (Djanggan Sargowo, 2017). Penelitian ini masih memiliki keterbatasan yaitu durasi pemberian Beta Glukan yang singkat sehingga peningkatan kualitas sperma tidak maksimal.

PENUTUP

Kesimpulan dari penelitian ini bahwa pemberian BG terjadi peningkatan secara signifikan yaitu dapat meningkatkan jumlah sperma, memperbaiki morfologi normal sperma, meningkatkan viabilitas sperma, serta dapat meningkatkan motilitas sperma pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa galur wistar yang diinduksi KS. Dari hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan durasi pemberian Beta Glukan yang lebih lama (6 bulan).

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia. 2012. Jakarta. 2013; hal. 25-26.
- Berry J, Trewin A, Amitrano M. *Use the protonmotive force: Mitochondrial uncoupling and reactive oxygen species*. Journal of molecular biology. 2018; 122(4): 236-32.
- Bui, A. D., Sharma, R., Henkel, R., & Agarwal, A. *Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility*. Andrologia. 2018; 10(2): 47-52.
- Djanggan Sargowo, Nadia Ovianti. *The role of polysaccharide peptide of ganoderma lucidum as a potent antioxidant against atherosclerosis in high risk and stable angina patients*. Indian Heart Journal. 2017; 610-613.
- Dohle G.R. *Guidelines on male infertility*. European Association of Urology (diunduh 14 Desember 2020), tersedia dari: <http://male/infertility/org.uk>. 2010; 24(1): 1-17.
- Evans, Timothy J. *Reproductive anatomy and physiology*. Dalam: Ganjam, Vekataseshu K, editor. *Reproductive and Developmental Toxicology*. Edisi ke-2. 2017. hlm. 7-37.
- Farombi EO, Ekor M, Adedara IA, Tonwe KE, Ojugh TO, Oyeyemi MO. *Quercetin protects against testicular toxicity induced by chronic administration of therapeutic dose of quinine sulfate in rats*. Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. 2012; 23(1): 39-44.
- Feng MZ, Bhin Du. *B glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities*. Article in Journal of Food Composition and Analysis. March 2015; 5(3): 54-58.
- Guyton A.C *Reproductive and hormonal functions of the male and the pineal gland*. Philadelphia: WB. Saunders. 2012; 916-921.
- Haggard L, Andersson M, Punga AR. *B glucans reduce LDL cholesterol in patients with myasthenia gravis*. European journal of clinical nutrition. 2013; 67(2): 226.
- Hua Zhang, Jing Zhang, Ziluan Fan, Xintao Zhou, Lin Geng, Zhenyu Wang, Joe M. Regenstein, Zhiqiang Xia. *Chemical Synthesis of Sulfated Yeast*

- (*Saccharomyces cerevisiae*) Glucans and Their In Vivo Antioxidant Activity. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017; 44: 70–74.
- Izyumov DS, Domnina LV, Nepryakhina OK. *Mitochondria as Source of reactive oxygen species under oxidative stress.* *Biochemistry.* Moscow. 2010; 75(2): 123 – 129.
- Kofuji K, Aoki A, Tsubaki K, Konishi M, Isobe T, Murata Y. *Antioxidant activity of β -glucan.* *ISRN pharmaceutics.* 2012;121(2): 123-200.
- Makker K, Agarwal A, Sharma R. *Oxidative stress and male infertility.* *Indian J Med Res.* 2009; 129(2): 357 – 67.
- Menkveld R. *Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen.* *Asian journal of andrology.* 2010; 12(1): 47.
- Mustafa SA, Alaaddin P, Nigar V, M. *Protective effects of melatonin and β -D-glucan against acetaminophen toxicity in rats.* *Journal of food composition and analysis.* 2015; 14(2): 165-173.
- O’Flaherty C. *The Enzymatic Antioxidant System of Human Sperma.* *Basic Clin. Androl.* 2014; 24(4): 122-134.
- Olayaki L, Soladoye A, Salman T, Joraiah B. *Effects of photoperiod on testicular functions in male sprague-dawley rats.* *Nigerian Journal of Physiological Sciences.* 2008;23(10): 1-32.
- Osinubi AA, Daramola AO, Noronha CC, Okanlawon AO, Ashiru OA. *The effect of quinine and ascorbic acid on rat testes.* *West Afr J Med.* 2007; 26: 217–21.
- Rahar S, Swami G, Nagpal N, Nagpal MA, Singh GS. *Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans.* *Journal of advanced pharmaceutical technology & research.* 2011; 2(2): 94-102.
- Speroff L, Fritz MA. *Couple infertility.* Dalam: Baltimore M, William& Wilkins, editor. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility.* Edisi ke-8. 2010. hlm. 56-1013.
- Tortora GJ, Derrickson BH. *Principles of anatomy and physiology.* 14th edition. United States of America: Willey. 2014;32(3): 2-25.
- Wagner, H., Cheng, J. W., & Ko, E. Y. *Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature.* *Arab Journal of Urology.* 2017; 15(2): 2-17.
- Walczak JR, Wolski JK, Slowikowska HJ. *The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility.* *Cent. Eur. J. Urol.* 2013; 66: 60–67.
- World Health Organization (WHO). *Who Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen 5th E.D.* Switzerland. 2010; 120: 22-237.
- Zoe R. *Causes of infertility in women at reproductive age.* *Health Science Journal.* 2009;3(2): 32-45.