

PENGARUH NIKOTIN TERHADAP KADAR MALONILDIALDEHID (MDA) SERUM DAN KEBERHASILAN FERTILISASI *IN VITRO* PADA *RATTUS NOVERGICUS* DI FK. UNAIR SURABAYA

Sumiati

Dosen Prodi D-III Kebidanan Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini untuk mempelajari pengaruh nikotin terhadap kadar *MDA serum* dan keberhasilan fertilisasi *in vitro* pada *Rattus novergicus*. Rancangan penelitian ini adalah eksperimental dengan *post test only control group design*. Subjek penelitian terdiri dari 4 kelompok (36 ekor tikus) yang dipilih secara acak dan homogen. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok kontrol (K0), kelompok perlakuan yang diberikan injeksi nikotin subkutan selama 7 hari dengan dosis 70 mg/Kg BB (K1), 52,5 mg/kgBB (K2) dan 35 mg/kgBB (K3). Hasil yang diamati adalah adanya badan polar II/sigot 2 sel. Hasil uji *one way Anova* adalah terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil uji BNT kadar *MDA serum* adalah terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara K0 dan K1, kelompok K0 dan K2, K1 dan K2, serta K1 dan K3. Angka keberhasilan fertilisasi tidak dapat dilakukan uji statistik karena seluruh data menunjukkan 100% berhasil. Dengan demikian tidak dapat dilakukan uji hubungan antara kadar *MDA serum* dengan angka keberhasilan fertilisasi.

Kesimpulan penelitian ini adalah nikotin dapat menyebabkan peningkatan kadar *MDA serum* tapi belum dapat mempengaruhi fertilisasi sehingga sehingga tidak dapat menghubungkan antara kadar *MDA serum* dengan angka keberhasilan fertilisasi.

Kata kunci: nikotin, *MDA serum*, keberhasilan fertilisasi.

Pendahuluan

Indonesia adalah salah satu negara konsumen tembakau terbesar di dunia dan menempati urutan ketiga diantara negara-negara dengan tingkat agregat konsumsi tembakau tertinggi di dunia. Urutan 10 negara konsumsi tembakau dari yang tertinggi adalah Cina, India, Indonesia, Rusia, Amerika Serikat, Jepang, Brazil, Bangladesh, Jerman dan Turki (WHO, 2008).

Prevalensi merokok yang diperoleh dari laporan WHO (2008) berdasarkan statistik perokok dari kalangan anak-anak dan remaja adalah : pria (24,1%), wanita (4,0%) atau 13,5% anak/remaja, sedangkan dari kalangan dewasa : pria dewasa merokok (63%), wanita dewasa (4,5%) atau 34% perokok dewasa. Gabungan antara perokok kalangan anak, remaja, dan dewasa di Indonesia sekitar 27,6%, artinya setiap 4 orang Indonesia terdapat 1 orang perokok.

Hampir sebagian besar perokok tahu kalau merokok dapat membahayakan kesehatan, tapi bahaya tersebut tidak dipedulikan bahkan jumlah perokok semakin lama semakin meningkat termasuk dikalangan wanita. Wanita yang merokok

tidak hanya membahayakan dirinya, tetapi juga mempengaruhi sistem reproduksi, sebab dalam 1 batang rokok mengandung 4000 bahan kimia. Bahan kimia tersebut dibagi menjadi 3 golongan yaitu nikotin, tar dan karbonmonoksida. Salah satu dampak terhadap reproduksi wanita adalah infertilitas (Rahmi, 2008). Infertilitas didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana selama 1 tahun melakukan hubungan seksual tanpa perlindungan dengan alat kontrasepsi tetap tidak dapat menghasilkan konsepsi (Speroff dan Frits, 2005).

Memperhatikan jumlah perokok yang semakin meningkat sehingga pemerintah Kota Surabaya mengeluarkan Peraturan Daerah No. 5 Tahun 2008 tentang kawasan tanpa rokok dan kawasan terbatas merokok. Masyarakat yang melanggar peraturan tersebut akan dikenakan sanksi berupa kurungan 3 bulan penjara atau denda sebesar Rp 50 juta (Pemkot Surabaya, 2008).

Komponen utama dari rokok adalah nikotin karena sekitar 50% rokok mengandung nikotin (Hukkanen, Jacob III, Benowitz, 2005). Nikotin adalah senyawa oksidan yang dapat menyebabkan

peroksidasi lipid (Paszkowski, Clarke, Hornstein, 2002). Produk dari peroksidasi lipid adalah malondialdehid (MDA) (Wood, Gibson, Garg, 2003), sehingga MDA dijadikan sebagai indikator proses oksidasi dalam tubuh. Penelitian yang dilakukan oleh Niedernhofer, Daniels, Rouzer, dkk (2003) dikatakan bahwa semakin banyak proses peroksidasi lipid, kadar MDA makin tinggi dan mutasi genetik yang terjadi pada DNA juga semakin banyak. Mutasi genetik yang banyak terjadi adalah delesi (45%). Kerusakan terjadi pada pasangan basa Guanin Cystein (GC).

Beberapa penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa pasangan laki-laki dan perempuan yang mengalami infertil terjadi setelah mengkonsumsi rokok selama lebih dari 5 tahun. Rokok yang dikonsumsi tersebut mengandung nikotin dengan kadar 0,8 hingga 1,8 mg per batang tergantung merek dan ukuran rokok. Sebesar 1 mg nikotin dapat terserap dalam tubuh saat merokok satu batang (Cohen, 2005). Jensen, Henriksen, Hjollund dkk (1998) melakukan penelitian pada studi populasi menjelaskan wanita yang merokok aktif maupun pasif akan cenderung memiliki angka fekunditas yang rendah dibandingkan dengan wanita yang tidak terpapar asap rokok. Kelainan fertilitas lain yang disebabkan oleh paparan rokok adalah menebalnya zona pelusida dari sel telur sehingga sulit ditembus sperma saat fertilisasi, hal ini dapat terjadi pada perokok aktif dan pasif (Shiloh, Baratz, Koifman, dkk, 2004). Hal yang sama juga dijelaskan oleh Augood (2008) yang menyatakan bahwa risiko infertilitas pada wanita yang merokok 1,6 kali lebih besar daripada wanita yang tidak merokok.

Penelitian Bordel, Laschke, Menger dkk. (2006) membuktikan bahwa nikotin dapat mempengaruhi folikulogenesis hamster setelah diberikan nikotin selama 7 hari. Penelitian lain membuktikan bahwa nikotin dengan dosis 5, 7.5 dan 10 mg/kgBB dapat mempengaruhi proses miosis sel telur mencit (Mailhes, Young, Caldito, dkk., 2000). Dosis tersebut kemudian dikonversikan menjadi dosis untuk tikus dengan dikalikan faktor konversi sebesar 7,0 (Kusumawati, 2004).

Upaya yang dilakukan untuk memperkuat penelitian terdahulu adalah membuktikan apakah nikotin dapat mempengaruhi fertilisasi *in vitro*. Mekanisme yang mendasari adanya gangguan fertilisasi

pada wanita yang terpapar nikotin ditinjau dari aspek proses oksidasi belum banyak diteliti, dengan demikian penelitian yang mengukur MDA sebagai produk oksidasi dan angka fertilitas *in vitro* perlu dilakukan. Penelitian ini akan dilakukan terhadap hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) karena secara etis perlakuan ini tidak mungkin dilakukan pada manusia. Keuntungan menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah siklus reproduksinya pendek (4-6 hari), ukuran tubuh cukup besar, mudah dipegang, dikendalikan, dan dapat diambil darahnya dengan jumlah relatif besar. Organ tubuh tikus juga relatif besar sehingga materi perlakuan dapat diberikan dengan berbagai rute (Kusumawati, 2004).

Rumusan Masalah dalam penelitian ini adalah : 1) Apakah terdapat perbedaan kadar MDA serum pada *Rattus norvegicus* yang mendapatkan injeksi nikotin 70, 52.5, 35 mg/kgBB dan tanpa diberi nikotin? 2) Apakah terdapat perbedaan keberhasilan fertilisasi *in vitro* pada *Rattus norvegicus* yang mendapatkan injeksi nikotin 70, 52.5, 35 mg/kgBB dan tanpa diberi nikotin? 3) Apakah terdapat hubungan antara dosis nikotin dengan kadar MDA serum dan keberhasilan fertilisasi *in vitro* pada *Rattus norvegicus*? Tujuan umum penelitian ini adalah mempelajari pengaruh nikotin terhadap kadar MDA serum dan keberhasilan fertilisasi *in vitro* pada *Rattus norvegicus*. Tujuan khusus adalah 1) Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum pada *Rattus norvegicus* yang mendapatkan injeksi nikotin dengan dosis 70, 52.5, 35 mg/kgBB dan tanpa diberi nikotin. 2) Membuktikan adanya perbedaan keberhasilan fertilisasi *in vitro* pada *Rattus norvegicus* yang mendapatkan injeksi nikotin dengan dosis 70, 52.5, 35 mg/kgBB dan tanpa diberi nikotin. 3) Membuktikan adanya hubungan antara dosis nikotin dengan kadar MDA serum dan keberhasilan fertilisasi *in vitro* pada *Rattus norvegicus*.

Bahan dan metode

Penelitian bersifat eksperimental dengan memberikan perlakuan pada *Rattus norvegicus*. Perlakuan tersebut berupa injeksi nikotin subkutan dengan dosis 70, 52.5, 35 mg/kgBB dan tanpa diberi nikotin. Rancangan yang digunakan adalah *post test*

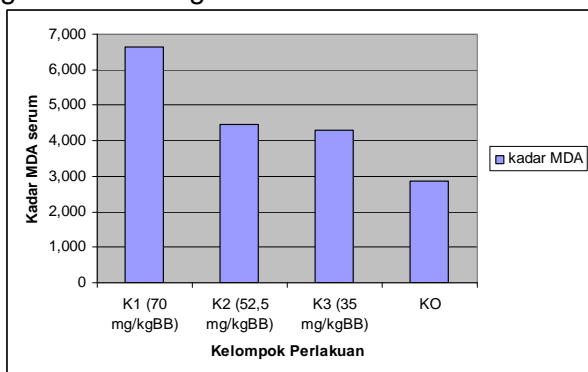
only control group design. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan yang dipilih secara acak. Populasi yang digunakan adalah tikus betina dewasa dengan kriteria sampel sehat dan fertil, tidak bunting, usia 8 – 10 minggu, berat badan 250 – 300 gram, dan diperoleh dari tempat yang sama. Besar sampel setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Cara Pengolahan dan Analisis Data

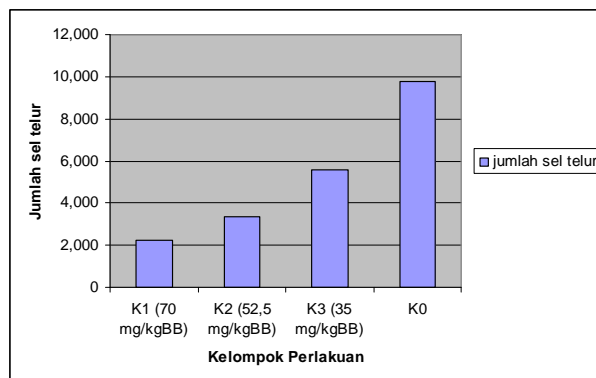
Perbedaan kadar MDA serum dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dianalisis dengan menggunakan uji Anova 1 arah dengan asumsi yang harus dipenuhi adalah data berdistribusi normal, mempunyai varians yang sama dan tidak ada korelasi di antara ke-4 kelompok tadi, selanjutnya untuk melihat perbedaan yang paling dominan dilakukan *post hoc* analisis dengan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Hasil dan pembahasan

Hasil penelitian ini didapat dari 36 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terbagi menjadi 4 kelompok, yaitu 3 kelompok perlakuan yang diberi nikotin dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan terdiri dari *Rattus norvegicus* yang diberikan nikotin dosis 70 mg/kg BB (K1), 52.5 mg/kg BB (K2) dan 35 mg/kg BB (K3). Kelompok kontrol diberikan injeksi akuadest subkutan (K0). Gambaran hasil penelitian seperti pada gambar 1 dan gambar 2.



Gambar 1 Kadar MDA serum *Rattus norvegicus*



Gambar 2 Jumlah sel telur *Rattus norvegicus* yang diovlasi

Hasil pada gambar 1 menunjukkan bahwa rerata kadar MDA serum tertinggi terdapat pada kelompok K1 (6,642) dan yang terendah berasal dari kelompok kontrol (2,865). Hasil pada gambar 2 menunjukkan rerata jumlah sel telur yang paling banyak berasal dari kelompok kontrol (9,778), sedangkan yang paling sedikit berasal dari kelompok K1 (2,222). Seluruh sel telur yang diovlasikan dari *Rattus norvegicus* kelompok kontrol dan perlakuan berhasil difertilisasi.

Analisis dan Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini seperti pada tabel 1 dan tabel 2

Tabel 1 Rerata kadar MDA serum *Rattus norvegicus*

VARIABEL	K1 (70 mg/kg/BB)	K2 (52,5 mg/kg/BB)	K3 (35 mg/kg/BB)	K0 (Kontrol)
Rerata	6,642	4,454	4,313	2,865
SD	1,157	1,865	0,472	0,298

Tabel 2 Rerata jumlah sel telur yang diovlasikan dan keberhasilan fertilisasi *Rattus norvegicus*

VARIABEL	K1 (70 mg/kg/BB)	K2 (52,5 mg/kg/BB)	K3 (35 mg/kg/BB)	K0 (Kontrol)
Rerata jumlah ovum diovlasikan	2,222	3,333	5,555	9,778
Keberhasilan fertilisasi	100%	100%	100%	100%
Kegagalan fertilisasi	0	0	0	0

Seluruh data kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas untuk memenuhi syarat melakukan analisis parametrik. Perbandingan keberhasilan fertilisasi dan kadar MDA serum diuji dengan Anova satu arah, jika terdapat perbedaan bermakna dilakukan uji BNT.

Efek Nikotin terhadap Kadar MDA Serum

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar MDA serum meningkat seiring dengan meningkatnya kadar nikotin yang diberikan pada *Rattus novergicus*. Kadar MDA serum yang paling tinggi terdapat pada kelompok K1 karena dosis nikotin yang diberikan juga paling tinggi.

Nilai deskriptif tersebut didukung dengan uji statistik *one way Anova* taraf kepercayaan 95%, yang menunjukkan terdapat perbedaan kadar MDA serum yang bermakna pada berbagai kelompok perlakuan. Hal ini berarti kadar MDA serum pada kelompok yang diberikan nikotin lebih tinggi, daripada kelompok kontrol yang tidak diberikan nikotin.

Setelah dilakukan uji lanjut untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda nyata, menunjukkan bahwa kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan nikotin memiliki kadar MDA serum yang lebih rendah dan berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang diberi nikotin.

Dosis nikotin yang dapat meningkatkan kadar MDA serum *Rattus novergicus* adalah dosis menengah (52,5 mg/kgBB).

Efek Nikotin terhadap Keberhasilan Fertilisasi *Invitro*

Data keberhasilan fertilisasi *invitro* dari Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin besar dosis nikotin yang diberikan, maka jumlah sel telur yang keluar semakin sedikit. Fertilisasi *invitro* yang dilakukan dari semua sel telur yang keluar adalah berhasil 100%, tidak ada kegagalan fertilisasi. Keberhasilan fertilisasi ditunjukkan dengan adanya badan polar II.

Dosis nikotin yang dipaparkan semakin besar maka jumlah sel telur yang dikeluarkan semakin sedikit (Tabel 2). Keberhasilan fertilisasi tersebut menunjukkan belum adanya kerusakan DNA dan zona pelusida dari sel telur sehingga masih dapat dibuahi oleh sperma tikus jantan.

Nikotin sebagai senyawa pro-oksidan dapat menyebabkan gangguan folikulogenesis, sehingga folikel dominan yang diperlukan untuk ovulasi tidak terbentuk.

Penelitian ini menggunakan dosis nikotin 70, 52,5, dan 35 mg/kgBB dan lama paparan nikotin selama 7 hari ternyata belum dapat merusak zona *pellusida*. Penelitian terdahulu tentang nikotin terhadap fertilisasi

yang pernah dilakukan adalah pada manusia, yang menunjukkan bahwa nikotin dapat mempengaruhi fertilisasi pada manusia. Penelitian Cohen (2005) menunjukkan bahwa pasangan laki-laki dan perempuan yang mengalami infertil terjadi setelah mengkonsumsi rokok selama lebih dari 5 tahun. Rokok yang dikonsumsi tersebut mengandung nikotin dengan kadar 0,8 hingga 1,8 mg per batang tergantung merek dan ukuran rokok. Sebesar 1 mg nikotin dapat terserap dalam tubuh saat merokok satu batang. Jensen, Henriksen, Hjollund dkk (1998) juga melakukan penelitian pada studi populasi menjelaskan wanita yang merokok aktif maupun pasif akan cenderung memiliki angka fekunditas yang rendah dibandingkan dengan wanita yang tidak terpapar asap rokok.

Hubungan Kadar MDA Serum terhadap Keberhasilan Fertilisasi *Invitro*

Kadar MDA serum yang meningkat seiring dengan peningkatan dosis nikotin tidak mempengaruhi kegagalan fertilisasi karena semua sel telur yang keluar berhasil difertilisasi. Kadar MDA serum akibat paparan nikotin pada penelitian ini hanya mempengaruhi jumlah sel telur yang dikeluarkan. Semakin tinggi kadar MDA serum maka jumlah sel telur yang keluar akan semakin sedikit (Tabel 2). stres oksidatif yang terjadi belum dapat mempengaruhi kerusakan zona pelusida sehingga fertilisasi yang terjadi masih dapat berlangsung dengan baik.

Nikotin yang dipaparkan pada *Rattus novergicus* ini menyebabkan terjadi stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya kadar MDA serum. Dosis nikotin yang semakin banyak pada paparan kelompok tertentu menyebabkan kadar MDA serumnya juga meningkat. Hal tersebut menandakan tingginya stres oksidatif yang berlangsung di dalam tubuh hewan coba. Stres oksidatif tersebut mempengaruhi folikulogenesis dengan menghambat proses pembentukan folikel dominan yang diperlukan untuk ovulasi. Hambatan folikulogenesis terjadi akibat stres oksidatif menimbulkan apoptosis sel granulosis, sehingga folikelnya menjadi atresia. Karena terjadi atresia, maka tidak terbentuk folikel dominan, yang ditandai dengan sedikitnya jumlah sel telur yang

keluar saat ovulasi (Bordel, Laschke, Menger, dkk., 2006).

Kesimpulan dan saran

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah: 1) Terdapat perbedaan kadar MDA serum pada *Rattus novergicus* yang mendapatkan injeksi nikotin dan tanpa diberi nikotin. 2) Tidak terdapat perbedaan keberhasilan fertilisasi *invitro* pada *Rattus novergicus* yang mendapatkan injeksi nikotin dan tanpa diberi nikotin. 3) Tidak terdapat pengaruh antara kadar MDA serum terhadap keberhasilan fertilisasi *invitro* pada *Rattus novergicus*. Saran bagi peneliti yang ingin mendalami pengaruh nikotin terhadap kadar MDA serum dan keberhasilan fertilisasi *invitro* pada *Rattus novergicus*, kiranya perlu dicari faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi keutuhan zona pellusida sehingga zona pellusida tidak mengalami kerusakan akibat stress oksidatif dan fertilisasi dapat terjadi pada semua sel telur, tetapi meningkatnya kadar MDA serum dapat menurunkan jumlah sel telur yang diovulasi.

DAFTAR ACUAN

- Augood C, K Duckitt, and AA Templeton, 1998. *Smoking and female infertility : A systematic review and meta analysis*. Human Reproduction 13 (6): 1532-1539.
- Bordel R, MW Laschke, MD Menger, and B Volmar, 2006. *Nicotine does not effect vascularization but inhibit growth of freely transplanted ovarian follicles by inducing granulosa cell apoptosis*. Human Reproduction 21 (3): 610-616.
- Cohen HK, L Natarajan, R Marrs, and B Yee, 2005. *Effect of female and male smoking on succes rates of IVF and gamete intra fallopian transfer*. Human Reproduction 16 (7): 1382 – 1390.
- Departemen Kesehatan RI dan WHO Indonesia, 2003. *Konsumsi tembakau dan prevalensi merokok di Indonesia*; 1 – 2.
- Gilbert SF, 1988. *Developmental Biology Second Edition*. Sunderland Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- Hukkanen J, P Jacob III, and NL Benowitz, 2006. *Metabolism and disposition kinetics of nicotine*. Pharmacol Rev 57 (1): 79-107.
- Jensen TK, Henriksen TB, Hjollund NHI, dkk. 1998. *Adult and prenatal exposures to tobacco smoke as risk indicators of fertility among 430 Danish couples*. American Journal of Epidemiology 148 (10): 992-996.
- Kusumawati D, 2004. *Bersahabat dengan Hewan Uji Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 9,50,68,73.
- Mailhes JB, D Young, D Caldito, and SN London, 2000. *Sensitivity of mouse oocyte to nicotine-induced perturbation during oocyte meiotic maturation and aneuploidy in vivo and in vitro*. Molecular Human Reproduction 6 (3): 232-237.
- Niedernhofer LJ, JS Daniels, CA Rouzer, RE Greene, and LJ Marnett, 2003. *Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells*. The Journal of Biological Chemistry 278 (33): 31426-31433.
- Paszkowski T, RN Clarke, and MD Hornstein, 2002. *Smoking induces oxidative stress inside graafian follicle*. Human Reproduction 17 (4): 921-924.
- Shiloh H, RL Baratz, M Koifman, D Ishai, D Bidder, Z Wener-Meganzi, and M Dirnfeld, 2004. *The impact of cigarette smoking on zona pellucida thickness of oocyte and embryos prior to transfer into uterine cavity*. Human Reproduction 19 (1): 157-159.
- Speroff L, and MA Fritz, 2005. *Clinical gynecologic endocrinology and fertility seventh edition book 1*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 241-246.
- Wood LG, PG Gibson, and ML Garg, 2003. *Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and asthma*. Eur Respir J. 21: 177-186.