

KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) SETELAH PEMAPARAN OBAT NYAMUK ELEKTRIK BERBAHAN AKTIF TRANSFLUTRIN

¹Elia
²Lusiana Satiawati
²Janette. M. Rumbajan

¹Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi
²Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado
Email: e.elia11_289@yahoo.com

Abstract: Transflutrin ($C_{15}H_{12}Cl_2F_4O_2$) is an active substance, a derivative of pyrethroid compounds found in electric mosquito repellent. Previous studies showed that group of pyrethroid insecticides can play a role in causing histological changes in testes, decreased testicular weight and reducing diameter of seminiferous tubules. The purpose of this study was to determine the quality of wistar male sperm that are exposed to electric mosquito repellent with transflutrin as active ingredients. This study is experimental with completely randomized design, conducted for 52 days by using eight wistar which consists of two wistar as controls P_0 , 3 wistar with exposure to electric insect repellent for 8 hours/day (P_1), and 3 other wistar for 12 hours/day (P_2). The results of this study, the concentration of spermatozoa in the treatment group P_1 and P_2 respectively at 54.17×10^6 spermatozoa/ml and 45.5×10^6 spermatozoa / ml, in the control group P_0 of 59.25×10^6 spermatozoa/ml. Abnormal sperm motility in P_1 and P_2 is 40% and 35%, at P_0 is 45%. Morphologically normal spermatozoa in P_1 and P_2 is 49% and 78%. It can be concluded that exposure to electric mosquito repellent with transflutrin as active ingredients causes a decrease in sperm quality.

Keywords: electronic mosquito repellents, pyrethroid, transflutrin, male wistar rats, sperm quality

Abstrak: *Transflutrin* ($C_{15}H_{12}Cl_2F_4O_2$) adalah zat aktif yang merupakan senyawa turunan dari *pyrethroid* dalam obat nyamuk elektrik. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa insektisida golongan *pyrethroid* dapat menyebabkan perubahan histologis testis, menurunnya berat testis dan berkurangnya diameter tubulus seminiferus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas spermatozoa wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang dipapari obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin*. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan acak lengkap yang dilakukan selama 52 hari dengan menggunakan sampel sebanyak 8 wistar yang terdiri atas 2 wistar sebagai kontrol (P_0), 3 wistar dengan pemaparan obat nyamuk selama 8 jam/hari (P_1), dan 3 wistar lainnya selama 12 jam/hari (P_2). Hasil dari penelitian ini didapatkan konsentrasi spermatozoa pada kelompok perlakuan P_1 dan P_2 secara berurutan sebesar $54,17 \times 10^6$ spermatozoa/ml dan $45,5 \times 10^6$ spermatozoa/ml, pada kelompok kontrol P_0 sebesar $59,25 \times 10^6$ spermatozoa/ml. Motilitas spermatozoa normal pada P_1 dan P_2 adalah 40% dan 35%, pada P_0 adalah 45%. Morfologi abnormal spermatozoa pada P_1 dan P_2 adalah 49% dan 78%. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa.

Kata kunci: obat nyamuk elektrik, *pyrethroid*, *transflutrin*, tikus wistar jantan, kualitas spermatozoa

Transflutrin merupakan salah satu golongan *pyrethroid* yang memiliki rumus kimia $C_{15}H_{12}Cl_2F_4O_2$.¹ Zat ini banyak digunakan sebagai racun pembasmi nyamuk yang memiliki resiko merusak kesehatan.²

Pyrethroid yang masuk ke dalam tubuh secara inhalasi dalam waktu yang lama, selain dapat menyebabkan gangguan pada paru-paru juga dapat mengakibatkan iritasi kulit, mata, dan asma, serta menyebabkan hati tidak mampu untuk melakukan detoksifikasi secara sempurna.^{2,3} Hal ini mengakibatkan munculnya metabolit sekunder yang dapat bertindak sebagai radikal bebas, selanjutnya radikal bebas ini mengikuti peredaran darah menuju keseluruhan tubuh termasuk testis yang akan menyebabkan kerusakan.⁴ Bila testis rusak, spermatogenesis akan terganggu dan pada akhirnya akan mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dihasilkan.⁵

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa obat nyamuk inhalasi golongan *pyrethroid* yaitu *tetramethrin* dapat menyebabkan perubahan histologi testis, menurunnya berat testis dan berkurangnya diameter tubulus seminiferus.⁵ Gangguan pada testis ini mengakibatkan spermatogenesis terhambat sehingga terjadi penurunan kualitas spermatozoa, yaitu motilitas dan konsentrasi spermatozoa.⁵ Pemaparan turunan *pyrethroid* lainnya yaitu *alletrin* mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa yaitu konsentrasi, motilitas, dan morfologi tikus wistar.⁴ Pemaparan *permethrin* menyebabkan penurunan konsentrasi dan motilitas spermatozoa tikus.⁶

Bermula dari hasil penelitian yang menyebutkan bahwa obat nyamuk inhalasi golongan *pyrethroid* tersebut diatas dapat menyebabkan gangguan pada kualitas spermatozoa, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut pada obat nyamuk inhalasi golongan *pyrethroid* jenis lain yaitu *transflutrin*. Apakah obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* dapat mempengaruhi spermatogenesis

dengan indikator kualitas spermatozoa tikus wistar jantan.

METODE PENELITIAN

Bentuk penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*).

Penelitian dilakukan selama 2 bulan dari bulan Oktober - Desember 2014. Pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* terhadap tikus wistar jantan dilakukan selama 52 hari dari tanggal 16 November sampai tanggal 29 Desember 2014. Penelitian bertempat di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi.

Tikus wistar yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 8 ekor yang terdiri atas 2 ekor tikus wistar tanpa pemaparan sebagai kontrol (P_0), 3 ekor tikus wistar dengan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* selama 8 jam (P_1), serta 3 ekor tikus wistar dengan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* selama 12 jam (P_2).

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar sebanyak 8 ekor, makanan tikus berupa pelet, minuman tikus yaitu air ledeng, obat nyamuk elektrik yang mengandung *transflutrin*, kandang pemeliharaan tikus wistar kontrol berjumlah satu, kandang perlakuan berjumlah enam berukuran 31cm x 28cm x 9cm, peralatan untuk perlakuan tikus wistar yaitu karton, kabel kombinasi, colokan obat nyamuk elektrik, bilik hitung hemasitometer *Improved Neubauer*, *dissecting kit*, objek gelas, gelas penutup, pipet tetes, cawan petri, kapas, counter (alat penghitung), mikroskop listrik, kamera digital untuk fotomikrografi dan timbangan digital.

Pengambilan Sampel

Terminasi dan analisis kualitas spermatozoa dilakukan setelah perlakuan yaitu paparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* diberikan pada tikus wistar selama 52 hari.

Hewan coba diterminasi kemudian

dibedah menggunakan *disecting kit* untuk mengambil organ testis dan cauda epididimis. Cauda epididimis dipisahkan dari testis dengan cara memotong bagian proksimal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Selanjutnya, cauda epididimis dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 1 ml NaCL 0,9%, kemudian cauda epididimis dipotong-potong sampai halus dan diaduk dengan NaCL 0,9% sehingga terbentuk suspensi spermatozoa.

Pengamatan Sampel

a. Konsentrasi Spermatozoa

Suspensi spermatozoa yang telah diperoleh terlebih dahulu dibuat homogen dengan cara digetarkan dengan tangan atau diaduk dengan hati-hati dengan gelas pengaduk. Suspensi spermatozoa dihisap sebanyak 0,005 ml sampel, setelah itu cairan pengencer dihisap dalam pipet sampai tanda 1,01. Suspensi spermatozoa ditetaskan dari pipet, tepat pada pinggir gelas penutup itu hingga menyebar. Bilik hitung hemasitometer *Improved Neubauer* diletakkan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Kemudian konsentrasi spermatozoa pada bidang A, B, C, D dihitung. Total perhitungan disubsitusi

$$\text{Konsentrasi spermatozoa} = \frac{N}{1+2+3+4} \times 50.000 \text{ sperma/mL}$$

dalam rumus penentuan konsentrasi spermatozoa dalam ml suspensi sekresi cauda epididimis sebagai berikut :

N = Jumlah total spermatozoa yang dihitung pada kotak A, B, C, D.⁷

b. Motilitas Spermatozoa

Suspensi spermatozoa ditetaskan pada gelas objek menggunakan pipet tetes dan ditutup menggunakan gelas penutup. Kemudian gerakan-gerakan spermatozoa diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Empat sampai enam lapangan pandang diperiksa untuk mendapatkan 100

spermatozoa secara berurutan. Spermatozoa dihitung untuk mendapatkan presentase dari setiap kategori motilitas spermatozoa. Presentase motilitas spermatozoa yang diperoleh dibulatkan mendekati nilai yang dapat dibagi 5% (contohnya 73% menjadi 75% atau 68% menjadi 70%).⁸

Kategori motilitas spermatozoa adalah sebagai berikut:

- i. Kategori A: gerakan spermatozoa maju lurus dan cepat (progresif).
- ii. Kategori B : gerakan spermatozoa belok-belok, sulit maju lurus/lambat (nonprogresif).
- iii. Kategori C : spermatozoa diam atau tidak tampak bergerak (immotil).

Presentase motilitas spermatozoa yang normal adalah presentase dari kategori A dan B. Presentase motilitas spermatozoa yang abnormal adalah presentase dari kategori C.⁷

c. Morfologi Spermatozoa

Suspensi spermatozoa ditetaskan diatas gelas objek, kemudian dibuat preparat apus dan dikeringkan di udara. Fiksasi preparat apus dilakukan dengan metanol selama 5 menit. Pewarnaan dilakukan dengan safranin selama 5 menit. Preparat dicuci dengan akuades dan dikeringkan, kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengetahui morfologi spermatozoa tikus wistar. Presentase morfologi spermatozoa normal dan abnormal kemudian dihitung.⁹

HASIL PENELITIAN DAN BAHASAN

Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 8 ekor tikus wistar jantan. Dua ekor tikus wistar digunakan sebagai kontrol (P₀), 3 ekor tikus wistar digunakan pada perlakuan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* selama 8 jam

(P₁), serta 3 ekor tikus wistar digunakan pada perlakuan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* selama 12 jam (P₂). Perlakuan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* ini dilakukan setiap hari selama satu siklus spermatogenesis yaitu 52 hari.

Tabel 1. Hasil analisis rata-rata konsentrasi spermatozoa tikus wistar

Kelompok sampel	Rata-rata konsentrasi spermatozoa (x 10 ⁶)
P ₀	59,25
P ₁	54,17
P ₂	45,5

Keterangan: P₀, kontrol (tanpa perlakuan); P₁, pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* selama 8 jam; P₂, pemaparan obat nyamuk berbahan aktif *transflutrin* selama 12 jam.

Hasil ini menunjukkan kecenderungan penurunan rata-rata konsentrasi spermatozoa tikus wistar setelah diberikan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* dibandingkan dengan tikus wistar kontrol. Semakin lama pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin*, semakin terjadi kecenderungan penurunan konsentrasi spermatozoa tikus wistar.

Tabel 2. Hasil analisis rata-rata motilitas spermatozoa tikus wistar

Kelompok Sampel	Motilitas Spermatozoa (%)		
	Kategori A	Kategori B	Kategori C
P ₀	20	25	55
P ₁	2	35	60
P ₂	0	35	65

Keterangan: P₀, kontrol (tidak diberi perlakuan); P₁, pemaparan obat nyamuk elektrik selama 8 jam; P₂, pemaparan obat nyamuk selama 12 jam.

Hasil ini menunjukkan kecenderungan kenaikan rata-rata motilitas spermatozoa tikus wistar kategori C setelah diberikan pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* (P₁ dan P₂)

dibandingkan dengan tikus wistar kontrol (P₀).

Tabel 3. Hasil analisis rata-rata morfologi normal spermatozoa tikus wistar

Kelompok Sampel	Rata-rata morfologi normal Spermatozoa (%)
P ₀	75
P ₁	51
P ₂	22

Keterangan: P₀, kontrol (tidak diberi perlakuan); P₁, pemaparan obat nyamuk elektrik selama 8 jam; P₂, pemaparan obat nyamuk selama 12 jam.

Hasil ini menunjukkan kecenderungan penurunan rata-rata konsentrasi spermatozoa tikus wistar setelah diberikan pemaparan obat nyamuk elektrik dibandingkan dengan tikus wistar kontrol. Semakin lama pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* maka semakin terjadi penurunan rata-rata morfologi normal spermatozoa tikus wistar.

Tabel 4. Hasil analisis rata-rata morfologi abnormal spermatozoa tikus wistar

Kelompok Sampel	Rata-rata morfologi abnormal spermatozoa (%)
P ₀	25
P ₁	49
P ₂	78

Keterangan: P₀, kontrol (tidak diberi perlakuan); P₁, pemaparan obat nyamuk elektrik selama 8 jam; P₂, pemaparan obat nyamuk selama 12 jam.

Hasil ini menunjukkan lamanya pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* maka semakin terjadi penurunan rata-rata morfologi abnormal spermatozoa tikus wistar. Adapun morfologi spermatozoa abnormal yang ditemukan pada penelitian ini adalah spermatozoa dengan ekor pendek, ekor putus, kepala dua, serta kepala kecil.

Penelitian ini bertujuan untuk

mengetahui kualitas spermatozoa yaitu konsentrasi, motilitas, dan morfologi spermatozoa tikus wistar yang dipapari obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin*.

Konsentrasi spermatozoa tikus wistar yang diberikan paparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* mengalami kecenderungan penurunan konsentrasi, secara berurutan P₁ dan P₂ yaitu 54,17 x 10⁶ spermatozoa/ml dan 45,5 x 10⁶ spermatozoa/ml, dibandingkan dengan konsentrasi kontrol P₀ yaitu 59,25 x 10⁶ spermatozoa/ml. Berdasarkan data tersebut, dapat diamati semakin lama paparan obat nyamuk elektrik, semakin konsentrasi spermatozoa cenderung turun (Tabel 1).

Hasil penelitian sebelumnya juga melaporkan penurunan konsentrasi spermatozoa pada paparan obat nyamuk turunan *pyrethroid* lainnya yaitu *tetramethrin*, *permethrin*, *allethrin* pada tikus.^{4,5,6} Penurunan konsentrasi spermatozoa ini terjadi karena *pyrethroid* menghambat penyaluran kolesterol ke mitokondria dan menghilangkan konversi subsekuen dan kolesterol menjadi pregnenolon.⁷

Motilitas spermatozoa normal (kategori A dan B) dari tikus wistar yang diberikan paparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* mengalami kecenderungan penurunan presentase motilitas, secara berurutan pada P₁ dan P₂ yaitu 40% dan 35%, dibandingkan dengan kontrol P₀ yaitu 45%. Hasil sebaliknya didapatkan pada motilitas spermatozoa abnormal (kategori C) tikus wistar yang mengalami kecenderungan kenaikan presentase, secara berurutan P₁ dan P₂ sebanyak 60% dan 65%, dibandingkan dengan kontrol P₀ sebanyak 55%. Berdasarkan data tersebut, dapat diamati semakin lama paparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin*, semakin menurun presentase motilitas spermatozoa normal serta semakin naik presentase motilitas spermatozoa abnormal. Pengamatan lebih lanjut didapatkan penurunan presentase pada motilitas

spermatozoa kategori A, sedangkan motilitas kategori B dan C terjadi kecenderungan kenaikan presentase (Tabel 2). Hasil ini menyarankan bahwa setelah paparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* sebagian spermatozoa dengan motilitas normal berubah menjadi abnormal, secara spesifik perubahan presentase motilitas spermatozoa normal terjadi pada spermatozoa dengan kategori A yang berubah menjadi kategori motilitas spermatozoa normal lainnya yaitu kategori B ataupun berubah menjadi motilitas spermatozoa abnormal yaitu kategori C.

Motilitas spermatozoa tikus wistar kelas A dalam penelitian ini mengalami penurunan karena energi untuk motilitas spermatozoa disediakan dalam bentuk adenosin trifosfat yang disintesis oleh mitokondria pada bagian ekor. Sehingga apabila terjadi kerusakan pada membran mitokondria akan dapat mengganggu motilitas spermatozoa. Stres oksidatif berperan sebagai mediator kerusakan pada membran plasma, sehingga mengurangi fungsi spermatozoa. *Transflutrin* akan menyebabkan timbulnya radikal bebas yang akan memicu terjadinya stres oksidatif, sehingga akan menyebabkan kerusakan membran mitokondria dan menurunnya motilitas pada spermatozoa.⁶ Hasil penelitian sebelumnya juga melaporkan penurunan motilitas spermatozoa pada paparan obat nyamuk turunan *pyrethroid* lainnya yaitu *tetramethrin*, *permethrin*, *allethrin* pada tikus wistar.^{4,5,6}

Morfologi spermatozoa normal tikus wistar yang diberikan paparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* mengalami kecenderungan penurunan presentase morfologi spermatozoa normal, secara berurutan P₁ dan P₂ yaitu 51% dan 22%, dibandingkan dengan morfologi spermatozoa normal dari kontrol P₀ yaitu 75% (Tabel 3). Hasil sebaliknya didapatkan pada morfologi spermatozoa abnormal tikus wistar yang mengalami kecenderungan kenaikan presentase, secara berurutan P₁ dan P₂ sebanyak 49% dan 78%, dibandingkan dengan morfologi

spermatozoa normal dari kontrol P₀ sebanyak 25% (Tabel 4). Berdasarkan data tersebut, dapat diamati semakin lama pemaparan obat nyamuk elektrik, semakin menurun presentase morfologi spermatozoa normal serta semakin naik presentase morfologi spermatozoa abnormal.

Hasil ini menyarankan bahwa setelah pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* sebagian spermatozoa dengan motilitas normal berubah menjadi abnormal. Hasil penelitian pada *transflutrin* ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya pada pemaparan obat nyamuk turunan *pyrethroid* lainnya yaitu *allethrin* yang melaporkan adanya beberapa kelainan morfologi spermatozoa yaitu spermatozoa berekor pendek dan berkepala kecil serta spermatozoa tanpa ekor.⁴ Pada penelitian menggunakan turunan *pyrethroid* lainnya yaitu *permethrin* dilaporkan tidak ada perubahan morfologi spermatozoa yang signifikan secara statistik.⁶

SIMPULAN

Pemaparan obat nyamuk elektrik berbahan aktif *transflutrin* menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa yang terdiri atas penurunan konsentrasi spermatozoa, penurunan motilitas spermatozoa dan penurunan morfologi spermatozoa normal. Penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jumlah hewan coba yang lebih banyak diperlukan untuk mendapatkan hasil yang bermakna secara statistik. Adapun keterbatasan dari penelitian ini adalah terbatasnya jumlah hewan coba yaitu tikus wistar yang disebabkan terbatasnya pasokan tikus wistar yang sesuai dengan kriteria penelitian selama waktu penelitian, selain adanya keterbatasan dana.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO specifications and evaluations for public health pesticides. (cited 2015 jan 22). Available from: http://www.who.int/whopes/quality/Transfluthrin_eval_only_Nov2006.pdf
2. **Kurniati R, Aryani R, Wati L.** Pengaruh pemaparan pralahir obat nyamuk elektrik yang berbahan aktif d-allethrin terhadap fetus mencit (*Mus musculus L*). *Mulawarman Scientific*. 2012;11(2):175.
3. **Aryani R, Kurniati R, Rahmawati S.** Pengaruh pemakaian obat antinyamuk elektrik berbahan aktif d-allethrin terhadap sel darah mencit (*Mus musculus L*). *Bioprospek*. 2011;8(11):30-1.
4. **Christijanti W, Utami NR, Iswara A.** Efek pemberian antioksidan vitamin C dan E terhadap kualitas spermatozoa tikus putih terpapar allethrin. *Biosaintika*. 2010;2(1):18-26.
5. **Sakr SA, Azab AE.** Effect of Pyrethroid Inhalation on Testis of Albino Rat. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2001;4:498-500
6. **Zhang S, Ito Y, Yamanoshita O, Yanagiba Y, Kobayashi M, Tya K, et al.** Permethrin may disrupt testosterone biosynthesis via mitochondrial membrane damage of leydig cells in adult male mouse. *The Endocrine Society*. 2007;148:3941-9.
7. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction (Fourth Edition), Cambridge : Cambridge University Press,1999
8. **Widodo FT.** Hubungan antara jumlah leukosit dengan motilitas sperma pada hasil analisa sperma pasien infertilitas di RSUP DR Kariadi Semarang [laporan akhir penelitian]. [Semarang] Universitas Diponegoro .2009. p.5-9.
9. WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen (Fifth Edition) [cited 2014 Sep 27] Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf.