

## PROTEKSI SPERMATOZOA DENGAN PROPOLIS TERHADAP ROS PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI OLEH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

Oleh:

**Taufiqurrachman, Eni Widayati, Anindiya Kusuma W**

Bagian Andrology dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam  
Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

### Abstrak

**Pendahuluan:** Pemberian MSG dapat menurunkan jumlah sel sertoli dan sel leydig. Propolis, bahan yang dikumpulkan oleh lebah madu merupakan antioksidan kuat, mampu bertindak sebagai *non-enzymatic radical scavenger*. Belum jelas apakah propolis dapat memproteksi spermatozoa akibat serangan ROS yang diinduksi oleh MSG.

**Metode:** *Post Test Control Group Design* dengan sampel 25 tikus jantan galur Wistar umur 90 hari, berat badan  $\pm$  200 gram, dibagi menjadi 5 group secara random. Setelah satu minggu aklimatisasi, treatment diberikan dua kali sehari selama 30 hari. Hari ke 31, cauda epididimis sampai ampula vas deferens dipotong, ditampung dalam gelas ukur yang berisi garam fisiologis. Konsentrasi dan morfologi spermatozoa diperiksa sesuai standard WHO.

**Hasil:** Hasil analisis anova menunjukkan ada perbedaan bermakna di antara group ( $p=0.000$ ). Analisis Post Hoc menunjukkan, konsentrasi spermatozoa pada propolis 9 dan 18 mg, tidak berbeda bermakna dibanding aquadest ( $p=1.000; 0.780$ ), propolis 27 mg berbeda bermakna dibanding aquadest ( $p = 0.006$ ). Konsentrasi spermatozoa propolis 27 mg berbeda bermakna dibanding propolis 9 mg, tidak ada perbedaan dibanding propolis 18 mg ( $p = 0.073$ ). Morfologi normal spermatozoa pada propolis 9, 18, dan 27 mg, tidak berbeda bermakna dibanding aquadest ( $p = 0.079; 0.551; 0.279$ ). Dibanding propolis 9 mg, morfologi normal spermatozoa propolis 18, dan 27 mg berbeda bermakna ( $p = 0.014; 0.004$ ), antara propolis 18 mg dengan propolis 27 mg tidak berbeda bermakna ( $p = 0.985$ ).

**Kesimpulan:** Pemberian propolis dengan dosis 9, 18, dan 27 mg perhari selama 30 hari mampu meningkatkan konsentrasi dan persentase normal spermatozoa pada tikus yang diinduksi dengan MSG.

**Kata Kunci :** MSG, propolis, spermatozoa

### Pendahuluan

Monosodium glutamate (MSG) adalah garam dari asam glutamate, merupakan salah satu asam amino dengan jumlah paling melimpah. Meskipun asam glutamate banyak terdapat di alam, namun banyak diproduksi secara komersial sebagai penyedap masakan.<sup>1,2</sup> Beberapa studi menyebutkan bahwa mengkonsumsi MSG dapat menimbulkan gejala seperti mati rasa, lemah, semburan panas, berkeringat, pusing, dan sakit kepala yang dikenal sebagai Syndrome Restaurant China (SRC).<sup>3</sup> Selain SRC, MSG juga menimbulkan efek toksik lain seperti kerusakan neuron hypothalamus dan penurunan daya ingat.<sup>4</sup> Efek tersebut lebih

disebabkan oleh reaksi radikal bebas (ROS) yang dihasilkan oleh MSG dengan asam lemak tak jenuh membran sel. Propolis, bahan getah lipofilic yang dikumpulkan oleh lebah madu merupakan antioksidan potensial yang mampu bertindak sebagai *non-enzymatic radical scavenger* sehingga dapat mencegah berbagai kerusakan sel akibat stress oksidatif. Namun masih belum jelas apakah antioksidan propolis dapat memproteksi spermatozoa terhadap kerusakan akibat ROS yang diinduksi oleh MSG.

Pengungkapan efek proteksi propolis terhadap spermatozoa akibat paparan ROS yang diinduksi oleh MSG secara *in vivo* menjadi sangat penting, mengingat jumlah

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa tertinggi adalah pemberian propolis 27 mg, kemudian diikuti oleh propolis 18 mg, propolis 9 mg, aquadest, dan MSG yang paling rendah. Analisis statistik anova menunjukkan ada perbedaan

bermakna di antara kelima group ( $p=0.000$ ). Dilanjutkan dengan analisis statistik post Hoc Tukey HSD untuk menguji perbedaan variabel konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa di antara dua group dengan hasil seperti tertera pada tabel 2.

**Tabel 2. Proteksi Spermatozoa dengan Propolis terhadap ROS pada tikus jantan Galur Wistar yang diinduksi oleh *Monosodium Glutamat* (MSG)**

Antar- group	Konsentrasi ( $10^6/ml$ )			Morfologi (%)		P
	Rerata (juta)	Delta	p	Rerata (%)	Delta	
Aquadest : MSG	5,300 : 3,320	1,98	0.004	98.40 : 92.60	5.80	0.000
Aquadest : propolis 9	5,300 : 5,320	0,02	1.000	98.40 : 96.80	1.60	0.279
Aquadest : propolis 18	5,300 : 5,840	0,54	0.780	98.40 : 99.60	1.20	0.551
Aquadest : propolis 27	5,300 : 7,160	1,86	0.006	98.40 : 100.0	1.60	0.279
MSG : propolis 9	3,320 : 5,320	2,00	0.003	92.60 : 96.80	4.20	0.000
MSG : propolis 18	3,320 : 5,840	2,52	0.000	92.60 : 99.60	7.00	0.000
MSG : propolis 27	3,320 : 7,160	3,84	0.000	92.60 : 100.0	7.40	0.000
Propolis 9 : propolis 18	5,320 : 5,840	0,52	0.802	96.80 : 99.60	2.80	0.014
Propolis 9 : propolis 27	5,320 : 7,160	1,84	0.007	96.80 : 100.0	3.20	0.004
Propolis 18 : propolis 27	5,840 : 7,160	1,32	0.073	99.60 : 100.0	0.40	0.985

Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa pada aquadest berbeda bermakna dibanding MSG ( $p=0.004$ ;  $0.000$ ). Hal ini membuktikan bahwa MSG sangat berpengaruh terhadap penurunan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa dibanding aquadest atau normal.

Konsentrasi spermatozoa pada propolis 9 dan 18 mg, tidak berbeda bermakna dibanding aquadest ( $p=1.000$ ;  $0.780$ ), sementara propolis 27 mg berbeda bermakna dibanding aquadest ( $p = 0.006$ ). Konsentrasi spermatozoa pada propolis 27 mg berbeda bermakna dibanding propolis 9 mg, tetapi tidak berbeda bermakna dibanding propolis 18 mg.

Persentase morfologi normal spermatozoa pada propolis 9, 18, dan 27 mg, tidak berbeda bermakna dibanding aquadest

( $p = 0.079$ ;  $0.551$ ;  $0.279$ ). Dibanding propolis 9 mg, persentase normal spermatozoa pada propolis 18, dan 27 mg menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0.014$ ;  $0.004$ ), sedangkan antara propolis 18 mg dengan propolis 27 mg tidak menunjukkan perbedaan bermakna ( $p = 0.985$ ). Hasil analisis tersebut memberikan gambaran bahwa pemberian propolis dengan dosis 9, 18, dan 27 mg dua kali sehari selama 30 hari mampu meningkatkan konsentrasi dan persentase normal spermatozoa pada tikus yang diinduksi dengan MSG.

#### Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MSG dapat menurunkan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa. Penurunan ini tampak disebabkan oleh ROS

dan peroksidasi lipid yang timbul akibat pemberian MSG. Terbukti dari hasil studi yang dilakukan oleh Farombi dan Onyema yang menyatakan bahwa pemberian MSG dapat meningkatkan pembentukan MDA sebagai hasil reaksi antara radikal OH<sup>-</sup> dengan asam lemak tidak jenuh membran sel, yang banyak terdapat pada liver, ginjal, otak, dan spermatozoa.<sup>7,8</sup> Oleh karena itu peningkatan MDA akibat MSG dapat dipakai sebagai indikator peningkatan kadar ROS yang tinggi dalam tubuh. Kerusakan membran sel dan DNA baik mitokondria maupun inti sel yang disebabkan oleh peroksidasi lipid, menyebabkan spermatozoa mengalami apoptosis. Bukti terjadi apoptosis akibat pemberian MSG dilaporkan oleh Pavlovic dkk bahwa, pemberian MSG secara bermakna dapat mengontrol laju apoptosis thymosit dalam kultur dan penurunan protein Bcl-2, sehingga terjadi perubahan rasio Bcl-2/Bax yang mengarahkan sel menuju apoptosis.<sup>9</sup> Akibat apoptosis konsentrasi dan persentase normal morfologi spermatozoa mengalami penurunan. Namun apoptosis yang terjadi pada spermatozoa tidak semua berhasil baik, sebagian ada yang mengalami kegagalan yang kemudian dikenal sebagai *abortive apoptosis*. Konsekuensi dari *abortive apoptosis*, spermatozoa mengalami perubahan morfologi, selain cacat DNA permanen. Akibatnya spermatozoa tidak mampu lagi melakukan fusi dan fertilisasi terhadap ovum.<sup>14</sup>

Propolis, senyawa yang kaya akan flavonoid merupakan antioksidan potensial, sehingga dapat menetralkan ROS yang terbentuk akibat induksi MSG atau senyawa lain.<sup>7,15</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa propolis dengan dosis 9, 18, dan 27 mg yang diberikan dua kali sehari selama 30 hari bersamaan dengan MSG, dapat meningkatkan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa secara

bermakna. Hal ini diduga kuat disebabkan oleh kerja propolis sebagai antioksidan yang mampu bertindak sebagai *non-enzymatic radical scavenger*. Keberadaan propolis dalam spermatozoa, dapat mengembalikan keseimbangan antara ROS dengan antioksidan setelah mendapatkan MSG. Keseimbangan tersebut menyebabkan spermatozoa terhindar dari kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif, sehingga tidak mengalami apoptosis, penurunan konsentrasi dan persentase morfologi normal. Di sisi lain, kondisi tersebut memberi kesempatan pada spermatozoa melakukan perbaikan, sehingga terjadi peningkatan konsentrasi dan persentase morfologi normal. Keseimbangan ROS dan oksidan yang ideal ini diduga kuat mulai tercapai pada dosis propolis 9 mg, sedangkan titik optimalnya tercapai pada dosis 18 dan 27 mg. Terbukti dari hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa kedua dosis terakhir dapat meningkatkan konsentrasi dan persentase morfologi normal sama dengan bahkan lebih baik dibanding aquadest (normal). Namun, di sisi lain belum dapat diketahui apakah propolis dosis 18 dan 27 mg yang diberikan kepada tikus, dapat memperbaiki cacat DNA. Mengacu pada hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa terjadi peningkatan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa secara bermakna dibanding MSG bahkan aquadest (normal). Selanjutnya dapat dipostulasikan bahwa, propolis 18 dan 27 mg paling tidak telah mampu memberi kesempatan kepada DNA untuk melakukan reparasi atau mengurangi kecacatan DNA. Meskipun demikian masih perlu penelitian lebih lanjut untuk memeriksa secara langsung kerusakan dan perbaikan DNA, mengingat penelitian ini juga tidak memeriksa motilitas spermatozoa yang berhubungan erat dengan keutuhan DNA inti dan DNA mitokondria serta fungsi fosforilasi oksidatifnya.

Hasil penelitian multicenter WHO pada tahun 1982 – 1985 menyebutkan bahwa 20% kasus infertilitas berasal dari faktor pria, 38% berasal dari faktor wanita, 27% merupakan faktor yang berasal dari keduanya, sedangkan 15% sisanya belum tentu berasal dari salah satu anggota partner.<sup>16</sup> Menurut Muratori dkk pada th 2008, bahwa infertilitas faktor pria murni atau kombinasi dengan faktor wanita mempunyai sumbangan terhadap infertilitas sampai 50%.<sup>17</sup> Angka infertilitas tersebut kemungkinan semakin meningkat, akibat penurunan fungsi sperma yang disebabkan oleh reactive oxygen species (ROS).<sup>7,18,19</sup> Bukti menunjukkan bahwa, saat ini 30% sampai 80% dari kasus infertilitas pria disebabkan oleh stress oxidative spermatozoa yang berhubungan dengan berbagai faktor predisposisi. Faktor predisposisi yang dimaksud adalah: spermatozoa immature, kapasitas antioxidant yang rendah pada seminal plasma dan spermatozoa, inflamasi pada saluran reproduksi, serta berbagai senyawa kimia yang dapat menginduksi produksi ROS pada saluran reproduksi termasuk MSG.<sup>7,8,20</sup> Untuk melindungi sel akibat serangan ROS, tubuh menyediakan system pertahanan biokimiawi guna menangkal efek ROS dengan cara membatasi produksi ROS. Namun kapasitas pembentukan antioksidan dalam plasma dan spermatozoa sangat rendah, sehingga memerlukan input dari luar untuk menjaga keseimbangan prooksidan dan antioksidan.<sup>7,8</sup> Dikenal dua macam antioksidan yaitu antioksidan preventif dan *chain breaking reaction*.<sup>21</sup> Antioksidan preventif adalah antioksidan yang mampu menghambat pembentukan ROS pada fase inisiasi seperti enzim catalase, peroksidase, dan glutathion peroksidase.<sup>8</sup> Antioksidan preventif, tetap menyisakan ROS meskipun dalam jumlah sedikit. Jumlah ROS yang tersisa akan bertambah besar apabila ditambah oleh ROS

yang yang diinduksi oleh MSG dari luar (bumbu masak). Oleh karena itu diperlukan *Chain breaking* antioksidan yang berguna untuk memecah rangkaian reaksi ROS pada fase propagasi.

Antioksidan yang termasuk golongan *Chain breaker* terbagi menjadi dua bagian. Bagian yang pertama adalah antioksidan yang larut dalam air seperti: asam urat, bilirubin, albumin, thiols, dan vitamin C. Bagian yang kedua adalah antioksidan yang larut dalam lemak meliputi: vitamin E, carotenoid, ubiquinol, polifenol (flavonoid), asam caffeat phenetyl ester (CAPE), dan propolis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa propolis terbukti dapat memproteksi spermatozoa dari kerusakan akibat serangan ROS yang diinduksi oleh MSG. Hasil studi Koyu dkk tentang CAPE yang merupakan komponen propolis juga terbukti mampu memproteksi liver dari stress oksidatif yang diinduksi oleh radiasi medan electromagnetic 900 MHz.<sup>15</sup> El-Sayed dari Azhar University Mesir juga melaporkan bahwa propolis dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu menurunkan kadar MDA pancreas dan NO ke kadar normal serta dapat meningkatkan aktivitas glutathion tereduksi dan catalase pada tikus diabetes yang diinduksi dengan streptozotocin.<sup>22</sup> Berbagai data dari hasil penelitian tersebut, selanjutnya dapat dideduksikan bahwa propolis dapat memproteksi sel akibat stress oksidatif baik pada spermatozoa atau sel somatic lain akibat serangan radikal bebas (ROS).

Peningkatan kadar MDA yang diinduksi oleh MSG ternyata juga dapat diturunkan secara bermakna dengan pemberian secara tunggal atau kombinasi antara vitamin C, vitamin E, dan quercetin.<sup>6,13</sup> Oleh karena itu untuk memproteksi kerusakan spermatozoa akibat serangan ROS oleh sebab apapun dapat dilakukan dengan terapi tunggal atau kombinasi vitamin C, vitamin E,

quercetin, melatonin, dan propolis, namun pemberian antioksidan kombinasi lebih disukai. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

### **Kesimpulan**

Mengacu pada hasil penelitian ini dan pembahasannya, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian propolis dengan dosis 9, 18, dan 27 mg dua kali sehari selama 30 hari mampu meningkatkan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi dengan MSG.

### **Ucapan Terima Kasih**

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Dra. Aditya Marianti, M.Si sebagai kepala Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dan seluruh staf yang membantu dalam penelitian ini. Semoga amal dan budi baik beliau diterima oleh Allah Tuhan Yang Maha Esa.

### **Daftar Pustaka**

1. Kwok RHM. Chinese-restaurant syndrome. *New England Journal of Medicine*, 1968, 278, p. 796.
2. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: A literature review. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, 18, 2006, p. 482 – 86.
3. Geha RS, Beiser A, Patterson R, Grammar LC et al. Review of allergic reaction to monosodium glutamat and outcome of multicenter double blind placebo controlled study. *J nutr*, 2000, 130, p. 1032 – 38.
5. Park CH, Choi SH, Piao Y, Kim S, et al. Glutamate and aspartate impair memory retention and damage hypothalamic neurons in adult mice. *Toxicol Lett* 2000; 115: 117 – 25.
6. Bergen HT, Mizuno TM, Taylor J. Hyperphagia and weight gain after gold thioglucose and monosodium glutamate: relation to hypothalamic neuropeptide Y. *Endocrinology*, 139, 1998, p. 4483 – 88.
8. Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E, and quercetine.
9. Kefer JC, Agrawal A, Sabanegh E. role of antioxidant in the treatment of male infertility. *International journal of Urology* 2009; 16, 449 – 57.
10. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress and male infertility. *Indian J Med Res* 2009; 129, 357 - 67.
11. Pavlovic V, Cekik S, Kocic G, Sokolovic D, Zivkovic V. Effect of monosodium glutamate on apoptosis and Bcl-2/Bax protein level in rat thymocyte culture. *Physiol. Res*, 56, 2007, 619 – 26.
12. Walker P, Crane E. Constituents of Propolis. *Apidologie* 1987; 18, 4, 327 - 34.
13. Burdock GA. Review of the biological property and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem. Toxicol* 1998; 36, 347 – 63.
14. Ansorge S, Reinhold D, Lendeckel U. Propolis and Some of its constituents Down-Regulate DNA Synthesis and Inflammatory Cytokine Production but induce TGF- $\alpha$ 1 Production of Human Immune Cells. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tubingen* 2003; 580 - 89
15. Taufiqurrachman, Widayati E. Potensi restorasi vitamin c terhadap kualitas spermatozoa akibat paparan monosodium glutamat (Studi Experimental pada Tikus Jantan Galur Wistar). *MAI* September 2010; 35-36, 1402 - 14.

16. Agrawal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online* 2004; 616 – 27.
17. Koyu A, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Cesur G, Ozcelik N. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on oxidative stress in rat liver exposed to the 900 MHz electromagnetic field. *Toxicology and Industrial Health* 2009; 25, 429 – 34.
18. World Health Organization. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of infertile couples. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2000.
19. Muratori M, Luconi M, Marchiani S, et al. Molecular markers of human sperm functions. *International Journal of Andrology* 2008; 32: 25–45.
20. Auger J, Eustache F, Andersen AG *et al.* Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities. *Hum. Reprod.* 2001; 16: 2710–7.
21. Kenkel S, Rolf C, Nieschlag E. Occupational risks for male fertility: An analysis of patients attending a tertiary referral centre. *Int. J. Androl.* 2001; 24: 318–26.
22. Aitken J. Oxidative stress in the male germ line and its role in the etiology of male infertility & genetic disease. *RBM online* 2003; 7, (1): 2003; 65 - 70.
23. Niki E. Antioxidant Defens in Eukariotic Cells: an Overview. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU. *Free Radical: From Basic Science to Medicine.* Birkhauser Verlag, Switzerland 1993; 365 -71.
24. El-sayed EM, Abo-Salaem OM, Aly HA, Mansour AM. Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Pak. J. Pharm. Sci* 2009; 2 (22), 168 - 74