

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. GAMBARAN UMUM PENELITIAN

Peneliti menggunakan 30 ekor bayi tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji yang terdiri dari 10 ekor tikus dari kelompok perlakuan *gel* (P1), 10 ekor tikus dari kelompok perlakuan *spray* (P2), dan 10 ekor tikus dari kelompok perlakuan kontrol. Hewan uji yang digunakan adalah bayi tikus putih (*Rattus norvegicus*) dari galur *Sprague Dawley*. Penggunaan hewan uji tersebut dikarenakan pertimbangan bahwa *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* mempunyai ketahanan tubuh yang lebih tinggi untuk perlakuan jangka panjang dibanding dari jenis lain.

Peneliti memberikan perlakuan pada hewan uji selama 67 hari dimulai sejak tikus berusia 8 hari. Kelompok perlakuan *gel* diberikan perlakuan pendedahan terhadap pewangi ruangan berbentuk *gel* selama 15 menit pada pagi hari dan 15 menit pada sore hari. Dosis ditingkatkan 15 menit setiap perlakuan pada setiap minggunya, sehingga pada akhir perlakuan pada hari ke 67 dosis total pendedahan menjadi 4,5 jam. Kelompok perlakuan *spray* diberikan pendedahan pewangi ruangan berbentuk semprotan. Lama perlakuan dan peningkatan dosis perlakuan pada hewan uji kelompok perlakuan *spray* sama dengan lama perlakuan dan peningkatan pada hewan uji kelompok perlakuan *gel*. Kelompok perlakuan kontrol tidak mendapatkan perlakuan apapun, namun diberikan perawatan yang sama dengan hewan uji

kelompok perlakuan *gel* maupun *spray*. Perlakuan diberikan di kandang perlakuan hewan uji seluas 60x60x60 cm dengan tinggi kaki 15 cm.

Pewangi ruangan *gel* maupun *spray* yang digunakan adalah pewangi ruangan beraroma jeruk yang berasal dari merk tertentu yang sama. Alasan penggunaan merk tersebut dikarenakan adanya kandungan bahan kimia berbahaya yang sudah teruji. Pewangi ruangan tersebut juga memiliki harga yang lebih murah dibandingkan dengan pewangi ruangan lain.

Selama perlakuan, hewan uji dipelihara di kandang pemeliharaan dengan diberikan pakan dan minum standard. Keaktifan dari hewan uji juga diamati dan dievaluasi setiap harinya. Pembersihan kandang dilakukan secara rutin setiap minggunya.

Pembedahan hewan uji dilakukan pada hari ke 68 untuk mengambil organ testis. Setelah pembedahan organ disimpan dalam pot organ berisikan formalin 10%, kemudian dibuat preparat histologi. Pembacaan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan bantuan alat Optilab untuk menghitung jumlah sperma dan mengukur ketebalan lapisan sel spermatogenik pada semua kelompok hewan uji, baik dari kelompok kontrol maupun dari kelompok perlakuan. Selain itu juga dilakukan penghitungan presentase dari sel spermatogenik.

B. HASIL

Penelitian dilakukan terhadap hewan uji dengan cara diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok selama 67 hari. Diketahui adanya perbedaan jumlah

sperma dan ketebalan lapisan sel spermatogenik dari masing-masing kelompok perlakuan.

Uji statistik diawali dengan uji normalitas sebaran data menggunakan *Saphiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One-Way Anova* dengan *Post Hoc Tuckey* pada derajat kemaknaan 95%.

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran 10 kali pada kelompok *gel* (P1), kelompok *spray* (P2), dan kelompok kontrol (K) didapatkan perhitungan jumlah sperma bayi tikus putih (*Rattus norvegicus*) dari masing-masing kelompok perlakuan. Tikus kelompok *Gel* (P1) yang didedahkan pewangi ruangan berbentuk *gel* (P1) menunjukkan jumlah sperma yang lebih rendah dibanding dengan jumlah sperma pada kelompok *spray* (P2) dan kelompok kontrol (K) dengan rata-rata $4.710,92 \pm 3.369,55$ sperma/ml sampel.

Perhitungan jumlah sperma pada tikus kelompok *spray* (P2) menunjukkan jumlah sperma yang lebih rendah dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok kontrol (K), namun lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok *gel* (P1). Hal ini ditunjukkan dari rata-rata jumlah sperma bayi tikus kelompok *spray* (P2) sebesar $5.653,63 \pm 1.298,62$ sperma/ml sampel.

Pada tikus kelompok kontrol (K) yang tidak diberikan perlakuan didapatkan hasil yang menunjukkan jumlah sperma yang lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sperma pada tikus kelompok *gel* (P1) dan

kelompok *spray* (P2). Hal ini ditunjukkan oleh rata-rata jumlah sperma tikus kelompok kontrol sebesar $10.677,06 \pm 2.272,60$ sperma/ml sampel.

Berdasarkan data yang diperoleh diketahui adanya perbedaan jumlah sperma yang bermakna antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan *gel* (P1) maupun kelompok perlakuan *spray* (P2), namun tidak didapatkan perbedaan jumlah sperma yang bermakna antara kelompok perlakuan *gel* (P1) dengan kelompok perlakuan *spray* (P2).

Tabel 6. Jumlah Sperma pada Hewan Uji/ ml sampel

No.	Kelompok	Rata-rata \pm SD
1.	Kontrol	$10.677,06 \pm 2.272,60^a$
2.	<i>Gel</i>	$4.710,92 \pm 3.369,55^b$
3.	<i>Spray</i>	$5.653,63 \pm 1.298,62^b$

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf super script berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan uji statistik Anova diikuti uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik perbesaran 10 kali pada kelompok *gel* (P1), kelompok *spray* (P2), dan kelompok kontrol (K) didapatkan gambaran ketebalan lapisan sel spermatogenik dari masing-masing kelompok hewan uji. Pada kelompok *gel* (P1) diperoleh gambaran ketebalan lapisan sel spermatogenik yang lebih tipis dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) dan lebih tebal dibandingkan dengan kelompok *spray* (P2) dengan rata-rata ketebalan lapisan sel spermatogenik sebesar $48,69 \pm 4,28 \mu\text{m}$.

Pengamatan pada kelompok *spray* (P2) diperoleh gambaran ketebalan lapisan sel spermatogenik yang lebih tipis dibandingkan dengan kelompok *gel*

(P1) dan kelompok kontrol (K). Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata ketebalan lapisan sel spermatogenik sebesar $42,85 \pm 3,51\mu\text{m}$.

Pengamatan pada kelompok kontrol (K) diperoleh gambaran ketebalan lapisan sel spermatogenik yang lebih tebal dibandingkan dengan ketebalan lapisan sel spermatogenik pada kelompok *gel* (P1) dan kelompok *spray* (P2). Hal ini ditunjukkan dari rata-rata ketebalan lapisan sel spermatogenik pada tikus kelompok kontrol (K) yaitu sebesar $49,88 \pm 4,28 \mu\text{m}$.

Berdasarkan hasil pengamatan ketebalan lapisan sel spermatogenik diperoleh data yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan *spray* (P2) maupun antara kelompok perlakuan *gel* (P1) dengan kelompok perlakuan *spray* (P2), namun tidak diperoleh adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan *gel* (P1).

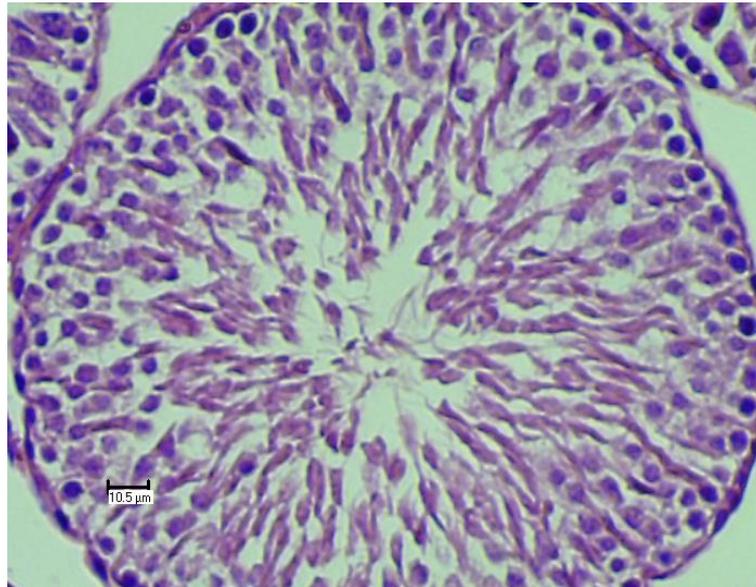
Tabel 7. Ketebalan Lapisan Sel Spermatogenik

No.	Kelompok	Rata-rata \pm SD
1.	Kontrol	$49,88 \pm 4,28 \mu\text{m}^a$
2.	<i>Gel</i>	$48,69 \pm 4,28\mu\text{m}^a$
3.	<i>Spray</i>	$42,85 \pm 3,51\mu\text{m}^b$

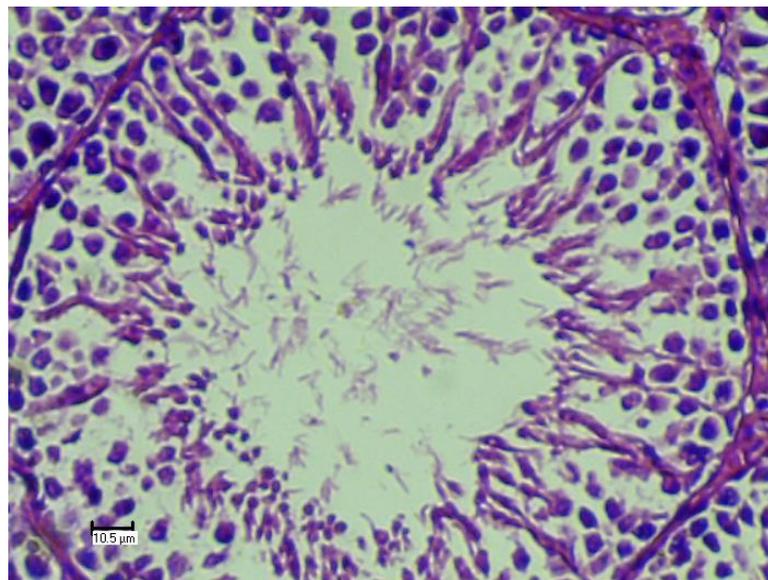
Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf super script berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan uji statistik Anova diikuti uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%.

Secara deskriptif dari hasil penghitungan jumlah sperma semua kelompok hewan uji, kelompok kontrol (K) memiliki nilai jumlah sperma yang lebih tinggi dari kelompok *gel* (P1) maupun kelompok *spray* (P2), kemudian diikuti kelompok *spray* (P2), dan kemudian kelompok *gel* (P1). Sedangkan dari hasil pengukuran ketebalan lapisan sel spermatogenik

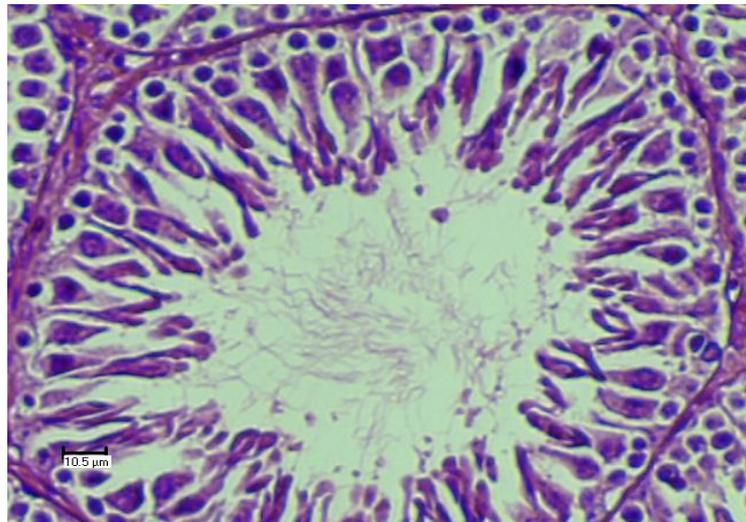
kelompok kontrol (K) memiliki ketebalan yang paling baik, diikuti kelompok *gel* (P1) dan kemudian kelompok *spray* (P2). Nilai yang lebih baik adalah jumlah sperma yang lebih banyak dan ketebalan lapisan sel spermatogenik yang lebih tebal.



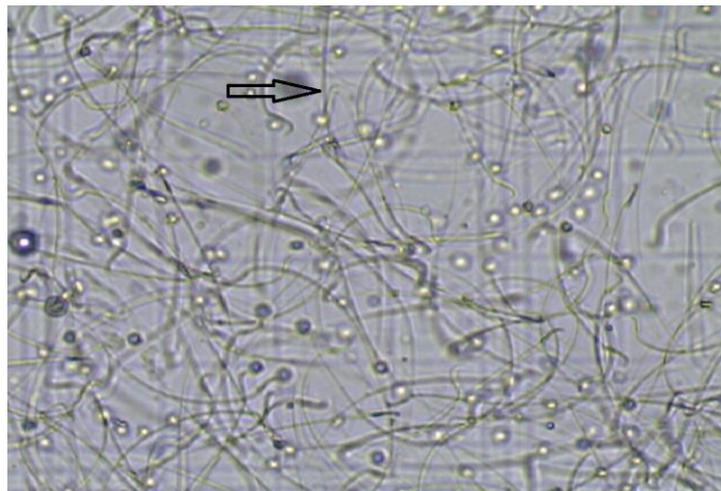
Gambar 6. Ketebalan lapisan sel spermatogenik K (Kontrol). Testis: Potongan melintang. Pewarnaan: Hematoksilin Eosin. Perbesaran: 10x10



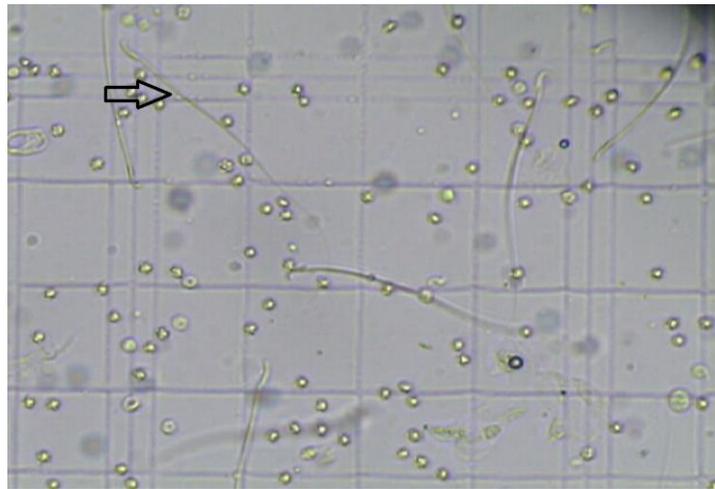
Gambar 7. Ketebalan lapisan sel spermatogenik P1 (*Gel*). Testis: Potongan melintang. Pewarnaan: Hematoksilin Eosin. Perbesaran: 10x10



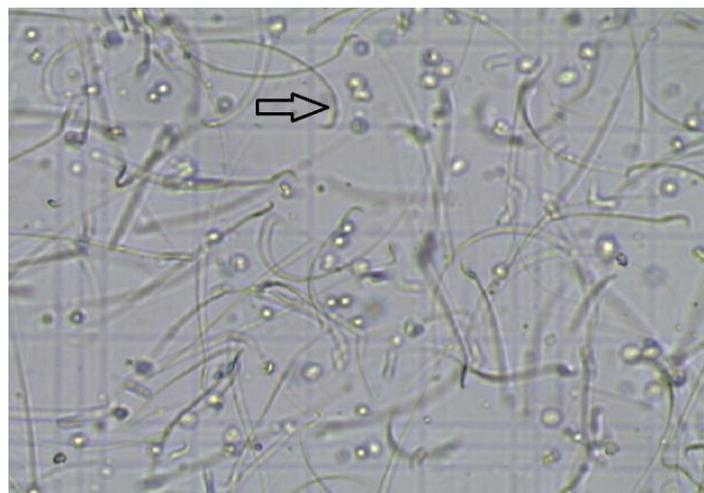
Gambar 8. Ketebalan lapisan sel spermatogenik P2 (*Spray*). Testis:
Potongan melintang. Pewarnaan: Hematoksilin Eosin.
Perbesaran: 10x10



Gambar 9. Gambaran Jumlah Sperma Kelompok K (Kontrol). Perbesaran:
10x10



Gambar 10. Gambaran Jumlah Sperma Kelompok P1 (*Gel*). Perbesaran: 10x10



Gambar 11. Penghitungan Jumlah Sperma Kelompok P2 (*Spray*). Perbesaran: 10x10

C. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui adanya perbedaan jumlah sperma yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan *gel* (P1) maupun perlakuan *spray* (P2). Tidak didapatkan perbedaan jumlah sperma yang bermakna antara kelompok perlakuan *gel* (P1) dengan kelompok perlakuan *spray* (P2). Berdasarkan hasil penelitian didapatkan pula perbedaan

ketebalan lapisan sel spermatogenik yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *spray* (P2) serta antara kelompok perlakuan *gel* (P1) dan kelompok perlakuan *spray* (P2). Tidak didapatkan perbedaan ketebalan lapisan sel spermatogenik yang bermakna pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan *gel* (P1).

Berdasarkan hasil tersebut telah terbukti adanya pengaruh pendedahan pewangi ruangan *gel* maupun *spray* terhadap jumlah sperma dan ketebalan lapisan sel spermatogenik, yaitu terjadi penurunan jumlah sperma dan adanya perubahan gambaran histologi dari ketebalan lapisan sel spermatogenik berupa menipisnya ketebalan lapisan sel spermatogenik. Hal ini disebabkan oleh kandungan pewangi ruangan seperti ftalat dan formaldehida yang mencemari udara di dalam ruangan sehingga mempunyai dampak buruk terhadap kesehatan. Ftalat dapat menyebabkan perubahan kadar hormon yang dapat menyebabkan gangguan sistem reproduksi laki-laki (Adane, *et al.*, 2014). Pemaparan pewangi ruangan *gel* dan *spray* pada hewan uji pada penelitian ini dilakukan setiap hari pada kandang perlakuan. Kandang perlakuan diatur sedemikian rupa sehingga paparan pewangi ruangan pada hewan uji berjalan efektif. Kandungan berbahaya pada pewangi ruangan seperti formaldehida dan ftalat masuk ke tubuh hewan uji melalui berbagai jalur seperti inhalasi, ingesti, dan paparan kulit setiap harinya. Hal inilah yang dapat mempengaruhi sistem reproduksi hewan uji, seperti menipisnya ketebalan lapisan sel spermatogenik dan penurunan jumlah sperma bayi *Rattus norvegicus*.

Spermatogonium tikus membutuhkan empat siklus sampai akhirnya membentuk spermatozoa. Waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan seluruh tahap pembentukan sperma adalah 48 hari. Berlangsungnya proses spermatogenesis membutuhkan berbagai hormon, salah satunya adalah FSH yang terbentuk selama 16-19 hari setelah kelahiran. (Krinke, 2000). Pemaparan pewangi ruangan pada hewan uji pada penelitian ini dilakukan selama 67 hari, sehingga sangat dimungkinkan pemberian paparan pewangi ruangan dapat berpengaruh terhadap ketebalan lapisan sel spermatogenik dan jumlah sperma bayi *Rattus norvegicus*.

Menurut International Programme on Chemical Safety (IPCS) batas konsumsi bahan makanan yang mengandung formalin adalah 1,5 – 14 mg per hari. Sedangkan dalam bentuk cairan adalah 1 miligram per liter (Heryani, 2011). Kadar formaldehida pada pewangi ruangan *gel* merk X aroma jeruk adalah 1,84% (Pratiwi, 2010). Kadar formalin yang terkandung dalam pewangi ruangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,33 ppm. Paparan formalin dalam pewangi ruangan pada penelitian ini dilakukan terus-menerus dalam 67 hari, sehingga sangat dimungkinkan dapat mempengaruhi jumlah sperma dan ketebalan lapisan sel spermatogenik bayi *Rattus norvegicus*.

Formaldehida masuk ke dalam tubuh melalui beberapa jalur. Pertama adalah melalui jalur pernafasan. Penguapan dari formaldehida diserap oleh paru-paru. Kedua, melalui kontak kulit. Dan yang ketiga melalui proses ingesti (Pratiwi, 2010).

Formalin merupakan sumber radikal bebas eksogen. Paparan formalin yang berlebih akan menyebabkan lebih banyak radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (SOR) yang terbentuk melalui rantai transport elektron. SOR yang berlebihan memicu terjadinya reaksi peroksidasi lipid pada membran sel spermatozoa (Heryani, *et al.*, 2011). Kerusakan pada membran sel spermatozoa yang diakibatkan oleh formalin inilah yang menjadi salah satu pemicu penurunan jumlah sperma pada kelompok perlakuan penelitian ini.

Formaldehid bersifat sangat reaktif, karena formaldehid memiliki gugus karbonil yang bersifat reaktif. Formaldehid dapat dengan mudah bereaksi dengan gugus nukleofilik, dalam hal ini adalah gugus $-NH_2$ dari sistem protein (sistem enzimatis). Hal inilah yang dapat menyebabkan hilangnya aktivitas spesifiknya enzimatis dalam tubuh. Sebagai akibatnya antara lain terganggunya sistem sitokrom P450 atau proses fosforilasi oksidatif. Hal ini menyebabkan antara lain terjadinya asidosis dan produksi senyawa *reactive oxygen species* (ROS), karena asam lemak hasil dari proses beta oksidasi tidak dapat diproses lebih lanjut menjadi energi (ATP). Sehingga produksi ATP menurun dan mendorong terjadinya proses nekrosis (Mahdi, 2010).

Formalin sendiri dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik. Penurunan jumlah sel-sel spermatogenik ini terjadi akibat kerusakan dari membran sel akibat adanya paparan formalin yang merupakan sumber radikal bebas eksogen yang dapat meningkatkan SOR (Senyawa Oksigen reaktif) dan SOR merupakan mediator yang memegang peranan

penting dalam kejadian cedera sel dan kerusakan oksidatif (Mc Coy JT, 2007).

Formalin menyebabkan menurunnya aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) dan GSH-Px yang merupakan antioksidan enzimatis yang terlibat dalam inaktivasi radikal bebas, serta meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) yang merupakan produk penting dari peroksidasi lipid. Peningkatan kadar MDA merupakan indikator terjadinya peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh (Mahdi, 2010). Paparan formalin dapat menyebabkan penurunan jumlah sel-sel spermatogenik akibat sifat sitotoksik formalin. Hal tersebut akan mempengaruhi tingkat kesuburan seseorang. Sehingga proses spermatogenesis terganggu dan terjadi penurunan jumlah sel-sel spermatogenik (Heryani, 2011). Formalin dengan mekanisme Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) yang menyebabkan cedera sel dan didukung dengan mekanisme penurunan aktivitas enzimatis dapat menyebabkan kerusakan sel spermatogenik sehingga diperoleh penurunan jumlah sel spermatogenik. Penurunan jumlah sel spermatogenik inilah yang menyebabkan penipisan lapisan sel spermatogenik pada penelitian ini. Hal ini juga mendukung penelitian sebelumnya dari O.Gules dan U. Eren (2010) yang berjudul "*The Effect of Xylene and Formaldehyde Inhalation on Testicular Tissue in Rats*". Berdasarkan hasil penelitian O. Gules tersebut diketahui bahwa formaldehida mempunyai efek negatif pada sel Leydig dan epitel tubulus.

Rute paparan ftalat masuk ke tubuh manusia melalui jalur ingesti, inhalasi, dan penyerapan kulit. Jalur utama masuknya ftalat adalah melalui

jalur ingesti dan inhalasi. Setelah dimetabolisme di dalam tubuh, ftalat akan diekskresikan dalam urin dan feses (Hauser dan Calafat, 2005).

DEHP atau *di-(2-ethylhexyl) phthalate* dihidrolisis oleh usus menjadi *mono-(2-ethylhexyl) phthalate* (MEHP) yang merupakan bahan racun aktif pada testis. Ftalat ini akan menyebabkan kerusakan besar pada sel-sel dari tubulus seminiferus, sehingga pada akhirnya menyebabkan menurunnya produksi sperma (Bhattacharya, *et al.*, 2005).

Salah satu mekanisme DEHP menginduksi atrofi testis pada tikus dikaitkan dengan menipisnya seng dalam testis. ZnT-1 adalah transporter seng yang sangat penting pada testis. DEHP dapat menimbulkan efek toksik pada testis dengan mengubah ekspresi dari ZnT-1. Selain itu, DEHP menginduksi atrofi testis pada tikus juga dikaitkan dengan pengurangan biosintesis testosteron pada sel Leydig bersama dengan penghambatan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) yang menstimulasi akumulasi dari cAMP dalam sel Sertoli (Hazard, 2003).

FSH berikatan dengan reseptor-reseptor FSH spesifik yang melekat pada sel-sel Sertoli di dalam tubulus seminiferus. Pengikatan ini mengakibatkan sel-sel tumbuh dan menyekresikan unsur spermatogenik. Secara bersamaan, testosteron (dan dihidrotestosteron) yang berdifusi ke dalam tubulus seminiferus dari sel-sel Leydig di dalam ruang interstisial, juga mempunyai efek tropik yang kuat terhadap spermatogenesis. Jadi, untuk memulai spermatogenesis, dibutuhkan FSH maupun testosteron (Guyton, 2007). Mekanisme DEHP yang menyebabkan penurunan biosintesis testosteron dan

menghambat mekanisme kerja FSH inilah yang menyebabkan kegagalan proses spermatogenesis dan pada akhirnya menyebabkan penurunan jumlah sperma. Hal ini bisa juga dilihat efek dari paparan pewangi ruangan *gel* dan *spray* terhadap jumlah sel Sertoli dan sel Leydig pada penelitian ini.

Tabel 8. Jumlah Sel Sertoli

No.	Kelompok	Rata-rata \pm SD
1.	Kontrol	21,7000 \pm 14,81778
2.	<i>Gel</i>	42,0800 \pm 9,78489
3.	<i>Spray</i>	10,6600 \pm 2,42221

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf super script berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan uji statistik Anova diikuti uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 9. Jumlah Sel Leydig

No.	Kelompok	Rata-rata \pm SD
1.	Kontrol	4,38 \pm 0,73 ^a
2.	<i>Gel</i>	5,80 \pm 1,17 ^b
3.	<i>Spray</i>	3,94 \pm 1,23 ^a

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf super script berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan uji statistik Anova diikuti uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan hasil penelitian tentang perhitungan sel Sertoli dan sel Leydig diperoleh hasil bahwa pewangi ruangan *spray* yang paling berpengaruh pada sel Sertoli dan sel Leydig.

DEHP dan MEHP dapat menghambat produksi testosteron pada testis. Hal ini diketahui dari adanya hubungan antara paparan DEHP dan MEHP dengan konsentrasi testosteron. Paparan DEHP 1⁻⁵M dalam 24 jam dapat menghambat testosteron (Lethimonier, *et al*; 2012). Pada penelitian ini paparan pewangi ruangan dilakukan dengan menaikkan dosis setiap minggunya dan pada akhir perlakuan pemaparan dilakukan selama 4,5 jam, sehingga

ftalat yang terkandung dalam pewangi ruangan memang memberikan pengaruh terhadap ketebalan lapisan sel spermatogenik dan jumlah sperma bayi *Rattus norvegicus*.

Spermatogonium lebih tahan terhadap ftalat karena sel ini terletak dalam kompartemen basal, di luar kompartemen adluminal, sehingga terlindung oleh adanya barrier yang dibentuk oleh sel Sertoli (Hayati, 2004). Hal ini dibuktikan dari data tambahan penelitian mengenai perhitungan presentase sel spermatogonium yang cenderung tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan *spray*. Selain itu, letak spermatogonium di kompartemen basal juga menunjang perlindungan terhadap paparan dari pewangi ruangan *gel* yang mengandung banyak formalin. Maka dari itu, presentase sel spermatogonium pada kelompok perlakuan *gel* masih tetap tinggi.

Tabel 10. Presentase Sel Spermatogenik

No.	Kelompok	Rata-rata \pm SD		
		Spermatogonium	Spermatisit Primer	Spermatid
1.	Kontrol	31,19 \pm 3,03 ^a	32,78 \pm 6,61	35,99 \pm 6,67 ^a
2.	<i>Gel</i>	39,38 \pm 6,62 ^b	30,32 \pm 9,64	29,17 \pm 6,68 ^b
3.	<i>Spray</i>	29,07 \pm 4,42 ^a	28,90 \pm 6,09	42,01 \pm 4,92 ^a

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf super script berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan uji statistik Anova diikuti uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%.

Ftalat dapat menghambat sintesis DNA dan RNA. Spermatisit termasuk sel yang paling aktif mensintesis RNA, maka sel ini paling aktif terhadap ftalat, sehingga selnya banyak mengalami degenerasi. Ftalat juga dapat menaikkan permeabilitas membran sel yang mengakibatkan influks ion

kalsium menjadi berlebih. Melimpahnya ion kalsium dapat menghambat fosforilasi oksidatif, sehingga perolehan ATP berkurang. Di samping itu terjadi pengaktifan enzim *protease* dan *fosfolipase* yang dapat mendegradasi protein-protein sitoskeleton yang diperlukan dalam membangun struktur sel (Rumanta, *et al.*, 2001). Hal ini dapat dilihat dari hasil penelitian mengenai perhitungan presentase sel spermatosit primer. Meskipun tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada perhitungan presentase sel spermatosit primer antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan *gel*, dan kelompok perlakuan *spray*, namun tetap diperoleh perbedaan rata-rata dari perhitungan presentase sel spermatosit primer, dimana presentase sel spermatosit primer pada kelompok perlakuan *spray* lebih rendah dibanding kelompok kontrol.

Penurunan ketebalan lapisan sel spermatogenik dikarenakan terganggunya proses spermatogenesis yang ditandai dengan berkurangnya jumlah sel spermatogenik, karena ftalat menyebabkan degenerasi pada sel spermatogenik yang rentan terhadap polutan terutama spermatosit. Spermatosit primer merupakan sel yang spermatogenik yang banyak mengalami degenerasi akibat pemberian ftalat (Hayati, 2004).

Adanya perbedaan yang bermakna pada presentase sel spermatid kelompok perlakuan *gel* dimungkinkan karena kandungan formalin pada pewangi ruangan *gel* yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatid melalui proses radikal bebas. Sel Spermatid mempunyai kandungan Superoksida Dismutase yang tinggi (Astuti, *at al.*, 2009). Mekanisme kerja dari Superoksida Dismutase yang merupakan anti oksidan dapat dihambat

oleh formaldehida (Heryani, 2011). Hal inilah yang menyebabkan penurunan jumlah sel spermatid pada kelompok perlakuan *gel*.

Paparan dari ftalat dapat menyebabkan gangguan dalam proses steroidogenesis yaitu dengan cara mengganggu proses genetik. Paparan ftalat menyebabkan mRNA CYP19 yang dibutuhkan dalam proses steroidogenesis tidak dapat diekspresikan. Tidak diekspresikanya CYP19 menyebabkan estrogen dalam serum mengalami penurunan (Lee, *et al.*, 2009). Estrogen ini penting dalam proses spermiogenesis yang merupakan proses berkembangnya spermatid menjadi spermatozoa (Guyton, 2007). Hal inilah yang menyebabkan spermatid mengalami kegagalan perkembangan menjadi spermatozoa.

Kandungan zat-zat berbahaya dalam pengharum ruangan seperti formaldehida dan ftalat inilah yang menyebabkan penurunan jumlah sperma. Selain itu formaldehida dan ftalat juga menginduksi kerusakan sel, sehingga ketebalan lapisan sel spermatogenik pada tubulus seminiferus berkurang. Hal ini juga mendukung hasil penelitian sebelumnya dari Yuningtyaswari, *et al* (2013) yang berjudul “Perbandingan Pengaruh Pendedahan Pengharum Ruangan *Gel* dan *Spray* terhadap Diameter Tubulus Seminiferus dan Kuantitas Sperma pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”. Berdasarkan hasil penelitian tersebut diketahui adanya pengaruh pendedahan pewangi ruangan *gel* dan *spray* yang mengandung formaldehida dan ftalat terhadap diameter tubulus seminiferus.

Diethyl phthalate lebih banyak terkandung dalam dupa dan bahan pewangi *spray*. Sedangkan formaldehida lebih banyak ditemukan pada pewangi ruangan *gel*. Pewangi ruangan *spray* lebih banyak mengandung ftalat hingga kadar $571\mu\text{g}/\text{m}^3$ dibandingkan dengan formaldehida (SCHER, 2006). Ftalat sangat berpotensi mengganggu sistem reproduksi terutama melalui jalur hormonal dalam proses kerusakan sel spermatogenik yang dapat menimbulkan penipisan lapisan sel spermatogenik. Hal ini terbukti dari rata-rata sel Leydig dan sel Sertoli yang berperan dalam proses hormonal spermatogenesis, pada kelompok perlakuan *spray* lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan *gel* dan kontrol. Kandungan formalin dalam pewangi ruangan *gel* menyebabkan kerusakan sel spermatogenik pada pertengahan proses spermatogenesis. Hal ini terbukti pada kelompok perlakuan *gel*, rata-rata sel Leydig, presentase sel Sertoli dan spermatogonium lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *spray*, namun pada presentase sel spermatid didapatkan angka yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *spray*.

Pewangi ruangan *spray* yang lebih banyak mengandung ftalat menyebabkan kerusakan sel spermatogenik sejak awal proses spermatogenesis, sehingga lapisan sel spermatogenik pada kelompok perlakuan *spray* lebih tipis dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *gel*. Pewangi ruangan *gel* lebih banyak mengandung formalin yang dapat menyebabkan kerusakan sel spermatogenik melalui mekanisme radikal

bebas pada pertengahan proses spermatogenesis dan juga langsung pada spermatozoa, sehingga lapisan sel spermatogenesis kelompok perlakuan *gel* memang lebih tebal dibandingkan kelompok perlakuan *spray*, namun jumlah sperma pada kelompok perlakuan *gel* lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan *spray* maupun kelompok kontrol. Kelompok kontrol memang tidak mempunyai angka presentase sel spermatogenik yang selalu lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan *gel* dan *spray*, namun tidak adanya paparan pewangi ruangan yang mengandung bahan kimia berbahaya menyebabkan tidak adanya kerusakan sel spermatogenik, sehingga pada akhirnya jumlah sperma ada kelompok perlakuan kontrol lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan *gel* dan *spray*.

Selain formaldehida dan ftalat, pewangi ruangan juga mengandung toluena. Menurut Adachi (2011) dalam Rahayu (2013) mekanisme stress oksidatif yang diakibatkan pajanan toluena diperankan oleh *benzyl alcohol* yang akan menginduksi *sitokrom P450 (CYP) 2E1-dependent microsomal monooxygenase* dan mengaktifkan fagosit. Induksi aktivasi sitokrom P450 akan menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang berupa radikal bebas, yaitu suatu molekul yang memiliki elektron ganjil atau tidak berpasangan di orbit terluar. Penambahan satu buah elektron pada O_2 menghasilkan superoksida (O_2^-), penambahan elektron dan dua ion hidrogen membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2), dan bilamana bergabung dengan O_2^- akan menghasilkan radikal hidroksil (OH). Radikal hidroksil akan cepat berinteraksi dengan makromolekul sehingga dapat menyebabkan kerusakan

protein, lipid, dan DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*). Kadar normal toluena di udara dalam ruangan adalah sekitar 20-87 $\mu\text{m}/\text{m}^3$, namun kadar toluena pada pewangi ruangan *gel* dan *spray* biasanya $<21 \mu\text{m}/\text{m}^3$ (SCHER, 2006). Mekanisme kerja toluena dapat menyebabkan kerusakan sel spermatogenik, namun kadarnya yang tidak terlalu tinggi pada pewangi ruangan inilah yang memungkinkan toluena tidak terlalu berpengaruh terhadap ketebalan lapisan sel spermatogenik maupun jumlah sperma pada penelitian ini.

Berat organ testis pada penelitian ini dimungkinkan berhubungan dengan berat badan hewan uji. Berat badan berkorelasi dengan ukuran lingkaran skrotum dan testis (Syamyono, *et al.*, 2014). Hal ini juga terlihat dari hasil penghitungan berat testis dan berat badan hewan uji. Semakin tinggi nilai berat badan maka semakin tinggi nilai berat testisnya. Tikus pada kelompok perlakuan *spray* mempunyai ukuran testis yang lebih besar dan berat badan yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan *gel*.

Tabel 11. Berat Testis dan Berat Badan Tikus (gram)

No.	Kelompok	Berat testis	Berat badan
1.	Kontrol	$1,52 \pm 0,34^a$	$175,90 \pm 26,45^a$
2.	<i>Gel</i>	$1,59 \pm 0,51^a$	$143,10 \pm 33,16^b$
3.	<i>Spray</i>	$2,25 \pm 0,43^b$	$186,58 \pm 24,95^a$

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti huruf super script berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan uji statistik Anova diikuti uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%.