

PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP GANJA (*CANNABIS SATIVA L.*) TERHADAP KUALITAS SPERMA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) STRAIN WISTAR

The Effect of Frequency of Marijuana Smoke Exposure (*Cannabis Sativa L.*) on Sperm Quality of White Rats (*Rattus Norvegicus*) Wistar Strain

Siti Chalizar Syifa Nasution*, Reza Maulana, Dasrul

Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh-Indonesia

*Email: chalizarsyifa@gmail.com

ABSTRAK

Infertilitas mempengaruhi sekitar 17% pasangan di seluruh dunia dan faktor gangguan pada pria bertanggung jawab sekitar setengah dari total kasus. Kualitas sperma yang buruk pada pria akibat penggunaan ganja secara akut ataupun kronik dapat menyebabkan terjadinya infertilitas. Zat yang ada di dalam ganja dapat mengganggu aksis hipotalamus-pituitari-gonad dan spermatogenesis yang akan menghasilkan kualitas sperma yang buruk. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh frekuensi paparan asap ganja sebanyak satu kali sehari, dua kali sehari, dan tiga kali sehari terhadap kualitas sperma tikus penelitian. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan *post test only control group design*. Subjek penelitian berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar sebanyak 24 ekor yang diberikan perlakuan selama 30 hari, kemudian dikorbankan untuk diambil cairan sperma melalui cauda epididymis. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kualitas sperma menggunakan tiga parameter yaitu konsentrasi, morfologi abnormal, dan motilitas sel sperma dan kemudian dibandingkan antar kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan asap ganja dapat menurunkan kualitas sperma tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Namun, frekuensi paparan asap ganja tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) terhadap kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Kesimpulan penelitian ini adalah frekuensi paparan asap ganja tidak memengaruhi kualitas sperma.

Kata kunci: kualitas sperma, tikus putih, ganja.

ABSTRACT

Infertility affects about 17% of couples worldwide and the disorders factor from male is responsible for about half of the total cases. Poor sperm quality in men because of the use of marijuana acutely or chronically can cause infertility. Substances contained in marijuana can interfere with the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and spermatogenesis can result in poor sperm quality. This research aimed to find out the effect of frequency of marijuana smoke exposure once a day, twice a day, and three times a day to the sperm quality of rats in the study. This study was an experimental study using the plan of *post test only control group design*. The subject of research was white rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain in the number of 24 that were given treatment for 30 days, then they were sacrificed to take the semen through cauda epididymis. Next, the checkup of sperm quality was conducted using three parameters, namely concentration, abnormality morphology, and motility of sperm cells and then compared among treatment groups. The results showed that marijuana smoke exposure can lower sperm quality of rats. However, the frequency of marijuana smoke exposure indicated no significant differences ($p > 0.05$) on sperm quality of white rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain. It is concluded that the frequency of marijuana smoke exposure do not affect the sperm quality.

Keywords: Sperm quality, white rats, marijuana.

PENDAHULUAN

Infertilitas adalah ketidakmampuan memiliki anak setelah setahun menikah dan melakukan hubungan senggama dengan teratur tanpa usaha menghalangi kehamilan.¹ Infertilitas mempengaruhi sekitar 17% pasangan di seluruh dunia dan faktor gangguan pada pria bertanggung jawab sekitar setengah dari total kasus.^{2,3} Salah satu faktor yang menyebabkan infertilitas adalah penyalahgunaan narkoba.⁴

Diperkirakan 246 juta orang dengan rentang usia 15-64 tahun, menggunakan narkoba pada tahun 2013. *World Drug Report 2015* menerangkan bahwa khusus untuk pengguna ganja jumlahnya mencapai 181,1 juta orang di seluruh dunia.⁵ Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan BNN bekerjasama dengan Puslitkes-UI tahun 2015, angka prevalensi penyalahgunaan narkoba berada dikisaran 2,2% atau sekitar 4.098.029 orang dari total populasi penduduk Indonesia (berusia 10-59 tahun). Badan Narkotika Nasional (BNN) menyatakan bahwa Aceh termasuk salah satu provinsi di Indonesia yang mengalami peningkatan jumlah kasus narkoba, terutama ganja.⁶

Tanaman ganja (*Marijuana*) merupakan tanaman yang mengandung zat *tetrahydrocannabinol* (THC). Telah ditemukan bahwa reseptor yang ada di tubuh yaitu reseptor *cannabinoid* 1 (CB1) berada pada sistem saraf pusat dapat bereaksi spesifik terhadap THC.⁷ *Tetrahydrocannabinol* akan lebih lama mengikat reseptor tersebut dibandingkan dengan *endocannabinoid* alami dari dalam tubuh (*anandamide*) yang dapat mengakibatkan gangguan fungsi normal reproduksi.⁸ *Tetrahydrocannabinol* (THC) menghambat pelepasan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) dari hipotalamus, LH (*Luteinizing Hormone*), dan FSH (*Follicle-Stimulating Hormone*) yang diproduksi oleh adenohipofisis. Akibatnya sekresi testosteron menurun dan spermatogenesis akan terganggu.⁹

Ganja biasanya digunakan orang seperti halnya merokok, tetapi dapat juga dikonsumsi melalui mulut. Namun, penggunaan ganja dengan secara inhalasi atau dihirup memiliki bioavailabilitas tiga kali lebih besar dari penggunaan ganja secara ekstraksi (melalui oral) sehingga menimbulkan dugaan bahwa ganja secara inhalasi memberikan pengaruh yang bermakna pada kesehatan terutama pada reproduksi.¹⁰

Menurut Warner, penelitian pada subjek laki-laki telah menunjukkan bahwa ganja dapat menyebabkan gangguan aksis hipotalamus-hipofisis-testis dengan penurunan kadar *luteinizing hormone*, penurunan testosteron, oligospermia dan penurunan motilitas sperma, sehingga hal ini dapat memengaruhi infertilitas.⁸ Menurut Alvarez, penggunaan ganja dengan frekuensi beberapa kali dalam seminggu dapat menyebabkan penurunan jumlah sel sperma, perubahan morfologi, dan motilitas sperma. Penelitian pada hewan coba juga menunjukkan penggunaan ganja secara terus-menerus dapat merusak spermatogenesis pada tahap mitosis dan meiosis. Temuan ini diperkuat dengan penelitian pada manusia, dengan lebih dari sepertiga pengguna ganja kronis menunjukkan oligospermia. Namun, penelitian mengenai pengaruh frekuensi paparan asap ganja terhadap kualitas sperma masih sangat terbatas.⁹ Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengamati pengaruh frekuensi paparan asap ganja terhadap kualitas sperma tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental yang menggunakan metode *post test only control*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk proses adaptasi hewan hingga akhir perlakuan dan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk dilakukan pembuatan suspensi semen tikus dari seluruh kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sampel penelitian ini adalah hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing terdapat 6 hewan coba yaitu kelompok kontrol (KP) yang hanya diberi pakan standar dan tidak diberikan perlakuan berupa pemberian asap ganja, kelompok perlakuan satu (P1) diberi perlakuan berupa paparan asap ganja dengan frekuensi pemaparan satu kali sehari, kelompok perlakuan dua (P2) diberi perlakuan berupa asap ganja dengan frekuensi pemaparan dua kali sehari, dan kelompok perlakuan tiga (P3) diberi perlakuan berupa paparan asap ganja dengan frekuensi pemaparan tiga kali sehari. Hewan coba sebanyak 24 ekor dari seluruh kelompok akan diberi perlakuan selama 30 hari dan dikorbankan dengan cara pemberian anastesi inhalasi kloroform dengan konsentrasi 10%. Setelah itu diambil cairan semen dari cauda epididimis hewan coba untuk selanjutnya diperiksa kualitas sperma (konsentrasi sperma, morfologi abnormal sperma, dan motilitas sperma) dengan menggunakan metode WHO.

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan terhadap kualitas sel sperma dilakukan uji normalitas terlebih dahulu yaitu uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitasnya yaitu uji *Levene*. Bila kedua uji ini dipenuhi maka selanjutnya dilakukan uji dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) satu arah untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Apabila hasil uji parametrik ANOVA menunjukkan perbedaan, maka analisis data akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar didapatkan dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala yang kemudian ditempatkan di kandang hewan coba. Hewan coba diberikan makanan rutin berupa ransum standar T79-4, minuman, dan dijaga kebersihan kandangnya untuk menghindari terjangkitnya penyakit. Selama penelitian berlangsung, terdapat satu ekor

hewan coba yang mati pada kelompok perlakuan P2, namun masih ada cadangan hewan coba pada kelompok perlakuan tersebut.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh data mengenai kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar diantaranya adalah data mengenai rata-rata konsentrasi sel sperma, persentase morfologi sel sperma abnormal, dan persentase motilitas progresif sel sperma yang dihitung setelah perlakuan.

Tabel 1. Rata-Rata Konsentrasi Sel Sperma, Persentase Morfologi Sel Sperma Abnormal, dan Persentase Motilitas Progresif Sel Sperma Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar

Kelompok	Konsentrasi Sel Sperma ($\times 10^7$ ml)	Persentase Morfologi Sel Sperma Abnormal (%)	Persentase Motilitas Progresif Sel Sperma (%)
KP	74,67 ^a	4,23 ^a	36,14 ^a
P1	55,17 ^b	8,02 ^b	12,65 ^b
P2	64,17 ^b	7,06 ^b	13,63 ^b
P3	53,50 ^b	9,89 ^b	10,20 ^b

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Secara umum hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap ganja dapat menurunkan kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar secara nyata ($P < 0,05$). Sedangkan frekuensi paparan asap ganja tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) terhadap kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar.

Data hasil evaluasi konsentrasi sel sperma, persentase morfologi sel sperma abnormal, dan persentase motilitas progresif sel sperma terdistribusi normal dan homogen. Setelah itu dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA dan dapat disimpulkan bahwa paparan asap ganja berpengaruh terhadap penurunan konsentrasi sel sperma, peningkatan persentase morfologi sel sperma abnormal, dan penurunan persentase motilitas progresif sel sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan yaitu uji Beda Nyata Terkecil yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa paparan asap ganja selama 30 hari berpengaruh terhadap penurunan konsentrasi sel sperma, peningkatan persentase morfologi sel sperma abnormal, dan penurunan persentase motilitas progresif sel sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Namun, frekuensi paparan asap ganja tidak berpengaruh secara nyata terhadap penurunan konsentrasi sel sperma, peningkatan persentase morfologi sel sperma abnormal, dan penurunan persentase motilitas progresif sel sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar.

Spermatogenesis dapat dipengaruhi oleh paparan zat berbahaya, salah satunya adalah ganja seperti pada penelitian ini.¹¹ Tanaman ganja mengandung *tetrahydrocannabinol* (THC) yang dapat memengaruhi sintesis dan pelepasan gonadotropin, produksi steroid gonad, dan spermatogenesis.¹² Meccariello *et al.* membuktikan efek cannabinoid pada reproduksi jantan dari sebuah penelitian pada landak laut menunjukkan bahwa THC secara langsung menurunkan kapasitas fertilisasi sperma melalui penghambatan reaksi akrosom yang berpengaruh pada proses fertilisasi.¹³ Grimaldi *et al.* menyatakan beberapa penelitian pada laki-laki yang merokok ganja, juga ditemukan penurunan kadar plasma testosteron, FSH, dan LH dan efek ini juga terlihat pada hewan percobaan setelah pemberian akut dan kronis dari THC.¹⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Plessis *et al.* pada 1.700 peserta yang dipapar asap ganja menunjukkan kecenderungan peningkatan jumlah morfologi sperma yang abnormal.¹¹ Whan *et al.* dalam penelitiannya menyatakan spermatozoa manusia yang menggunakan ganja sebagai terapi ataupun untuk rekreasi menunjukkan dengan jelas penurunan persentase spermatozoa motil dan progresif motil.¹⁵

Pada penelitian ini, terdapat perbedaan yang nyata antara kualitas sperma (konsentrasi, morfologi abnormal, dan motilitas) tikus putih kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi paparan asap ganja satu kali per hari (P1), dua kali per hari (P2), dan tiga kali per hari (P3). Kualitas sperma pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3, mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Terjadinya penurunan konsentrasi sperma tikus putih pada kelompok paparan asap ganja, kemungkinan diakibatkan oleh adanya kandungan THC dalam asap ganja yang dapat memengaruhi sel Sertoli.¹⁶ Sel Sertoli tidak hanya memiliki reseptor CB1 dan CB2, tetapi juga memiliki reseptor *vanilloid* (TRPV1). *Anandamide* (AEA) dapat bertindak melalui reseptor-reseptor ini untuk menginduksi apoptosis dari sel-sel ini. Adenilat siklase akan diaktifkan dan menyebabkan aktivasi *Protein Kinase A* (PKA) melalui *cyclic Adenosine Monophosphate* (cAMP), sehingga menyebabkan peningkatan pelepasan enzim *Fatty Acid Amide Hydrolase* (FAAH). *Fatty Acid Amide Hydrolase* dapat menghidrolisis AEA dan akan menurunkan kadar intraselular AEA. Dengan demikian, FAAH

berperan sebagai pelindung untuk mencegah AEA yang menginduksi apoptosis.¹⁷ Apabila hal ini terganggu akibat eksogen cannabinoid seperti THC yang terkandung di dalam ganja, dapat menyebabkan apoptosis sel Sertoli lebih banyak, yang menyebabkan gangguan regulasi spermatogenesis dan penurunan produksi sperma.¹⁸ Walaupun hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap ganja dapat menurunkan konsentrasi sperma, namun frekuensi paparan asap ganja tidak berpengaruh secara nyata ($P > 0,05$) terhadap penurunan konsentrasi sperma tikus putih strain Wistar.

Pada penelitian ini juga ditemukan penurunan motilitas progresif sperma pada kelompok paparan asap ganja. Kondisi ini diduga sebagai akibat THC yang terkandung pada asap ganja dapat mengganggu fungsi mitokondria dengan mengubah membran potensial mitokondria, menghambat proses glikolisis dan fosforilasi oksidatif dalam mitokondria sehingga produksi *Adenosine Triphosphate* (ATP) menjadi berkurang. Jika hal ini terus terjadi maka dapat mengakibatkan penurunan motilitas sel sperma dan viabilitas sel sperma.¹⁹ Namun pada penelitian ini frekuensi paparan asap ganja tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0,05$) terhadap penurunan persentase motilitas progresif sperma tikus putih strain Wistar. Persentase motilitas progresif sperma pada kelompok perlakuan paparan dua kali dalam satu hari (P2) menunjukkan hasil yang lebih tinggi secara tidak nyata dibandingkan dengan kelompok perlakuan paparan satu kali dalam satu hari (P1) dan paparan tiga kali dalam satu hari (P3).

Hasil pengamatan morfologi abnormal sel sperma yang diperoleh pada penelitian ini terdiri dari abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer yang banyak dijumpai adalah kelainan pada kepala seperti kepala terlalu besar, kepala terlalu kecil dan kepala taper, sedangkan abnormalitas sekunder pada penelitian ini yang ditemukan dalam jumlah sangat sedikit yaitu ekor yang putus. Adanya abnormalitas primer diduga karena adanya gangguan spermatogenesis pada fase spermiogenesis dan gangguan maturasi sel sperma dalam epididimis. Adapun abnormalitas sekunder pada penelitian ini diduga sebagai akibat perlakuan pada saat pewarnaan dalam proses pembuatan preparat ulas. Hal ini sesuai dengan penelitian secara *in vitro* yang menunjukkan bahwa *cannabinoid* menghambat fungsi dari sel Leydig. Kondisi ini menyebabkan terganggunya produksi testosteron oleh sel Leydig sehingga terjadigangguan dalam proses pematangan sperma yang tidak maksimal dan menyebabkan morfologi sel sperma menjadi abnormal.²⁰ Walaupun dalam pengamatan ditemukan peningkatan persentase morfologi sel sperma abnormal, namun frekuensi paparan asap ganja tidak berpengaruh ($p > 0,05$) dalam meningkatkan persentase morfologi sel sperma abnormal.

Frekuensi paparan asap ganja yang menunjukkan perbedaan yang tidak nyata dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan kadar THC yang terkandung dalam asap ganja (P1, P2, dan P3) relatif sama sehingga menghasilkan kualitas sperma yang relatif sama pula. Meskipun secara statistik penurunan kualitas sperma tikus putih strain Wistar yang dipapar asap ganja tidak menunjukkan perbedaan yang nyata diantara kelompok perlakuan frekuensi paparan, namun kualitas sperma pada kelompok perlakuan paparan dua kali dalam satu hari (P2) menunjukkan penurunan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan paparan satu kali dalam satu hari (P1) dan paparan tiga kali dalam satu hari (P3).

KESIMPULAN

Paparan asap ganja dapat menurunkan kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Namun, frekuensi paparan asap ganja tidak berpengaruh terhadap penurunan kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar.

DAFTAR PUSTAKA

- Gannon JR and Thomas JW. Biennial Review of Infertility. Springer International Publishing. 2015: 3-7.
- Hu W, Chen M, Wu W, Lu J, Zhao D, Pan F, *et al.* Gene-Gene and Gene-Environment Interactions on Risk of Male Infertility: Focus on The Metabolites. *Environment International*. 2016: 188-9.
- Turchi P. Clinical Management of Male Fertility. In Cavallini, editor. Springer International Publishing; 2015: 5-11.
- Mitra S, Saha R, Bhattacharyya S, Kar KK, Verghese AC, Choudhury MD, *et al.* Cannabis Smoke Causes Up-Regulation of Akt and Bax Protein in Subfertile Patient's Sperm Cells. *J Addict Res Ther*. 2015; 6(4): 4.
- Azizi H. World Drug Report 2015. United Nations Office Drugs and Crime. 2015: 58-61.
- Prasetyo S, Panggabean L, Sarasvita R, Poernamasasi IO, Raharjo B, Utami DS, dkk. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan Kementerian Kesehatan RI: Gambaran Umum Penyalahgunaan Narkoba di Indonesia. Kementerian Kesehatan RI. 2014: 3-9.
- Battista N, Meccariello R, Cobellis G, Pirazzi V, Fasano S, Tommaso MD, *et al.* The Role of Endocannabinoids in Gonadal Function and Fertility Along The Evolutionary Axis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012: 2-3.
- Warner TD, Dikea RR, Marylou B. It's Not Your Mother's Marijuana: Effects on Maternal-Fetal Health and the Developing Child. *J Perinatol*. 2014; 41(4): 6.
- Alvarez S. Do Some Addictions Interfere With Fertility?. *Fertility and Sterility*. 2015; 103(1): 23.
- Greydanus D E. Marijuana: Current Concepts. *Frontiers in Public Health*. 2013; 1(42): 1-4.
- Plessis SS, Agarwal A, Syria A. Marijuana. Phytocannabinoids, the Endocannabinoid System, and Male Fertility. *J Assist Reprod Genet*. 2015; 32: 1575-1588.

12. Cottone E, Pomatto V, Bovolín P. Role of the Endocannabinoid System in the Central Regulation of Nonmammalian Vertebrate Reproduction. *International Journal of Endocrinology*. 2013; 1-4.
13. Meccariello R, Battista N, Bradshaw HB, Wang H. Updates in Reproduction Coming from the Endocannabinoid System. *International Journal of Endocrinology*. 2014; 1-8.
14. Grimaldi P, Giacomo DD, Geremia R. The Endocannabinoid System And Spermatogenesis. *Experimental Endocrinology*. 2013; 4(192): 1-4.
15. Whan LB, West MC, McClure N, Lewis SE. Effects of Delta-9-Tetrahydrocannabinol, the Primary Psychoactive Cannabinoid in Marijuana, on Human Sperm Function in Vitro. *Fertil Steril*. 2006; 85(3): 653-60.
16. Chianese R, Ciaramella V, Scarpa D, Fasano S, Pierantoni R, Meccariello R. Endocannabinoids and Endovanilloids: A Possible Balance in the Regulation of the Testicular GnRH Signalling. *International Journal of Endocrinology*. 2013; 2-3.
17. O'Connell M, McClure N, Powell LA, Steele EK, Lewis SE. Differences in Mitochondrial and Nuclear DNA Status of High-Density and Low-Density Sperm Fractions After Density Centrifugation Preparation. *Fertil Steril*. 2003; 79(Suppl 1): 754-62.
18. Lewis SEM, Paro R, Borriello L, Simon L, Robinson L, Dincer Z, et al. Long-Term Use of HU210 Adversely Affects Spermatogenesis in Rats by Modulating The Endocannabinoid System. *International Journal of Andrology*. 2012; 1-8.
19. Lewis SEM, Rapino C, Tommas MD, Pucci M, Battista N, Paro R, et al. Differences in the Endocannabinoid System of Sperm from Fertile and Infertile Men. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): 1-2.
20. Brown T and Adrian S. Endocrine Effects of Marijuana. *Journal of Clinical Pharmacology*. 2002; 42: 90-4.