

TESIS

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

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



ANNISA'HASANAH

NIM. 011141008

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2013**

TESIS

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

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



ANNISA'HASANAH

NIM. 011141008

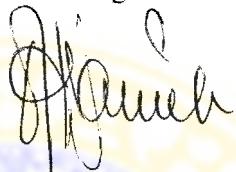
**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2013**

LEMBAR PENGESAHAN

TESISINI TELAH DIUJIKAN
PADA HARI DAN TANGGAL : Jum'at, 2 Agustus 2013

Oleh

Pembimbing Ketua



Tjitra Wardani, dr., M.S

NIP. 19490423 197802 2001

Pembimbing


Choesnan Effendi, dr., AIF

NIP. 19471208 197403 1002

Mengetahui :

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga


Dr. Susilowati Andajani, dr., M.S.

NIP. 19550520 198303 2 002

RINGKASAN

Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ)

Annisa'Hasanah

Diabetes melitus (DM) adalah suatu penyakit metabolismik 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.

Penelitian pada tikus penderita DM yang diinduksi dengan streptozotocin (STZ) membuktikan terjadinya peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan penurunan kapasitas antioksidan. STZ merupakan bahan toksik yang merusak sel β pankreas. 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^-).

Sel spermatozoa mamalia kaya akan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) pada membran plasma dan konsentrasi *scavenging* enzim yang rendah pada sitoplasmanya sehingga mudah mengalami stres oksidatif dan memicu terjadinya peroksidasi lipid. Hal tersebut menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa yang berpengaruh pada fertilitas.

Terapi medis untuk meningkatkan kualitas spermatozoa telah banyak diteliti dan digunakan. Beberapa bahan alam diduga menunjukkan efek meningkatkan kualitas spermatozoa, salah satunya adalah bawang bombay (*Allium cepa* Linn.). Kandungan quercetin (QE) yang tinggi dalam bawang bombay dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan dan oksidasi. 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), konsentrasi, motilitas, dan viabilitas spermatozoa serta menurunnya konsentrasi malondialdehyde (MDA).

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan efek pemberian jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) terhadap kualitas (motilitas, viabilitas, morfologi abnormal dan konsentrasi) spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

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 menjadi empat kelompok : K0 adalah kelompok kontrol yang diberi plasebo dan jus bawang bombay 1 g/kgBB, K1 adalah kelompok kontrol DM yang diinduksi STZ dosis rendah 50 mg/kgBB, K2 adalah kelompok yang diinduksi STZ dosis rendah 50 mg/kgBB dan diberi jus bawang bombay 0,5 g/kgBB, K3 adalah kelompok yang diinduksi STZ dosis

rendah 50 mg/kgBB dan diberi jus bawang bombay 1 g/kgBB. Spermatozoa diambil dari kauda epididimis. Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan uji Mann-Whitney

Rerata motilitas spermatozoa tertinggi ada pada K3 (95,38%±2,45%), viabilitas dan konsentrasi tertinggi terdapat pada K0 (87,75%±3,69% dan 25,25juta/ml±2,60juta/ml), sedangkan rata-rata morfologi abnormal tertinggi ada pada K1 (29,86%±6,20%). Rata-rata motilitas, viabilitas dan konsentrasi spermatozoa terendah didapatkan pada K1 (37,71%±4,35%; 38,14%±5,76%; dan 5,71juta/ml±1,79juta/ml) sedangkan rata-rata morfologi abnormal terendah ada pada K0 (3,50%±2,98%). Hasil uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk pada keempat parameter didapatkan nilai $p<0,05$, sehingga disimpulkan bahwa data tidak berdistribusi normal (syarat uji ANOVA satu arah tidak terpenuhi).

Hasil analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis, didapatkan $p<0,05$ pada keempat parameter yang berarti terdapat perbedaan signifikan motilitas, viabilitas, morfologi abnormal dan konsentrasi pada keempat kelompok perlakuan.

Hasil pengamatan perbedaan antar kelompok perlakuan menggunakan uji Mann-Whitney. Hasil untuk motilitas spermatozoa didapatkan nilai $p<0,05$ pada tiap kelompok sehingga disimpulkan bahwa ada perbedaan signifikan motilitas spermatozoa antar kelompok. Hasil untuk viabilitas spermatozoa didapatkan nilai $p<0,05$ pada kelompok K0 dan K1, K1 dan K2, serta K1 dan K3, sedangkan untuk kelompok K0 dan K2, K0 dan K3, serta K2 dan K3 didapatkan $p>0,05$. Viabilitas spermatozoa berbeda signifikan pada K0 dan K1, K1 dan K2 serta K1 dan K3. Hasil untuk morfologi abnormal dan konsentrasi, pada semua kelompok yang dibandingkan didapatkan $p<0,05$, hanya pada K0 dan K3 didapatkan $p>0,05$ sehingga terdapat perbedaan signifikan morfologi abnormal dan konsentrasi spermatozoa pada semua kelompok yang dibandingkan kecuali pada K0 dan K3.

Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian jus bawang bombay dosis 0,5 g/kgBB dan 1 g/kgBB meningkatkan motilitas, viabilitas dan konsentrasi serta menurunkan morfologi abnormal spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis toksik (*lethal dose*) jus bawang bombay untuk keamanan terapi dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek jus bawang bombay dengan 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.

SUMMARY

Onion (*Allium cepa Linn.*) Juice Effect on Spermatozoa Quality in Streptozotocin (STZ) Induced Mice

Annisa'Hasanah

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by hyperglycemia due to decreased production and secretion of insulin, insulin resistance, or both. Approximately 90% of men with diabetes have evidence of sexual dysfunction include impotence, premature ejaculation, decreased libido and infertility due to failure of testicular function.

Research on streptozotocin (STZ) induced DM rats prove increased reactive oxygen species (ROS) and decreased antioxidant capacity. STZ is a toxic substance that can impair pancreatic β cells. STZ diabetogenik mechanism through DNA alkylation at the *nitr sourea* group cause pancreatic β cell damage. STZ also induces free radicals process, such as superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), and hydroxyl radicals (OH^-).

Mammals spermatozoa cells contain high polyunsaturated fatty acids (PUFA) in plasma membrane and low concentrations of scavenging enzymes in the cytoplasm so it gets oxidative stress easily and lipid peroxidation triggered. This causes a decrease in spermatozoa quality effect on fertility.

Medical therapy to improve the quality of spermatozoa has been widely studied and used. Some natural substances allegedly shows the effect of increasing spermatozoa quality, such as onion (*Allium cepa Linn.*). High content of quercetin (QE) in onions may protect spermatozoa from damage and oxidation. Onion androgenic effect research to healthy rats spermatogenesis in 2008 proved an increase in testosterone total serum, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) levels, total antioxidant capacity (TAC), motility, viability and concentration of spermatozoa and decreased concentrations of malondialdehyde (MDA).

The purpose of this research is to prove the effect of onion (*Allium cepa Linn.*) juice on spermatozoa quality (motility, viability, abnormal morphology and concentration) in STZ induced diabetic mice.

This research is an experimental study with post test only control group design. Sample size using the Federer formula with 32 mice samples were divided into four treatment groups: K0 was a control group who were given placebo and onion juice 1 g/kgBW, K1 was DM control group with low dose 50 mg/kgBW STZ-induced, K2 was a group of low dose 50 mg/kgBW STZ-induced and 0.5 g/kgBW onion juice, K3 is a group of low dose 50 mg/kgBW STZ-induced and 1g/kgBW onion juice. Spermatozoa taken from the cauda epididymis. Data were analyzed by the Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney test.

The highest spermatozoa motility average obtained on K3 ($95.38\% \pm 2.45\%$), the highest viability and concentration found in K0 ($87.75\% \pm 3.69\%$ and $25.25\text{million/ml} \pm 2.60\text{million/ml}$), while the highest average abnormal

morphological obtained on K1 ($29.86\% \pm 6.20\%$). The lowest average of motility, viability and concentration was found in K1 ($37.71\% \pm 4.35\%$; $38.14\% \pm 5.76\%$, and $5.71\text{million/ml} \pm 1.79\text{million/ml}$) while the lowest average abnormal morphology is obtained at K0 ($3.50\% \pm 2.98\%$). Results of normality test with Shapiro-Wilk test on the four analyzed parameters obtained value $p < 0.05$, so it was concluded that the data were not normally distributed (oneway ANOVA test requirement are not fulfilled).

Data analysis result using the Kruskal-Wallis test on the four analyzed parameters obtained $p < 0.05$, which means that there are significant differences in motility, viability, abnormal morphology and concentration in all four treatment groups.

The observation of differences between treatment groups use Mann-Whitney test. Results for spermatozoa motility obtained value $p < 0.05$ in each group therefore concluded that there was a significant difference between the motility of spermatozoa between groups. Results for the viability of spermatozoa obtained value $p < 0.05$ in groups K0 and K1, K1 and K2, and K1 and K3 , while for the group K0 and K2, K0 and K3, and K2 and K3 obtained $p > 0.05$. Viability of spermatozoa differ significantly on K0 and K1, K1 and K2 and K1 and K3. Results for abnormal morphology and concentration, in all groups compared obtained value $p < 0.05$, only on K0 and K3 obtained value $p > 0.05$ so that there are significant differences in abnormal morphology and concentration of spermatozoa in all groups compared except for K0 and K3.

The conclusion of this research was the onion juice dose of 0.5 g/kgBW and 1 g/kgBW can increase motility, viability and concentration of spermatozoa and decreased abnormal spermatozoa morphology of STZ-induced diabetic mice.

Further research needs to be done about the onion juice toxic dose (lethal dose) for safety of therapy and more research about the effects of onion juice in other parameters related to spermatozoa quality such as examination of testosterone hormone, Leydig cells, Sertoli cells, spermatogenic cells and also FSH and LH levels in STZ-induced diabetic mice.

ABSTRAK**Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ)****Annisa'Hasanah**

Diabetes melitus adalah penyakit metabolismik 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 32 ekor mencit dibagi empat kelompok : K0 adalah kelompok kontrol yang 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 meliputi motilitas, viabilitas, morfologi abnormal dan konsentrasi. Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan uji Mann-Whitney. Uji normalitas dengan Shapiro-Wilk didapatkan $p<0,05$ pada semua parameter. Hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan $p<0,05$, menunjukkan ada perbedaan signifikan motilitas, viabilitas, morfologi abnormal dan konsentrasi pada keempat kelompok perlakuan. Uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan signifikan motilitas antar kelompok ($p<0,05$); viabilitas berbeda signifikan pada K0 dan K1, K1 dan K2 serta K1 dan K3, serta tidak berbeda signifikan ($p>0,05$) pada K0 dan K2, K0 dan K3, serta K2 dan K3; morfologi abnormal dan konsentrasi antar kelompok berbeda signifikan ($p<0,05$) pada semua kelompok yang dibandingkan kecuali pada K0 dan K3. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian jus bawang bombay dosis 0,5 g/kgBB dan 1 g/kgBB meningkatkan motilitas, viabilitas dan konsentrasi spermatozoa serta menurunkan morfologi abnormal spermatozoa mencit yang dijadikan DM dengan induksi STZ.

Kata kunci : Jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.), kualitas spermatozoa, mencit, streptozotocin (STZ)

ABSTRACT**Onion (Allium cepa Linn.) Juice Effect on Spermatozoa Quality in Streptozotocin (STZ) Induced Mice****Annisa'Hasanah**

Diabetes mellitus 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) was given a placebo and 1 g/kgBW onion juice, K1 was a group of low dose STZ-induced diabetes control, K2 was low dose STZ induced group and 0.5 g/kgBW onion juice, K3 was low dose STZ induced group and 1 g/kgBW onion juice. Spermatozoa quality which examined include motility, viability, abnormal morphology and concentration. 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, viability, abnormal morphology and concentration in all four treatment groups. Mann-Whitney test showed a significant difference in motility between groups ($p<0.05$); viability different significantly at the K0 and K1, K1 and K2 and K1 and K3, and did not differ significantly ($p>0.05$) on K0 and K2, K0 and K3, and K2 and K3, abnormal morphology and concentration were significantly different between groups ($p<0.05$) in all groups compared except for K0 and K3. The conclusion of this study was 0.5 g/kgBW and 1 g/kgBW onion juice increased motility, viability and concentration of spermatozoa and decreased abnormal spermatozoa morphology of STZ-induced diabetic mice.

Keywords : Onion juice (Allium cepa Linn.), spermatozoa quality, mice, streptozotocin (STZ)