

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. GAMBARAN UMUM

Peneliti menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji yang terdiri dari 6 ekor tikus dari kelompok kontrol (K), 6 ekor tikus dari kelompok obat nyamuk *one push* 5 menit (P1), 6 ekor dari kelompok obat nyamuk *one push* 10 menit (P2), 6 ekor dari kelompok obat nyamuk *spray* 5 menit (P3), 6 ekor dari kelompok obat nyamuk *spray* 10 menit (P4).

Peneliti memberikan perlakuan pada hewan uji selama 60 hari dimulai sejak tikus berumur 2 bulan. Kelompok perlakuan obat nyamuk *one push* 5 menit diberikan perlakuan pendedahan obat nyamuk *one push* selama 5 menit setiap hari. Kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* 5 menit diberikan perlakuan pendedahan obat nyamuk *spray* selama 5 menit setiap hari. Kelompok perlakuan obat nyamuk *one push* 10 menit diberikan perlakuan pendedahan obat nyamuk *one push* selama 10 menit setiap hari. Kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* 10 menit diberikan perlakuan pendedahan obat nyamuk *spray* selama 10 menit setiap hari. Kelompok kontrol tidak mendapatkan perlakuan apapun, namun diberikan perawatan yang sama dengan hewan uji kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push*.

Obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push* yang digunakan adalah obat nyamuk beraroma jeruk yang berasal dari merk tertentu yang sama. Alasan penggunaan merk tersebut dikarenakan adanya kandungan bahan kimia berbahaya. Obat nyamuk tersebut juga memiliki harga yang lebih murah dibandingkan obat nyamuk merk lainnya.

Selama perlakuan, hewan uji diberikan pakan dan minum standar setiap harinya dan disediakan dengan porsi yang sama. Pembersihan kandang dilakukan secara rutin setiap minggunya.

Pembedahan dilakukan pada hari ke-61 setelah perlakuan selesai, dengan menganestesi tikus terlebih dahulu dengan kloroform. Tikus kemudian dibedah dengan menggunakan alat-alat bedah minor untuk mengambil organ yang akan diteliti yaitu testis dan kauda epididimis. Testis difiksasi di dalam larutan formalin buffer 10% sebelum dilakukan pembuatan preparat histologi, sementara kauda epididymis diambil dan dicacah kecil-kecil kemudian dimasukkan ke bilik hitung *Improved Neubauer* untuk menghitung jumlah sperma. Perhitungan dilakukan dengan cara mengitung jumlah sperma di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 10x40 pada 5 lapang pandang. Sedangkan untuk mengamati diameter tubulus seminiferus, dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin menggunakan teknik pengecatan *Hematoxylin Eosin* yang kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x10 pada 5 lapang pandang.

B. HASIL PENELITIAN

1. Diamater Tubulus Seminiferus

Uji statistik diawali dengan uji normalitas sebaran data menggunakan *Saphiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis*.

Hasil penelitian terhadap diameter tubulus seminiferus tikus dapat dilihat **Tabel 1**.

Tabel 1. Ukuran rerata diameter tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian perlakuan dan hasil uji *Kruskal-Wallis*

Kelompok	Rata-rata±SD (Mikrometer)
Kontrol (K)	237.985±18.3707 ^a
<i>One push</i> 5 menit (P1)	218.578±14.1157 ^b
<i>One push</i> 10 menit (P2)	218.863±14.1157 ^b
<i>Spray</i> 5 menit (P3)	216.994±16.5588 ^b
<i>Spray</i> 10 menit (P4)	207.450±32.1342 ^b

Keterangan : SD = Standar Deviasi; Angka rata-rata antara kelima kelompok di atas berbeda secara bermakna dengan uji *Kruskal-Wallis*

Hasil pengamatan ukuran diameter tubulus seminiferus secara mikroskopik pada kelima kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), *one push* 5 menit (P1), *one push* 10 menit (P2), *spray* 5 menit (P3), *spray* 10 menit (P4) menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik.

Pada tikus kelompok *spray* 10 menit (P4) menunjukkan ukuran diameter tubulus seminiferus lebih kecil dibandingkan dengan ukuran

diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan lainnya dengan rata-rata diameter tubulus seminiferus sebesar $207.450 \pm 32.1342 \mu\text{m}$.

Pada tikus kelompok *spray* 5 menit (P3) menunjukkan ukuran diameter tubulus seminiferus lebih kecil dibanding dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol (K), kelompok *one push* 10 menit (P2), dan kelompok *one push* 5 menit (P1), namun lebih besar dibandingkan dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok *spray* 10 menit (P4). Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus kelompok *spray* 5 menit (P3) sebesar $216.994 \pm 16.5588 \mu\text{m}$.

Pada tikus kelompok *one push* 5 menit (P1) menunjukkan ukuran diameter tubulus seminiferus lebih kecil dibanding dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol (K) dan kelompok *one push* 10 menit (P2), namun lebih besar dibandingkan dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok *spray* 5 menit (P3) dan kelompok *spray* 10 menit (P4). Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus kelompok *one push* 5 menit (P1) sebesar $218.578 \pm 14.1157 \mu\text{m}$.

Pada tikus kelompok *one push* 10 menit (P2) menunjukkan ukuran diameter tubulus seminiferus lebih kecil dibanding dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol (K), namun lebih besar dibandingkan dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok *one push* 5 menit (P1), kelompok *spray* 5 menit (P3), dan

kelompok *spray* 10 menit (P4). Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus kelompok *one push* 10 menit (P2) sebesar $218.863 \pm 14.1157 \mu\text{m}$.

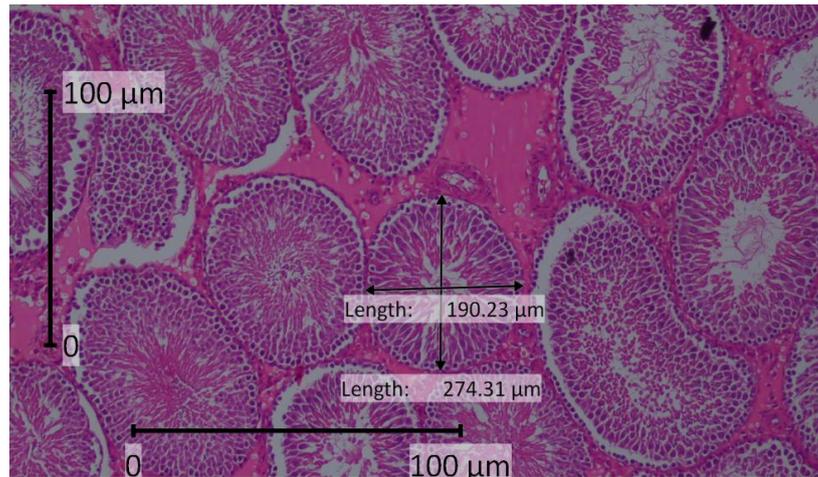
Pada tikus kelompok kontrol (K) yang tidak diberikan perlakuan didapatkan hasil yang menunjukkan ukuran diameter tubulus seminiferus lebih besar dibandingkan dengan ukuran diameter tubulus seminiferus pada tikus yang diberi perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter tubulus seminiferus kelompok kontrol (K) sebesar $237.985 \pm 18.3707 \mu\text{m}$.

Berdasarkan data yang diperoleh diketahui adanya perbedaan ukuran diameter tubulus seminiferus tikus yang bermakna antara kelompok kontrol (K) yang tidak diberi perlakuan dengan kelompok yang diberi perlakuan, namun tidak didapatkan perbedaan ukuran diameter tubulus seminiferus yang bermakna antara kelompok perlakuan *one push* 5 menit (P1), *one push* 10 menit (P2), *spray* 5 menit (P3), dan *spray* 10 menit (P4).

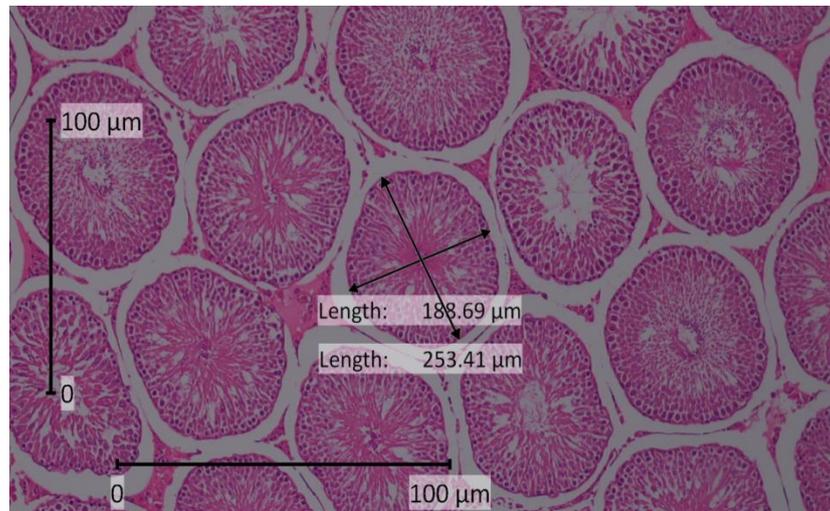
Secara deskriptif dari hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok hewan uji, kelompok *spray* 10 menit (P4) memiliki ukuran diameter tubulus seminiferus terkecil (terburuk) dibandingkan kelompok lainnya. Sedangkan kelompok kontrol (K) yang tidak diberi perlakuan memiliki ukuran diameter tubulus seminiferus terbesar (terbaik). Bila diurutkan dari ukuran diameter tubulus seminiferus yang paling besar (terbaik) ke ukuran diameter tubulus seminiferus yang paling kecil (terburuk), maka kelompok kontrol (K) yang terbaik diikuti kelompok *one*

push 10 menit (P2), kelompok *one push* 5 menit (P1), kelompok *spray* 5 menit (P3) dan yang terburuk adalah kelompok *spray* 10 menit (P4).

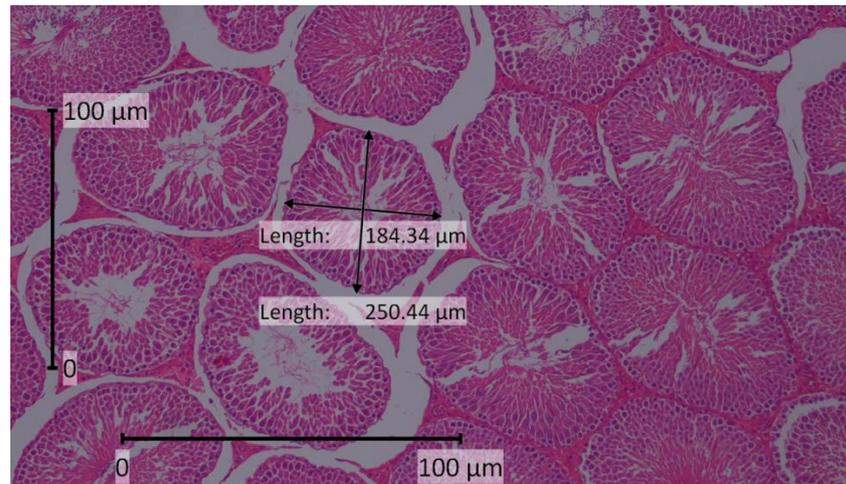
Gambaran histologi tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diamati dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



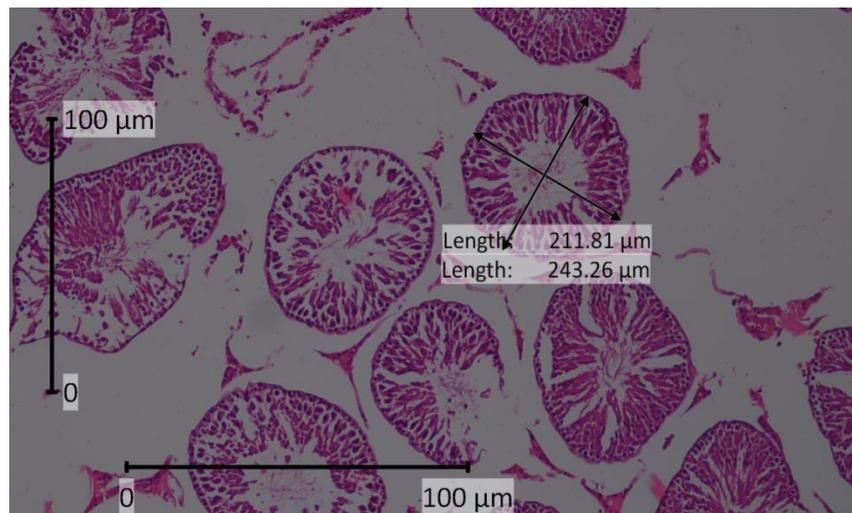
Gambar 5. Diameter tubulus seminiferus kelompok K (Kontrol).
Perbesaran: 10x10



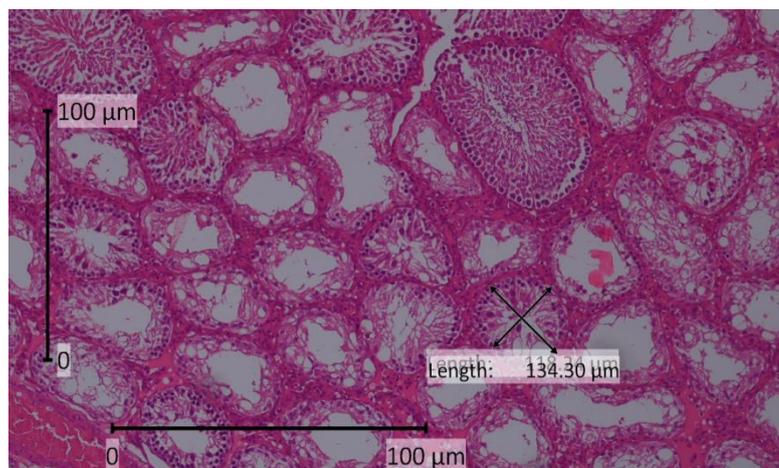
Gambar 6. Diameter tubulus seminiferus kelompok P1 (*One push* 5 menit).
Perbesaran: 10x10



Gambar 7. Diameter tubulus seminiferus kelompok P2 (*One push 10 menit*). Perbesaran: 10x10



Gambar 8. Diameter tubulus seminiferus kelompok P3 (*Spray 5 menit*). Perbesaran: 10x10



Gambar 9. Diameter tubulus seminiferus kelompok P4 (*Spray* 10 menit).Perbesaran : 10x10

2. Jumlah Sperma

Uji statistik diawali dengan uji normalitas sebaran data menggunakan *Saphiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One-Way Anova* dengan *Post Hoc Tukey*.

Hasil penelitian terhadap jumlah sperma tikus dapat dilihat **Tabel 2**.

Tabel 2. Jumlah rerata jumlah sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian perlakuan dan hasil uji *One Way Anova*

Kelompok	Rata-rata±SD (jumlah/ml x 10 ⁶)
Kontrol (K)	5,796±1,297 ^a
<i>One push</i> 5 menit (P1)	3,777±1,328 ^b
<i>One push</i> 10 menit (P2)	3,648±1,041 ^b
<i>Spray</i> 5 menit (P3)	3,940±1,503 ^b
<i>Spray</i> 10 menit (P4)	2,015±0,782 ^c

Keterangan : SD= Standar Deviasi; Angka rata-rata antara kelima kelompok di atas berbeda secara bermakna dengan uji *One Way Anova* pada tingkat kepercayaan 95%

Hasil pengamatan jumlah sperma secara mikroskopik pada kelima kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), *one push* 5 menit (P1), *one push* 10 menit (P2), *spray* 5 menit (P3), *spray* 10 menit (P4) menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik.

Tikus kelompok *spray* 10 menit (P4) yang didedahkan obat nyamuk *spray* selama 10 menit menunjukkan jumlah sperma yang lebih rendah dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok perlakuan lainnya dengan rata-rata $2,015 \pm 0,782$ sperma/ml $\times 10^6$.

Perhitungan jumlah sperma pada tikus kelompok *one push* 10 menit (P2) menunjukkan jumlah sperma lebih rendah dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok kontrol (K), kelompok *one push* 5 menit (P1), dan kelompok *spray* 5 menit (P3), namun lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok *spray* 10 menit (P4). Hal ini ditunjukkan dari rata-rata jumlah sperma tikus kelompok *one push* 10 menit (P2) sebesar $3,648 \pm 1,041$ sperma/ml $\times 10^6$.

Perhitungan jumlah sperma pada tikus kelompok *one push* 5 menit (P1) menunjukkan jumlah sperma lebih rendah dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok kontrol (K) dan kelompok *spray* 5 menit (P3), namun lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok *one push* 5 menit (P3), kelompok *onpush* 10 menit (P2), dan kelompok *spray* 10 menit (P4). Hal ini ditunjukkan dari rata-rata jumlah sperma tikus kelompok *one push* 5 menit (P1) sebesar $3,777 \pm 1,328$ sperma/ml $\times 10^6$.

Perhitungan jumlah sperma pada tikus kelompok *spray* 5 menit (P3) menunjukkan jumlah sperma lebih rendah dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok kontrol (K), namun lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sperma pada kelompok *one push* 5 menit, kelompok *one*

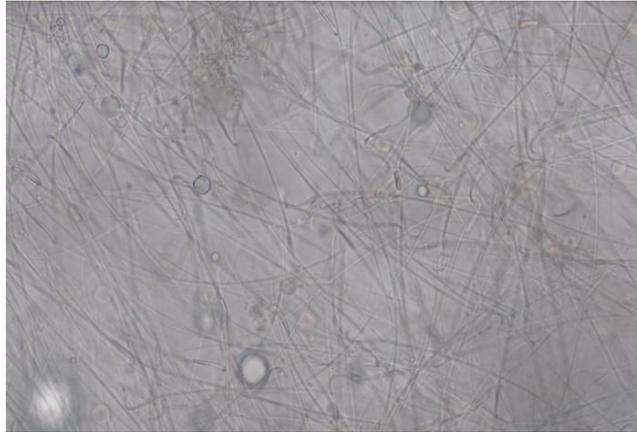
push 10 menit (P2) dan kelompok *spray* 10 menit (P4). Hal ini ditunjukkan dari rata-rata jumlah sperma tikus kelompok *spray* 5 menit (P3) sebesar $3,940 \pm 1,503$ sperma/ml $\times 10^6$.

Pada tikus kelompok kontrol (K) yang tidak diberikan perlakuan didapatkan hasil yang menunjukkan jumlah sperma yang lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sperma pada tikus yang diberi perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata jumlah sperma tikus kelompok kontrol (K) sebesar $5,796 \pm 1,297$ sperma/ml $\times 10^6$.

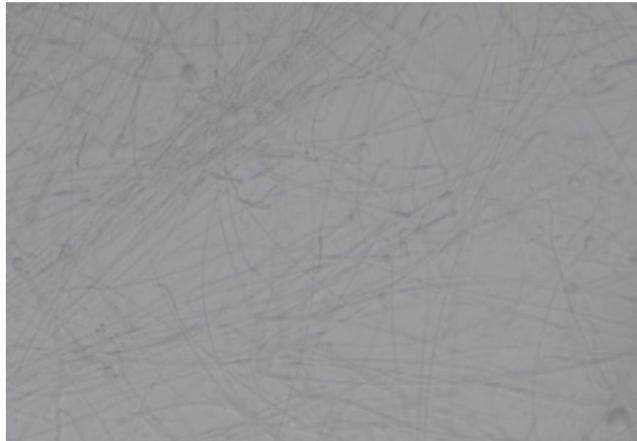
Berdasarkan data yang diperoleh diketahui adanya perbedaan jumlah sperma yang bermakna antara kelompok kontrol (K) yang tidak diberi perlakuan dengan kelompok yang diberi perlakuan, namun tidak didapatkan perbedaan jumlah sperma yang bermakna antara kelompok perlakuan *one push* 5 menit (P1), *one push* 10 menit (P2) dan *spray* 5 menit (P3).

Secara deskriptif dari hasil perhitungan jumlah sperma semua kelompok hewan uji, kelompok *spray* 10 menit (P4) memiliki jumlah sperma paling sedikit (terburuk) dibandingkan kelompok lainnya. Sedangkan kelompok kontrol (K) yang tidak diberi perlakuan memiliki nilai jumlah sperma terbanyak (terbaik). Bila diurutkan dari jumlah sperma yang paling banyak (terbaik) ke jumlah sperma yang paling sedikit (terburuk), maka kelompok kontrol (K) yang terbaik di ikuti kelompok *spray* 5 menit (P3), kelompok *one push* 5 menit (P1), kelompok *one push* 10 menit (P2) dan yang terburuk adalah kelompok *spray* 10 menit (P4).

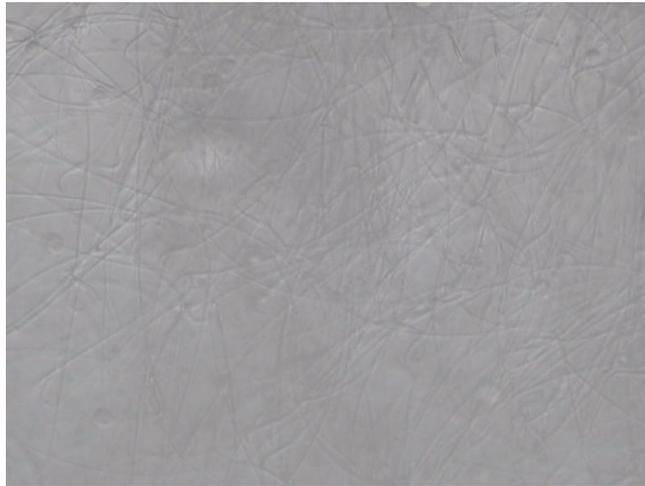
Gambaran persebaran sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diamati dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 10. Sebaran sperma kelompok K (Kontrol). Perbesaan: 10x40



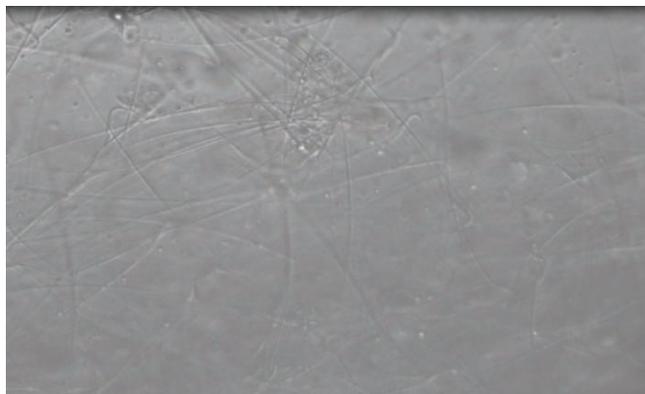
Gambar 11. Sebaran sperma kelompok P1 (*One push* 5 menit).
Perbesaan: 10x40



Gambar 12. Sebaran sperma kelompok P3 (*One push* 10 menit).
Perbesaran: 10x40



Gambar 13. Sebaran sperma P3 kelompok (*Spray* 5 menit).
Perbesaran: 10x40



Gambar 14. Sebaran sperma kelompok P4 (*Spray* 10 menit).
Perbesaran: 10x40

C. PEMBAHASAN

1. Diameter Tubulus Seminiferus dan Jumlah Sperma

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol dan perlakuan dilihat dari uji *Kruskal-Wallis* yang bernilai $p=0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan adanya pengaruh pendedahan obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push* terhadap diameter tubulus seminiferus.

Sedangkan dilihat dari uji *One Way Anova* yang bernilai $p=0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan adanya pengaruh pendedahan obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push* terhadap jumlah sperma. Pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**, dapat dilihat bahwa kelompok *spray* 10 menit (P4) memiliki ukuran diameter tubulus seminiferus paling kecil dan jumlah sperma yang paling sedikit (terburuk) dibandingkan kelompok lainnya.

Kelompok *spray* 10 menit (P4) pada penelitian ini diketahui menggunakan obat nyamuk yang mengandung bahan aktif *pralethrin* 0,10%; *siflutrin* 0,05%; dan *d-allethrin* 0,57% yang merupakan golongan *pyrethroid*.

Kandungan bahan aktif dalam obat nyamuk *spray* yaitu *d-allethrin*, mengandung kadar yang lebih banyak dari pada *pralethrin* dan *siflutrin*. Hal ini sejalan dengan penelitian Sakr & Azab (2001) menyatakan bahwa *allethrin* menyebabkan perubahan histologis testis, menurunkan berat testis dan berkurangnya diameter tubulus seminiferus. Hal tersebut

menunjukkan bahwa bila testis rusak maka spermatogenesis akan terganggu, sehingga spermatozoa yang dihasilkan juga akan berkurang. Pernyataan ini berhubungan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan, yakni kelompok *spray* 10 menit (P4) memiliki ukuran diameter tubulus seminiferus paling kecil dan jumlah sperma yang paling sedikit (terburuk) dibandingkan kelompok lainnya.

Iswara (2009) dalam penelitiannya menyatakan bahwa paparan obat nyamuk *spray* dapat menimbulkan kerusakan pada tubulus seminiferus testis yang ditandai dengan penurunan diameter tubulus seminiferus. Pengaruh negatif dari paparan *pyrethroid* (*allethrin*) melalui pernafasan terhitung berbahaya karena partikel-partikel *pyrethroid* dapat dengan cepat diserap oleh paru-paru menuju peredaran darah yang dapat menyebabkan kerusakan serius pada hidung tenggorokan dan jaringan paru-paru apabila terhirup dengan jumlah yang cukup dan dalam waktu yang lama.

Setelah masuk saluran pernafasan, *allethrin* menuju ke peredaran darah dan menyebar ke seluruh tubuh bersama darah lalu menuju hati. Akibat pemaparan *allethrin* menyebabkan terjadi kerusakan sel hati, sehingga enzim aminotransferase yaitu SGOT (Serum Glutamic Oxaloasetic Transaminase) dan SGPT (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase) dalam darah meningkat. (Abdollahi, *et al.*,2014).

Allethrin menyebabkan penghambatan enzim mikrosom sel hati, sehingga dapat merusak salah satu jalan detoksifikasi dasar tubuh, berpotensi toksik dan menghasilkan metabolit yang berperan sebagai

radikal bebas. Pratiwi (2006) menyebutkan bahwa metabolit *allethrin* berpotensi toksik dan bersifat radikal bebas sehingga apabila tubuh terpapar *allethrin* melalui pernafasan menyebabkan stress oksidatif karena kelebihan radikal bebas.

Pyrethroid dapat menginduksi terjadinya stres oksidatif dan dapat berpengaruh pada testis. Kelebihan radikal bebas menyebabkan terjadi stres oksidatif karena oksidan lebih besar dari pada antioksidan sehingga terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan.

Apabila radikal bebas tidak dihentikan maka akan merusak membran sel mitokondria. Dalam hal ini sel mitokondria adalah penghasil ATP yang diperlukan untuk konversi testosterone dalam sel Leydig dalam proses spermatogenesis. Bila mitokondria terganggu maka ATP juga terganggu sehingga mengakibatkan penurunan testosteron yang menyebabkan pengaruh pada perkembangan organ reproduksi tikus, berkurangnya jumlah sperma, motilitas dan ketidaknormalan morfologi pada testis (Shu-Yun Zhang, *et al.*, 2007).

Selanjutnya radikal tersebut akan masuk ke dalam peredaran darah kembali dan menuju ke seluruh tubuh termasuk testis yang diduga juga akan menyebabkan kerusakan. Bila testis rusak tentu saja spermatogenesis akan terganggu, pada akhirnya akan mempengaruhi jumlah sperma yang dihasilkan dan berkurangnya diameter tubulus seminiferus (Elia, *et al.*, 2015).

Kelompok kontrol (K) memiliki ukuran diameter tubulus seminiferus paling besar dan jumlah sperma paling banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini disebabkan karena kelompok kontrol (K) tidak diberi perlakuan.