

PENGARUH PEMBERIAN KOPI TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG DIINDUKSI ALOKSAN

The Effect Of Coffee On Spermatozoa Morphology Alloxan Induced Diabetic Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*)

Vivi Nur Fitriana¹, Safari Wahyu Jatmiko²

¹Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
²Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
Korespondensi: Vivi Nur Fitriana. Alamat email: J500160114@student.ums.ac.id

ABSTRAK

*Latar Belakang: Kopi mengandung kafein dan asam klorogenat yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat memperbaiki abnormalitas spermatogenesis yang menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa normal. Tujuan: Mengetahui kemampuan kopi dalam memperbaiki morfologi spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Metode: Penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan metode post-test only with control group design. Subjek penelitian ini adalah kopi. Tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) digunakan sebagai sampel. Terdapat 30 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok terdiri dari: kontrol normal (diberi aquades), kontrol negatif (diinduksi aloksan + aquades), perlakuan 1 (diinduksi aloksan + kopi 0,054 gram/200 gramBB), perlakuan 2 (diinduksi aloksan + kopi 0,108 gram/200 gramBB) dan perlakuan 3 (diinduksi aloksan + kopi 0,162 gram/200 gramBB). Perlakuan dilakukan selama 14 hari, dihari ke 15 tikus diterminasi. Dilakukan pengambilan sampel kemudian diamati dan dihitung jumlah morfologi spermatozoa yang normal dan abnormal. Hasil: Kopi dengan dosis 0,108 gram/200 gram dan 0,162 gram/200 gramBB dapat meningkatkan jumlah morfologi spermatozoa normal tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diabetik yang diinduksi aloksan. Kesimpulan: pemberian kopi dapat meningkatkan jumlah spermatozoa normal tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diabetik yang diinduksi aloksan.*

Kata kunci: *Morfologi, Spermatozoa, Diabetes, Kopi*

ABSTRACT

*Background: Coffee contains caffeine and chlorogenic acid which functions as an antioxidant to improve spermatogenesis abnormalities which causes decreased number of normal spermatozoa. Objective: To determine the ability of coffee in improving spermatozoa morphology from alloxan induced diabetic wistar rats (*Rattus norvegicus*). Method: Post-test only laboratory experimental research with control group design. The subject of this research is coffee. Male wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used as samples. 30 male wistar rats were divided into 5 groups that consisted of: normal control (given aquades), negative control (induced alloxan + aquades), treatment 1 (induced alloxan + coffee 0.054 gram / 200 gramBB), treatment 2 (induced alloxan + insulin coffee 0.108 gram / 200 gramBB) and treatment 3 (induced alloxan + coffee 0.162 gram / 200 gramBB). Treatment was carried out for 14 days, on the 15th day rats were terminated. Samples was then observed and number of spermatozoa were calculated. Results: Coffee with a dose of 0,108 gram/200 gram and 0.162 gram / 200 gramBB increased the normal spermatozoa morphology of alloxan induced diabetic wistar rats (*Rattus norvegicus*). Conclusion: Coffee administration can increase the number of normal spermatozoa of alloxan-induced diabetic wistar rats (*Rattus norvegicus*).*

Keywords: *Morphology, Spermatozoa, Diabetes, Coffee*

PENDAHULUAN

Diperkirakan sekitar 50-80 juta pasangan di dunia mengalami infertilitas (*World Health Organization*, 2012). Sebesar 30-40% infertilitas disebabkan oleh faktor laki-laki (KPI, 2013). Infertilitas pria dapat terjadi secara penuh atau parsial disebut sebagai subfertilitas. Hal tersebut dapat terjadi karena berkurangnya jumlah spermatozoa (oligozoospermia), berkurangnya motilitas sperma (asthenozoospermia), berkurangnya vitalitas sperma (necrozoospermia), morfologi sperma abnormal (teratozoosperma) atau kombinasi dari semuanya (Sharma *et al*, 2017).

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis serius yang terjadi baik ketika pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur gula darah, atau glukosa), atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan (WHO, 2016). Pada tahun 2014 WHO

melaporkan terdapat 422 juta orang terkena DM dan diperkirakan akan meningkat menjadi 300 juta pada tahun 2025 (Temidato, 2018). Indonesia menempati negara ke 7 di dunia dengan orang dewasa diabetes terbanyak sejumlah 10 juta orang setelah China, India, Amerika, Brazil, Rusia, dan Mexico (IDF, 2015).

Menurut Sulistyoningrum (2012), komplikasi DM yang sering terjadi salah satunya adalah komplikasi pada sistem reproduksi maskulina yaitu dengan menurunkan kualitas sperma. Metabolisme glukosa sangat penting bagi sel sperma, baik diabetes tipe 1 atau diabetes tipe 2 dapat memiliki efek buruk pada kesuburan pria terutama kualitas sperma, seperti motilitas sperma, integritas DNA sperma, bahan-bahan dari seminal plasma, volume sperma, konsentrasi sperma dan morfologi sperma normal (Ding *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2015). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa

DM dapat menyebabkan penurunan kesuburan dengan menurunkan jumlah morfologi sperma normal melalui peningkatan *Oxidative Stress* (OS) dan meningkatnya peroksidase lipid pada pasien DM dengan kontrol metabolik yang buruk (Zhu *et al*, 2017). Penurunan jumlah morfologi normal pada penderita DM disebabkan karena peningkatan ROS sehingga berakibat pada peningkatan apoptosis dan kerusakan DNA yang mencegah proses pematangan sperma (Hadi, 2011; Sulistyoningrum, 2012).

Indonesia merupakan produsen kopi terbesar ketiga didunia, berdasarkan Indonesian Coffee Festival (ICF). Kopi Indonesia sebagian besar dihasilkan di Sumatera Selatan, Bengkulu dan Lampung (Sativa *et al.*, 2014). Kopi mengandung dua senyawa kompleks terbanyak yaitu asam klorogenat dan kafein. Asam klorogenat memiliki mekanisme dalam menurunkan hiperglikemi intraseluler dan berperan

sebagai senyawa polifenol yang bekerja sebagai antioksidan kuat (Yustisiani, 2013). Kafein pada kopi menurunkan OS dan melindungi sistem antioksidan dengan mengurangi peroksidasi lipid dan ROS (Skowron *et al*, 2016).

Menurut penelitian yang dilakukan Dja'afara *et al.* (2015) dan Haris *et al.* (2016) disimpulkan bahwa pemberian kopi baik cair maupun ekstrak dapat meningkatkan kualitas spermatozoa yang meliputi konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa. Terdapat perbedaan pada penelitian yang dilakukan Ricci *et al.*(2017) yang menyebutkan bahwa konsumsi kafein dapat menyebabkan kerusakan sperma dan mempunyai dampak negatif bagi fungsi reproduksi pria.

Berdasarkan latar belakang di atas didapatkan perbedaan pendapat mengenai penggunaan kopi dalam memengaruhi morfologi sperma, oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian dengan menggunakan hewan

uji tikus wistar jantan (*Nervus norvegicus*) untuk melihat dan membandingkan pengaruh pemberian kopi terhadap morfologi spermatozoa.

METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental analitik dengan pendekatan *post-test only control group design* dengan teknik *simple random sampling*. Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2019 - Juli 2019 dan dilaksanakan di laboratorium Farmakologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Populasi penelitian adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Sampel penelitian ini adalah 30 ekor tikus yang memenuhi kriteria inklusi. Terdapat 5 kelompok penelitian yang terdiri dari masing-masing 6 ekor tikus, yaitu: Kelompok kontrol normal (hanya diberikan aquades), kelompok kontrol negatif (diinduksi aloksan dan diberi

aquades), kelompok perlakuan 1 (dosis 0,054 gram/200 gramBB), kelompok perlakuan 2 (dosis 0,108 gram/200 gram BB), dan kelompok perlakuan 3 (dosis 0,162 gram/kgBB) (Ohnaka *et al*, 2012).

Penelitian ini menggunakan jenis kopi robusta yang diperoleh dari produsen kopi kabupaten Tulang Bawang provinsi Lampung. Pemberian kopi dilakukan selama 14 hari. Tikus di terminasi dengan dislokasi *vertebrae cervicalis*, lalu dilakukan pengambilan suspensi spermatozoa dari cauda epididimis. Pengamatan morfologi sperma menggunakan preparat hapus kering dengan pewarnaan Giemsa. Pengamatan dilakukan pada 100 ekor spermatozoa, dengan melihat *atlas of human sperm morphology evaluation* dihitung jumlah morfologi spermatozoa yang normal dan jumlah morfologi spermatozoa yang tidak normal lalu hitung persentasenya dari 100 spermatozoa (Wibisono, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Tabel 1. Rata-rata morfologi sperma

No.	Kelompok	Rata-Rata Morfologi Spermatozoa Normal Tiap Kelompok (%)
1	KN	97
2	K (-)	93,2
3	P1	94,6
4	P2	95,1
5	P3	95,2

Ket : KN = Kontrol Normal, K (-) = Kontrol Negatif, P1 = Perlakuan 1, P2 = Perlakuan 2, P3 = Perlakuan 3

Dari uji normalitas didapatkan Nilai p (0,119; 0,314; 0,814; 0,804; 0,135) pada masing-masing kelompok percobaan, nilai signifikansi p (0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Uji homogenitas varian menggunakan *Levene test* dengan hasil $p = 0,650$. Varian data dikatakan homogen karena nilai $p > 0,05$ sehingga uji Anova valid untuk menguji hubungan ini.

Pada hasil uji One-way ANOVA dapat diketahui bahwa nilai signifikan yaitu $p=0,001$ ($p<0,05$) sehingga dari

data tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian kopi mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap morfologi spermatozoa tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*). Oleh karena hasil uji One-way ANOVA signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*.

Tabel 2. Analisis *post hoc* perbandingan morfologi antar kelompok

Kelompok Perlakuan	P(sig)	Hasil
KN – K (-)	0,000*	Berbeda bermakna
KN – P 1	0,003*	Berbeda bermakna
KN – P 2	0,005*	Berbeda bermakna
KN – P 3	0,022*	Berbeda bermakna
K (-) – P 1	0,067	Tidak bermakna
K (-) – P 2	0,029*	Berbeda bermakna
K (-) – P 3	0,012*	Berbeda bermakna
P 1 – P 2	0,740	Tidak bermakna
P 1 – P 3	0,418	Tidak bermakna
P 2 – P 3	0,603	Tidak bermakna

Pembahasan

Pada hasil Uji *LSD* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

signifikan antara kelompok kontrol normal dan kontrol negatif yaitu dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Berdasarkan hasil penelitian ini, didapatkan hasil jumlah morfologi normal tikus yang diinduksi aloksan dan hanya diberi aquades menunjukkan penurunan dibandingkan dengan kontrol normal. Diabetes digambarkan tidak hanya mempengaruhi kualitas dan fungsi sperma tetapi juga hipotalamus-pituitary-gonadal axis (HPG), fungsi testis dan spermatogenesis, organ aksesori, dan fungsi ereksi serta ejakulasi (Tavares *et al*, 2017). Pada keadaan diabetes terjadi peningkatan *Oxidative stress* yang menyebabkan kematian sel dengan beberapa mekanisme dan akhirnya terjadi kerusakan jaringan (Volpe *et al*, 2018). Pada diabetes mellitus, sumber utama *Oxidative stress* berasal dari mitokondria. Selama metabolisme oksidatif di mitokondria, komponen oksigen yang digunakan direduksi

menjadi air dan sisa oksigen ditransformasikan menjadi radikal bebas oksigen (O^{\cdot}) yang merupakan ROS penting yang dikonversi menjadi RS lain seperti $ONOO^{\cdot}$, OH dan H_2O_2 (Ullah *et al*, 2016). *Oxidative stress* mengacu pada ketidakseimbangan antara radikal bebas dan zat yang menstabilkan enzim antioksidan dalam tubuh (Manisha *et al*, 2017). Seseorang yang terpapar radikal bebas lebih besar kemungkinannya memiliki kelainan sperma (Mahat *et al*, 2016).

Pada perlakuan 1 (dosis 0,054 gram/200 gramBB) tidak terdapat perbedaan bermakna yang signifikan dengan kontrol negatif, sehingga dapat diartikan dosis pada perlakuan 1 tidak dapat meningkatkan jumlah morfologi spermatozoa normal. Kelompok perlakuan 2 dan perlakuan 3 mempunyai perbedaan bermakna yang signifikan dengan kontrol negatif (0,029 dan 0,012) yang menunjukkan bahwa pemberian kopi dengan dosis 0,108 gram/200 gram

dan 0,162 gram/kgBB mampu memperbaiki morfologi spermatozoa. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Dja'afra (2015), Haris (2016), Metro *et al* (2017) dan Skowron *et al* (2016) yang menunjukkan bahwa kafein dan asam klorogenat yang terkandung dalam kopi dapat membantu memperbaiki jumlah morfologi spermatozoa normal dengan menurunkan level *Oxidative Stress*. Penelitian yang dilakukan oleh Karmon *et al* (2016) mempunyai hasil yang berbeda, yaitu tidak ada hubungan antara kopi dan parameter sperma.

Kafein merupakan suatu alkaloid dari metil xantin yaitu ,3,7 trimetil xantin, kafein diberikan untuk mengimbangi dampak radikal bebas (Dja'afra, 2015). Asam klorogenat adalah senyawa polifenol terbesar yang terdapat dalam biji kopi. Senyawa polifenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan sehingga mampu melindungi DNA, lipid dan protein

dengan melawan radikal bebas. Ketika dipanggang, asam klorogenat akan kehilangan molekul air dan terbentuk ikatan ester yang menghasilkan quinolakton atau quinida yang tidak asam. Senyawa quinida terdapat dalam jumlah banyak berupa 3-*caffeoylquinidine* dan 4-*caffeoylquinidine*, senyawa ini mampu memperbaiki kerja insulin sehingga sensitivitas insulin meningkat. Asam klorogenat menyebabkan penurunan resistensi insulin, menghambat absorpsi glukosa, menghambat atau memperlambat hidrolisis *glucose-6-phosphatase* ada *hepatic stage* yang mungkin dapat menurunkan output plasma glukosa darah, menyebabkan penurunan konsentrasi plasma glukosa darah. Asam klorogenat bekerja dengan cara menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan hidrogen dari gugus hidroksilnya. Oleh karena itu, kekurangan elektron dalam radikal bebas dapat diatasi sehingga dampak

negatif radikal bebas dapat dicegah (Hartono et al., 2016; Yustisiani et al., 2013)

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian Kopi dapat meningkatkan jumlah morfologi spermatozoa normal pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diabetik yang diinduksi aloksan dengan dosis 0,108 gram/200 gram dan 0,162 gram/200 gramBB.

Disarankan penelitian ini dapat dikembangkan sehingga dapat digunakan pada manusia sebagai alternatif cara memperbaiki morfologi sperma.

Perlu dilakukan uji dengan dosis yang berbeda dan dosis lebih tinggi dari penelitian ini serta perlu dilakukan uji dengan penambahan waktu intervensi.

DAFTAR PUSTAKA

Ding, G.L., liu, Y., Liu, M.-E. & al., J.X.P.e., 2015. The effect of Diabetes on Male Fertility and Epigastric Regulation During Spermatogenesis. *Asian Journal of Andrology*, 17, p.84953.

Dja'afara, A.L., Wantouw, B. & Tendean, L., 2015. Pengaruh

Pemberian Kopi terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi Paparan Asap Rokok. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3(2).

Hadi, R.S., 2011. Apoptois Pada Sperma Sebagai Pertanda Adanya Gangguan Kesuburan Pria. *Majalah Kesehatan Pharma Medika*, 3(2), pp.282-85.

Haris, R.A., Tendean, L. & Turalaki, G., 2016. Pengaruh Pemberian Kopi Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar Stres. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 4(2).

Hartono, K.M., Ariani, M.D. & Wibowo, D.A., 2016. Pengaruh Pemberian Kopi Terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Wistar Yang Dipapar Sinarultraviolet. *JURNAL KEDOKTERAN DIPONEGORO*, 5(4).

IDF, 2015. *International Diabetes Ferderation Diabetes Atlas*. 7th ed. Karakal Print.

Karmon, A.T. T. L. Toth, Y.-H. Chiu, A. J. Gaskins, C. Tanrikut, D. L. Wright, R. Hauser and J. E. Chavarro. 2017. Male caffeine and alcohol intake in relation to semen parameters and in vitro fertilization outcomes among fertility patients. *HHS Public Access*, 5(2), p.354-361.

KPI, 2013. *Konsensus Penanganan Infertilitas*.

Mahat, R.K. Manisha Arora, Dhananjay Vasanttrao Bhale, Shrirang Holkar, Sudeep Kumar and Tapeswar Yadav., 2016. Risk Factors and Causes of Male

- Infertility-A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 5(2).
- Manisha, Hasan, W., Rajak, R. & Jat, D., 2017. OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANTS: AN OVERVIEW. *International Journal of Advanced Research and Review*, 2(9), pp.110-19.
- Metro, D. Valeria Cernaro, Domenico Santoro, Mattia Papa, Michele Buemi, Salvatore Benvenga, Luigi Manasseri., 2017. Beneficial effects of oral pure caffeine on oxidative stress. *Journal of Clinical & Translational Endocrinology*, 10, pp.22-27.
- Ohnaka, K. Mizuko Ikeda, Takako Maki, Tomoko Okada, Takao Shimazoe, Masahiro Adachi, Masatoshi Nomura, Ryoichi Takayanagi, and Suminori Kono, 2012. Effects of 16-Week Consumption of Caffeinated and Decaffeinated Instant Coffee on Glucose Metabolism in a Randomized Controlled Trial. *Hindawi Publishing Corporation*, pp.1-9.
- Ricci, E. Paola Viganò, Sonia Cipriani, Edgardo Somigliana, Francesca Chiaffarino, Alessandro Bulfoni and Fabio Parazzini., 2017. Coffee and caffeine intake and male infertility: a systematic review. *Nutrition Journal*, 16(37), pp.1-14.
- Sativa, O., Yuwana & Bonodikun, 2014. karakteristik Fisik Buah Kopi, Kopi Beras dan Hasil Olahan Kopi Rakyat di Desa Sindang Jati, Kabupaten Rejang Lebong. *Jurnal Agro Industri*, 4(2), pp.65-77.
- Sharma, A., 2017. Male Infertility; Evidences, Risk Factors, Causes, Diagnosis and Management in Human. *iMedPub Journals*, 5(3).
- Skowron, M.J., Sentkowska, A., Pyrztnkska, K. & Pena, M.P.D., 2016. Clorogenis Acids, Caffeine Content and Atioxidant Peoperties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Bean Preparation. *Eur Food Res TEchnol*, 242, pp.1403-09.
- Sulistyoningrum, E., Setiawati, Nindyastuti, H. & Putra, A.N., 2012. Infusa Daging Buah Mahkota Dewa Memperbaiki Kerusakan Testis dan Parameter Sperma Tikus Diabetik. 4(2).
- Tavares, R.S. S Escada-Rebelo, A F Silva, M I Sousa, J Ramalho-Santos and S Amaral., 2017. Antidiabetic Therapies and Male Reproductive Function: Where Do We Stand? *Society for Reproduction and Fertility*, 155.
- Temidayo, O. & S, P.S., 2018. Diabetes Mellitus and Male Infertility. *Asian pasific Jpurnal of reproduction*, 7(1), pp.6-14.
- Ullah, A., Khan, A. & Khan, I., 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24, pp.547-53.
- Volpe, C.M.O., Villar-Delfino, P.H., Anjos, P.M.F.d. & Nogueira-Machado, J.A., 2018. Cellular Death, Reactive Oxygen Species (ROS) and Diabetic Complications. *Official journal of the Cell Death Differentiation Association*, 9(119), pp.1-9.

- WHO, 2012. Global Prevalence of Infertility, Infecundity and Childlessness.
- WHO, 2016. *Global Report on Diabetes*.
- Wibisono, d.h.M..S.A., 2010. *Panduan Laboratorium Andrologi buku pertama*. Bandung: PT Refika Aditama.
- Yustisiani, A., Andari, D. & Isbandiyah, 2013. Pengaruh Pemberian Kopi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih Strain Wistar Diabetes Melitus Tipe 2. 9(1), pp.38-45.
- Zhu, J.-Z. Xing-You Dong, Jia-Jia Liang, Zi-Qian Zhang, Xiao-Yan Hu, Long-Kun Li., 2017. Effect of Diabetes Mellitus on Semen Quality in Adult Men : a Systemic review and Meta Analysis. *Int J Clin Exp Med*, 10(8), pp.11290-303.