

UJI EFEKTIVITAS *L-CARNITINE* TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIBERI PAKAN TINGGI LEMAK

(EFFECTIVENESS OF *L-CARNITINE* ON SPERMATOZOA QUALITY IN MALE MICE (*Mus musculus*) GIVEN HIGH FAT FEED)

Ni Wayan Sukma Antari^{*}, Ida Ayu Manik Damayanti^{}**

^{*)**} Institut Teknologi dan Kesehatan Bali

Email: sukma.antari91@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan kualitas spermatozoa dan hormon testosteron setelah pemberian *L-carnitine* terhadap pada Mencit Jantan (*Mus musculus*).

Metode: Penelitian ini dilakukan dengan memberikan *L-carnitine* sebagai perlakuan selama 42 hari pada Mencit Jantan dengan variasi dosis 100 mg/kg bb, 150 mg/kg bb dan 200 mg/kg bb dan menggunakan kontrol sebagai pembanding. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah kualitas spermatozoa yaitu: morfologi, motilitas, viabilitas, integritas membrane dan melihat kadar hormon testosteron.

Hasil: Data hasil penelitian diolah menggunakan program statistik komputer (*SPSS 22.0 for Windows*) dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

Kesimpulan: Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian suplemen *L-carnitin* dengan dosis tinggi dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan menurunnya kualitas spermatozoa yaitu: morfologi, motilitas, viabilitas, dan integritas membran

Kata kunci: Kualitas Spermatozoa, *L-carnitine*

ABSTRACT

Background: This study aims to find out the improvement in the quality of spermatozoa and testosterone hormone after the administration of *L-carnitine* against males mice (*Mus musculus*). **Method:** This study was conducted by giving *L-carnitine* as a treatment for 42 days in Male Mice with a dose variation of 100 mg/kg bb, 150 mg/kg bb and 200 mg/kg bb and using control as a comparison. The variables observed in this study are spermatozoa quality namely: morphology, motility, viability, membrane integrity and looking at testosterone hormone levels.

Result: The research data is processed using computer statistics program (*SPSS 22.0 for Windows*) using *One Way Anova* test.

Conclusion: The results showed that the administration of high doses of *L-carnitin* supplements over a long period of time can lead to decreased quality of spermatozoa namely: morphology, motility, viability, and membrane integrity.

Keywords: Quality of Spermatozoa, *L-carnitine*

LATAR BELAKANG

Salah satu penyakit gangguan kesehatan reproduksi pria yang terjadi pada usia subur adalah infertilitas. Infertilitas adalah ketidakmampuan untuk mengandung sampai melahirkan bayi hidup setelah satu tahun melakukan hubungan seksual (intercourse) yang teratur dan tidak menggunakan alat kontrasepsi apapun (Djuwantono, 2008) Pengobatan alternatif untuk mengobati infertilitas sedang gencar dilakukan, Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi zat alami yang dapat melindungi tubuh dari stres oksidatif seperti penggunaan senyawa antioksidan yang terdapat dalam buah, sayur, tanaman bij-bijian dan suplemen kesehatan. Salah satu kandungan pada suplemen kesehatan yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan infertilitas adalah *L-carnitine*.

Kandungan *L-carnitine* merupakan substansi yang berasal dari asam amino esensial metionin dan lisin yang memiliki sifat seperti vitamin namun tidak bisa dikategorikan sebagai vitamin. *L-carnitine* yang sering dikonsumsi untuk proses pembakaran lemak tubuh ternyata merupakan zat esensial yang dapat meningkatkan kesuburan pria karena kemampuannya yang dapat membantu meningkatkan metabolisme energi dan pematangan spermatozoa (Vicari et al., 2001).

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai uji infertilitas dengan melihat kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas, morfologi, viabilitas, integritas membran spermatozoa terhadap hewan uji Mencit Jantan dengan pemberian *L-carnitine* murni.

METODE

Penelitian ini dilakukan dengan memberikan *L-carnitine* sebagai perlakuan selama 42 hari pada Mencit Jantan. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari empat kelompok dimana satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Pengelompokan dilakukan secara randomisasi. Masing-masing kelompok akan diberikan perlakuan secara peroral selama 42 hari berdasarkan 1 siklus spermatogenesis pada Mencit. Pada hari ke-42 Mencit dikorbankan lalu dibedah, Mencit dikorbankan dengan menggunakan *kloroform* dan dibedah dibagian abdomen, selanjutnya testis dibersihkan dari jaringan lain. diambil epididimis bagian cauda. Untuk

pengujian hormon testosteron menggunakan darah yang diambil dari bagian jantung, pengukuran kadar hormone menggunakan KIT ELISA.

Koleksi spermatozoa epididimis

Epididimis bagian cauda dipotong dan dicacah dalam 1 mL larutan NaCl 0,9% dengan pH 7,2-7,4 menggunakan gunting sampai terbentuk suspensi spermatozoa. Cairan spermatozoa digunakan untuk mengukur kualitas sperma yang terdiri dari motilitas, morfologi, viabilitas dan integritas membran spermatozoa.

HASIL

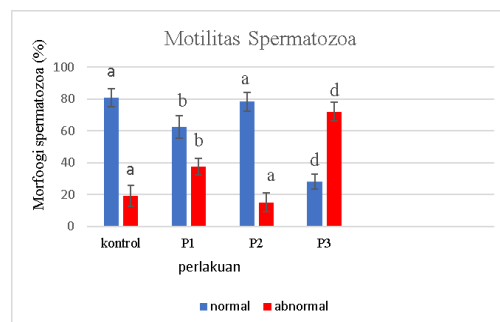
Penelitian yang dilakukan menggunakan bahan suplemen yang mengandung *L-carnitine* sebagai bahan untuk meningkatkan kualitas spermatozoa dan kadar hormon testosteron, setelah dilakukan penelitian dengan memberikan suplemen yang mengandung *L-carnitine* pada Mencit Jantan dengan dosis yang sesuai dengan langkah pada rancangan penelitian yang telah ditetapkan kemudian data penelitian diuji menggunakan SPSS 21.0 dimana hasil yang didapat menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov menunjukkan data tidak terdistribusi normal dengan nilai $P < 0,05$, selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang hasilnya menunjukkan data tidak homogen, dengan nilai $P < 0,05$. Setelah itu dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis untuk menentukan data hasil uji bernilai signifikan. Adapun hasil uji statistik akan dijabarkan di bawah ini:

Pengaruh *L-carnitine* terhadap motilitas spermatozoa

Pada hasil pengukuran kecepatan motilitas yang diukur pada 100 sel spermatozoa dengan 3x pengulangan dan menggunakan 2 katagori yaitu:

A: spermatozoa yang bergerak cepat ke depan

B: spermatozoa yang bergerak ditempat

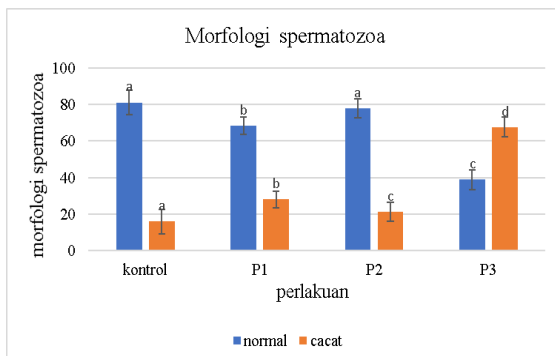


Gambar 1 Pengaruh *L-carnitine* terhadap motilitas spermatozoa dimana nilai a pada Kontrol dan P2 menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Sedangkan huruf a,b dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol dengan P1 dan P3 dengan nilai $P < 0,05$.

Pengaruh *L-carnitine* terhadap morfologi spermatozoa

Hasil perhitungan morfologi sperma dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x10, dimana perhitungan morfologi spermatozoa dibagi menjadi 2 katagori yaitu:

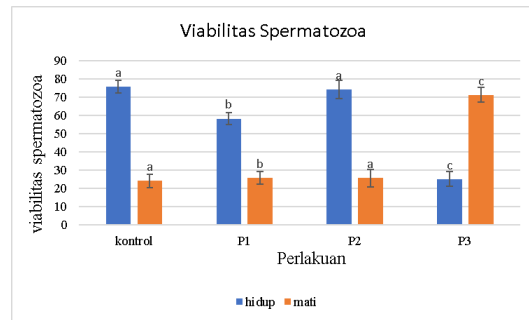
- A : Spermatozoa normal ditandai dengan bagian kepala yang berbentuk seperti kait atau bulan sabit, ekor utuh dan lurus
- B : ditandai dengan kepala yang terputus, adanya *sitoplasmic droplet* yang masih tersisa di membran sel spermatozoa, ekor yang melengkung dan patah.



Gambar 2. Pengaruh *L-carnitine* terhadap morfologi spermatozoa dimana nilai a pada Kontrol dan P2 menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Sedangkan huruf a,b dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol dengan P1 dan P3 dengan nilai $P < 0,05$.

Pengaruh *L-carnitine* terhadap viabilitas spermatozoa

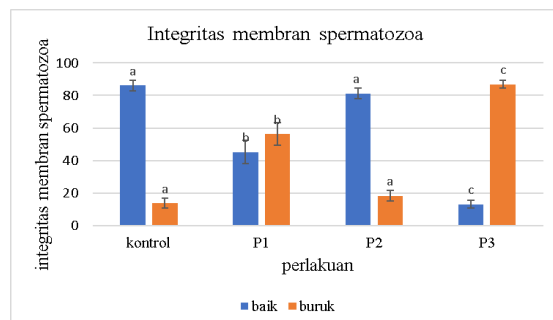
Pengukuran terhadap viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 100 sel spermatozoa. Spermatozoa mati ditandai dengan adanya peyerapan zat warna Eosin 1% dan Nigrosin 10%, sedangkan spermatozoa yang hidup ditandai dengan tidak ada peyerapan warna (bening)



Gambar 3 Pengaruh *L-carnitine* terhadap viabilitas spermatozoa dimana nilai a pada Kontrol dan P2 menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Sedangkan huruf a,b dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol dengan P1 dan P3 dengan nilai $P < 0,05$.

Pengaruh *L-carnitine* terhadap integritas membran spermatozoa

Pengamatan terhadap integritas membran spermatozoa dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 100 sel spermatozoa. Integritas membran spermatozoa yang baik dapat dilihat dari adanya pembengkakan dan melingkar pada bagian ekor, sedangkan untuk integritas membran spermatozoa yang rusak (buruk) dapat dilihat dari tidak adanya pembengkakan dan ekor berbentuk lurus.



Gambar 4. Pengaruh *L-carnitine* terhadap Integritas spermatozoa dimana nilai a pada Kontrol dan P2 menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Sedangkan huruf a,b dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol dengan P1 dan P3 dengan nilai $P < 0,05$.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini *L-carnitine* memberikan efek yang meningkat pada motilitas spermatozoa golongan A, yaitu spermatozoa yang

yang bergerak cepat ke depan, tetapi pada dosis tertentu yaitu pada penelitian digunakan dosis 200 Mg/bb menunjukkan efek yang menurun pada motilitas spermatozoa golongan A. hal ini bisa di sebabkan karena L-carnitine bersifat toksik jika di konsumsi dengan jumlah yang berlebih. L-carnitine berperan dalam transpor asam lemak rantai panjang ke dalam mitokondria untuk dioksidasi (Chatzifotis & Takeuchi, 1997; Owen et al., 2001), pengaturan nisbah CoA/CoASH yang penting dalam katabolisme karbohidrat dan lemak serta laju siklus Krebs (Chatzifotis et al., 1996; Vaz et al., 2002). Pemberian L-carnitine dalam pakan dapat meningkatkan protein sparing action dari lemak, sehingga energi dari protein sebagian besar digunakan untuk sintesis protein tubuh. Pergerakan ekor spermatozoa dikendalikan oleh bagian penggerak atau dynein (outer dynein arm dan inner dynein arm) dan radial spokes yang menyusun mikrotubulus. Gerakan dari spermatozoa menggunakan energi yang dihasilkan dari mitokondria, dimana mitokondria tersusun secara spiral dan dilindungi oleh membran sel. Mitokondria akan menghasilkan energi melalui proses hidrolisis ATP dimana pergerakan terjadi dengan mengubah energi kimia menjadi energi kinetik melalui enzim ATP-ase (Hayati, 2011).

L-carnitine dengan kadar yang tinggi pada spermatozoa mengakibatkan tingginya kadar ROS, kadar ROS yang tinggi diakibatkan dari berkurangnya oksidan sehingga menimbulkan terjadinya stress oksidatif, sehingga mengakibatkan membran sel yang melindungi mitokondria pada bagian ekor menjadi rusak dan mengganggu fungsi dari mitokondria dalam menghasilkan ATP untuk pergerakan (Hoek et al., 2002).

Enzim ATP-ase berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion natrium dan kalium. Jika aktivitas enzim ATP-ase terganggu, maka homeostasis ion natrium dan kalium akan terganggu sehingga konsentrasi Na^+ intrasel meningkat, gradien Na^+ melintasi membran sel akan menurun, sehingga pengeluaran Ca^{2+} juga akan mengalami penurunan (Ganong, 2001). Apabila ion Ca^{2+} berkurang maka membran akan kehilangan kemampuannya untuk mengangkut bahan-bahan terlarut ke dalam sitoplasma (Haryati, 2003). Dengan terganggunya permeabilitas membran sperma akan menyebabkan terganggunya transpor nutrisi yang diperlukan

oleh spermatozoa untuk pergerakannya.

Analisis morfologi spermatozoa pada penelitian ini menunjukkan hasil morfologi pada kelompok control dan P2 tidak signifikan hal ini menunjukkan bahwa L-carnitine dengan dosis yang sesuai dimana pada penelitian digunakan dosis 150 Mg/bb dapat meningkatkan morfologi yang normal. Dalam hal ini L-carnitine dapat menstimulasi hormon androgen sehingga dapat meningkatkan proses spermatogenesis yang normal dan pematangan spermatozoa (Suharyati, 2013)

Pada kelompok P3 menunjukkan hasil penurunan morfologi normal dan meningkatkan morfologi abnormal pada spermatozoa Mencit Jantan jantan, hal ini disebabkan dari tingginya dosis L-carnitine yang dikonsumsi menyebabkan terjadinya kerusakan pada saat proses spermatogenesis akibat dari tingginya kadar ROS pada testis sehingga mengakibatkan terjadinya kerusakan pada membran sel dari tubulus seminiferus sehingga radikal bebas yang bersifat toksik dapat masuk kedalam tubulus seminiferus. Peningkatan kadar ROS akan menghasilkan stress oksidatif akibat kadar ROS yang tinggi dan antioksidan tidak mampu menurunkan kadar oksidan sehingga menyebabkan kerusakan sel, jaringan dan organ. Adanya abnormalitas primer dan sekunder pada spermatozoa, dimana abnormalitas primer yang terlihat berupa kepala kecil, kepala amorf dan ekor spiral, sedangkan abnormalitas sekunder yang terlihat yaitu spermatozoa tanpa kepala dan tanpa ekor. Hal ini disebabkan karena ROS mempengaruhi membran plasma spermatozoa yang mengandung fosfolipid dan asam lemak tak jenuh dalam jumlah besar, dimana asam lemak tak jenuh rentan terhadap ROS terutama radikal hidroksil yang merupakan turunan paling reaktif, ini dikarenakan radikal hidroksil akan menimbulkan reaksi rantai yang disebut peroksidasi lipid sehingga berakibat terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa yang bersifat toksik terhadap sel spermatozoa (Murray, 2003).

peningkatan kualitas spermatozoa laki-laki yang diberikan L-carnitine disebabkan karena efektivitas L-carnitine sebagai antioksidan kuat dan mencegah pembentukan radikal bebas dalam pembentukan sperma (Agarwal & Said, 2004). Hal ini dapat dijelaskan dengan adanya jumlah tinggi asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) rantai panjang dalam membran spermatozoa. Peroksida menyebabkan perubahan mendasar pada komposisi

sperma, terutama area akrosom, dan menyebabkan penurunan yang signifikan dalam viabilitas dan Integritas membran spermatozoa. Radikal bebas mengurangi kualitas spermatozoa, dan mencegah reaksi akrosom dengan membran (Aitken & Clarkson, 1987; Aitken et al., 1993). Peran *L-carnitine* pada peningkatan kualitas spermatozoa adalah mencegah pembentukan radikal bebas, yang membentuk peroksida yang menyebabkan oksidasi pada membrane spermatozoa. (Sarica et al., 2007).

KESIMPULAN

Pemberian suplemen L-carnitine dengan dosis tinggi dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa yang meliputi: morfologi, motilitas, viabilitas dan integritas membrane spermatozoa.

KEPUSTAKAAN

- Agarwal, A. & Said, T.M., 2004. Carnitine and male infertility. *Reprod. Biomed. Online* 8 (4), 376-384.
- Agarwal, A., Prabakaran, A.S.A. & Said, T.M., 2005. Prevention of oxidative stress mini-review injury to sperm. *J. Andrology* 26 (6), 654-660.
- Ganong, W.F. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Hayati, A. 2011. *Spermatologi*. LPP Unair: Surabaya
- Hoek, J.B., and J.G. Pastorino. 2004. *Cellular Signaling Mechanisms in Alcohol-Induced Liver Damage*. *Semin. Liv. Dis.* 24: 257-272
- Jacyno, E., Kolodzinj, A., Kamyczek, M., Kawecka, M., Dziadek, K. & Pietruszka, A., 2007. Effect of *L-carnitine* supplementation on boar semen quality. *Acta. Vet.* 76, 595-600.
- O'Shaughnessy, P.J., Monteiro, A., Verhoeven, G., De Gendt, K. & Abel, M.H., 2010. Effect of FSH on testicular morphology and spermatogenesis in gonadotrophin-deficient hypogonadal mice lacking androgen receptors. *Reproduction* 139, 177-184.
- Owen, K.Q., H. Ji, C.V. Maxwell, J.L. Nelssen, R.D. Goodband, M.D. Tokach, G.C. Tremblay, and S.I. Koo. 2001. Dietary *L-carnitine* suppresses mitochondrial branched-chain keto acid dehydrogenase activity and enhances protein accretion and carcass characteristics of swine. *J. Anim. Sci.* 79:3104-3112.
- Sarica, M., Corduk, M., Suicmez, F., Cedden, M., Yildirim, K., & Kilinc, L., 2007. The effects of dietary *L-carnitine* supplementation on semen traits, reproductive parameters, and testicular histology of Japanese quail breeders. *J. Appl. Poult. Res.* 16, 178-186
- Vaz, F.M., B. Melegh, J. Bene, D. Cuebas D.A. Gace, A. Bootsma, P. Vreken, A.H.V. Gennip, L.L. Biebir, and R.J.A. Wanders. 2002. Analysis of carnitine biosynthesis metabolites in urine by HPLC-electrospray tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 48(6): 826- 834.