

**PENGARUH PEMBERIAN ANTIOKSIDAN VITAMIN C DAN E TERHADAP
KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH TERPAPAR *ALLETHRIN***



skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi

Oleh
Arya Iswara
4450404004

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar *Allethrin*” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, Maret 2009

Arya Iswara

4450404004

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

**PENGARUH PEMBERIAN ANTIOKSIDAN VITAMIN C DAN E TERHADAP
KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH TERPAPAR *ALLETHRIN***

Telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 5 Maret 2009

Panitia Ujian

Ketua

Sekretaris

Drs. Kasmadi Imam S, M. S
NIP. 130781011

Dra. Aditya Marianti, M. Si
NIP. 132046851

Penguji Utama

Dra. Aditya Marianti, M. Si
NIP. 132046851

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Anggota Penguji/
Pembimbing II

drh. Wulan Christijanti, M.Si
NIP.132149437

Ir. Nur Rahayu Utami, M.S
NIP. 131764022

ABSTRAK

Iswara, Arya. 2009. Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar *Allethrin*. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. drh. Wulan Christijanti, M.Si dan Ir. Nur Rahayu Utami, MS.

Allethrin adalah bahan aktif yang dipakai pada beberapa jenis/merek obat nyamuk. *Allethrin* masuk ke dalam tubuh secara inhalasi, diduga dapat mengganggu kualitas spermatozoa. Hal ini ditandai dengan menurunnya jumlah, motilitas, dan viabilitas spermatozoa, serta kelainan morfologi spermatozoa. Banyak bukti epidemiologi menyatakan bahwa dengan asupan vitamin C dan E yang cukup akan mampu meminimalisir radikal bebas yang disebabkan oleh *allethrin*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian kualitas spermatozoa tikus yang terpapar *allethrin* dari obat nyamuk elektrik. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh vitamin C dan E pada kualitas spermatozoa yang terpapar *Allethrin*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Randomized Control Group Design*. Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dewasa strain wistar yang terpapar *allethrin*. Dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yang masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus, yaitu 1 kelompok kontrol (tanpa pemberian antioksidan vitamin C dan E) dan 3 kelompok perlakuan (diberi antioksidan vitamin C, vitamin E dan kombinasi dari vitamin C dan E). Pemaparan obat nyamuk elektrik dilakukan 8 jam per hari selama 45 hari dan pada hari ke 46 diambil data jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa. Data diuji dengan anava satu jalan dan jika berpengaruh dilanjutkan dengan uji lanjut BNT.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan vitamin mempengaruhi jumlah, motilitas dan viabilitas spermatozoa tikus terpapar *allethrin*. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya beda nyata antara kelompok kontrol dengan perlakuan. Demikian juga pada kelompok kontrol ditemukan adanya kelainan morfologi.

Simpulan dari penelitian ini yaitu paparan obat nyamuk elektrik 8 jm/hr selama 45 hari menurunkan kualitas spermatozoa. Secara keseluruhan pemberian antioksidan vitamin C bersama dengan vitamin E pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang terpapar *allethrin* mampu mempertahankan kualitas spermatozoa daripada pemberian satu jenis vitamin.

Kata kunci : *Allethrin*, Antioksidan vitamin C dan E, Kualitas spermatozoa

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahnya serta pertolonganNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar *Allethrin*”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Proses penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan dan pengarahan berbagai pihak. Maka dari itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan studi di Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam UNNES yang telah memberikan ijin kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNNES yang telah memberikan ijin kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
4. drh. Wulan Christijanti, M.Si, selaku pembimbing I yang telah megarahkan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Ir. Nur Rahayu Utami, M.S, selaku pembimbing II yang telah membimbing dan telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan skripsi.
6. Dra. Aditya Marianti. M.Si, selaku penguji yang telah membimbing dan telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan skripsi.
7. Kepala Laboratorium Biologi beserta staf yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian.
8. Dosen wali dr. Nugrahaningsih WH, M. Kes serta keluarga besar jurusan biologi yang telah mendidik dan mendukung penulis.
9. Kedua orang tua dan kedua adik-adikku penulis yang selalu memberikan dukungan, pengertian, perhatian serta doanya untuk penulis.
10. Teman-teman biologi khususnya angkatan 2004 atas bantuan dan kebersamaannya.
11. *Last but not least, thank you to MY SELF for the strength to hard work.*

Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman penulis. Atas bantuan dan bimbingan dari semua pihak penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya semoga menjadi amal sholeh dan diberikan balasan oleh Allah SWT. Kritik dan saran sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, Maret 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan	2
C. Penegasan Istilah	3
D. Tujuan Penelitian	3
E. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Spermatozoa	4
2. Metabolisme <i>allethrin</i>	7
3. Antioksidan Vitamin E, C dan Radikal Bebas	10
B. Kerangka Berpikir	14
C. Hipotesis	14
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Lokasi Dan waktu Penelitian.....	15
B. Populasi dan Sampel	15

C. Variabel Penelitian	15
D. Rancangan Penelitian	15
E. Alat dan Bahan	16
F. Prosedur Penelitian	16
1. Persiapan Penelitian	16
2. Pelaksanaan Penelitian	17
G. Metode Pengambilan Data	19
H. Metode Analisis Data	19

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	21
1. Jumlah Spermatozoa	21
2. Motilitas Spermatozoa	22
3. Viabilitas Spermatozoa	23
4. Morfologi Spermatozoa	25
B. Pembahasan	27

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	33
B. Saran	33

DAFTAR PUSTAKA.....	34
---------------------	----

LAMPIRAN.....	37
---------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai normal spermatozoa manusia.....	4
2. Matrik penelitian	15
3. Ringkasan anava.....	20
4. Uji lanjut BNT	20
5. Rerata jumlah spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan.....	21
6. Hasil uji BNT jumlah spermatozoa.....	22
7. Rerata motilitas spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan.....	22
8. Hasil uji BNT motilitas spermatozoa.....	23
9. Rerata viabilitas spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan	24
10. Hasil Uji BNT viabilitas spermatozoa	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Histologi testis.....	5
2. Struktur sperma.....	5
3. Kelainan spermatozoa.....	7
4. Struktur kimia <i>allethrin</i>	8
5. Metabolisme <i>allethrin</i>	9
6. Kelainan morfologi spermatozoa.....	25
7. Kelainan morfologi spermatozoa.....	25
8. Morfologi spermatozoa normal.....	26
9. Morfologi spermatozoa normal.....	26
10. Morfologi spermatozoa normal.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Perhitungan Data	37
2. Perhitungan Anava Satu Jalan Jumlah Spermatozoa	40
3. Uji Lanjut BNT Jumlah Spermatozoa.....	42
4. Perhitungan Anava Satu Jalan Motilitas Spermatozoa	43
5. Uji Lanjut BNT Motilitas Spermatozoa.....	47
6. Perhitungan Anava Satu Jalan Viabilitas Spermatozoa	49
7. Uji Lanjut BNT Viabilitas Spermatozoa.....	53
8. Dokumentasi Penelitian	55

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Industri obat nyamuk di Indonesia berkembang pesat karena iklim tropis di Indonesia menyebabkan suburnya perkembangbiakan nyamuk. Hal ini menyebabkan Indonesia menjadi salah satu pasar potensial dalam memasarkan produk pembunuh nyamuk atau obat nyamuk. Hampir setiap rumah tangga memanfaatkan obat nyamuk untuk mengatasi gangguan nyamuk, pemakaian terbanyak terutama pada musin pancaroba, yang di tengarai banyak berkembang nyamuk penyebab demam berdarah.

Obat nyamuk mempunyai bahan aktif bermacam-macam, yaitu *dichlorvos*, *propoxur*, *pyrethroid*, dan *diethyltoluamide* serta bahan kombinasinya. Kebanyakan obat nyamuk yang beredar di Indonesia mengandung bahan berupa *d-allethrin*, *transflutrin*, *bioallethrin*, *pralethrin*, *d-phenothrin*, *cypenothrin* atau *esbiothrin*, yang merupakan turunan dari *pyrethroid*. *Pyrethroid* dikelompokkan pada racun insektisida kelas menengah, dengan efek dapat mengiritasi mata dan kulit yang sensitif dan menyebabkan penyakit asma (Instisari 2007). *Allethrin* adalah salah satu bahan aktif yang dipakai pada beberapa jenis/merek obat anti nyamuk yang memiliki rumus molekul $C_{19}H_{26}O_3$ dan memiliki 8 *stereoisomer*. *Allethrin* yang masuk ke dalam tubuh secara inhalasi dalam waktu yang lama, selain akan menyebabkan gangguan pada paru-paru seperti iritasi juga akan menyebabkan hati akan tidak mampu untuk melakukan detoksifikasi secara sempurna. Hal ini menyebabkan munculnya metabolit sekunder yang dapat bertindak sebagai radikal bebas. Selanjutnya radikal bebas akan ikut peredaran darah menuju ke seluruh tubuh termasuk testis.

Testis adalah organ reproduksi yang mempunyai 2 fungsi yaitu, memproduksi spermatozoa dan menghasilkan hormon androgenik. Sejak beberapa puluh tahun lalu telah banyak penyelidikan yang menghubungkan fertilitas pria dengan kualitas semen, seperti jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa. Sebagai organ reproduksi yang berperan dalam spermatogenesis, testis diduga dapat mengalami kerusakan oleh paparan zat aktif *allethrin* yang ada pada obat nyamuk elektrik. Hasil penelitian Sakr dan Azab (2001) menunjukkan 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.

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan olehnya. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Stress oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas (prooksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan, kelebihan produksi radikal bebas. Beberapa bentuk antioksidan antara lain vitamin, mineral, dan fitokimia. Vitamin C dan E sebagai antioksidan dapat menghentikan reaksi berantai radikal bebas. Pertama vitamin E akan menangkap radikal bebas, namun vitamin E kemudian berubah menjadi vitamin E radikal sehingga memerlukan pertolongan vitamin C. Vitamin C bersama-sama dengan vitamin E dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat vitamin E radikal yang terbentuk pada proses pemutusan reaksi radikal bebas oleh vitamin E menjadi vitamin E bebas yang berfungsi kembali sebagai antioksidan (Pavlovic *et al.* 2005). Dengan mekanisme kerja yang berbeda tersebut, jika kedua vitamin ini digunakan diharapkan akan dapat menghambat aktivitas radikal bebas.

Berdasarkan hal di atas maka dirasa perlu diteliti tentang pengaruh antioksidan berupa vitamin C dan E terhadap kualitas spermatozoa tikus putih yang terpapar *allethrin*.

B. Permasalahan

Apakah pemberian antioksidan vitamin C dan E berpengaruh pada kualitas spermatozoa tikus putih yang terpapar *allethrin* ?

C. Penegasan Istilah

Untuk mempermudah pemahaman dan menghindari salah penafsiran, akan dijelaskan batasan-batasan istilah sebagai berikut :

1. Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan pada sel normal, protein, dan lemak. Dalam penelitian ini, antioksidan yang digunakan adalah vitamin C dan E
2. *Allethrin* adalah zat aktif senyawa turunan dari *pyrethroid* yang terdapat dalam obat nyamuk elektrik.
3. Kualitas spermatozoa adalah penilaian pada spermatozoa yang dilihat dari berbagai macam faktor. Pada penelitian ini yang menjadi faktor kualitas spermatozoa adalah jumlah, morfologi, motilitas dan viabilitas spermatozoa.

D. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian antioksidan vitamin C dan E terhadap kualitas spermatozoa tikus putih yang terpapar *allethrin*.

E. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberi informasi kepada masyarakat secara luas tentang efek samping yang dapat ditimbulkan bila menggunakan obat nyamuk dengan cara mempublikasikan hasil penelitian.
2. Dapat mengetahui bahwa antioksidan vitamin C dan vitamin E menghalangi pengaruh negatif yang ditimbulkan obat nyamuk.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

A. Tinjauan Pustaka

1. Spermatozoa

Semen terdiri atas spermatozoa dalam plasma seminal yaitu suatu campuran sekret dari epididimis, duktus deferens, vesikula seminalis, prostate, dan kelenjar bulbouretralis. Volume ejakulat berkisar 3-4 ml, jumlah spermatozoa adalah 300-400 juta dan minimal sekitar 100 juta /ml. Pada fertilitas yang normal, 50%-70% spermatozoa motil selama 3 jam pertama setelah ejakulasi dengan kecepatan lebih dari 20 $\mu\text{m}/\text{detik}$. Spermatozoa yang normal harus memiliki kepala bulat lonjong (oval), leher, dan ekor tunggal (Geneser 1994). Selain konsentrasi, terdapat variabel lain yang dapat diukur untuk menentukan kualitas spermatozoa, yaitu karakteristik semen yang meliputi koagulasi dan liquefaksi, viskositas, rupa dan bau, volum, pH, kadar fruktosa, motilitas, dan morfologi spermatozoa (Wiknjosastro *et al.* 1999).

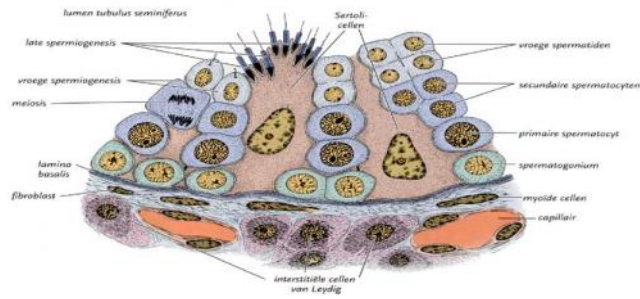
Analisis semen modern termasuk pengukuran obyektif proporsi dan kecepatan spermatozoa yang motil dan penilaian secara cermat tentang morfologi spermatozoa 60% atau lebih berbentuk oval (DeCherney *et al.* 1997). Tanpa adanya kelainan seperti kepala ganda, ekor bercabang dan lain-lain, lebih lanjut dinyatakan Duenhoelter (1988), bahwa nilai normal untuk kualitas spermatozoa manusia adalah sebagai berikut (Tabel 1)

Tabel 1. Nilai Normal Spermatozoa Manusia

	Rata-rata	Minimum
Volume ejakulat (ml)	2,7	1,0
Konsentrasi sperma (juta/ml)	45,6	20
Motilitas sperma (%)	52,0	40
Motilitas sperma (0-4)	2,97	2
Morfologi sperma (%)	63,6	45
Viskositas	cair	-
pH	7,5	7,0
Fruktosa (mg/ml)	2,0	1,0

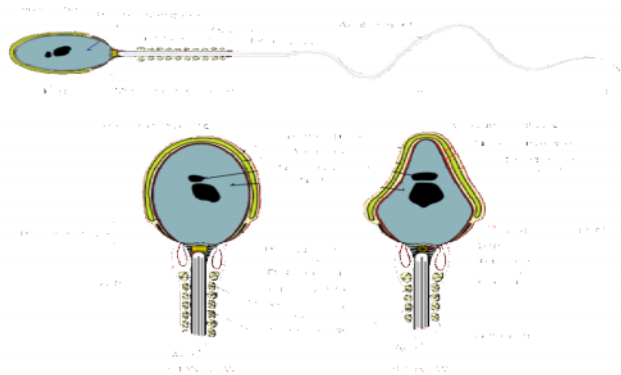
Testis terbentuk dari tubulus seminiferus, merupakan tempat pembentukan spermatozoa dari sel-sel geminativum primitive (spermatogenesis). Diantara tubulus

testis terdapat jaringan yang mengandung granula lemak, dan sel interstitium Leydig, yang mensekresikan testosteron (Ganong 1999).



Gambar 1 Histologi testis (Junqueira dan Carneiro 1998)

Spermatogenesis adalah proses pertumbuhan dan perubahan dari spermatogonia sampai spermatozoa yang meliputi tiga fase yaitu 1) spermatositogenesis, selama fase ini spermatogonium membelah secara mitosis, menghasilkan generasi sel baru yang nantinya akan menghasilkan spermatisit primer. 2) meiosis I, selama fase ini spermatisit primer mengalami dua kali pembelahan secara berurutan, dengan mereduksi sampai setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel, menghasilkan spermatisit sekunder, spermatisit sekunder mengalami meiosis II menghasilkan spermatid 3) spermiogenesis, spermatid mengalami proses sitodiferensiasi, menghasilkan spermatozoa (Junqueira dan Carneiro 1998).



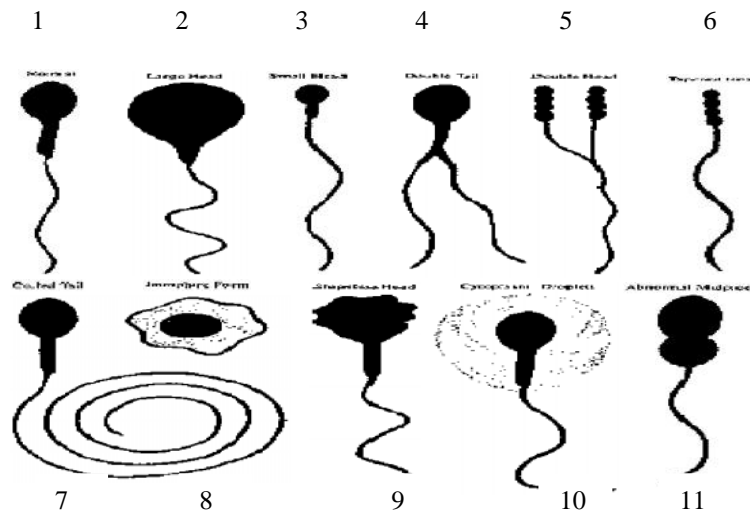
Gambar 2 Struktur Sperma (Ruiz 2007)

Pada tahap pertama spermatogenesis, spermatogonia primitif berkumpul tepat di tepi membran basal dari sel epitel germinativum, disebut spermatogonia tipe A, membelah empat kali untuk membentuk 16 sel yang sedikit lebih berdiferensiasi yaitu spermatogonia tipe B. Pada tahap ini spermatogonia bermigrasi ke arah sentral di antara

sel-sel Sertoli. Sel-sel Sertoli ini sangat besar, dengan pembungkus sitoplasma yang meluas dari lapisan sel spermatogonia sampai ke bagian tengah lumen dari tubulus. Membran sel-sel Sertoli sangat kuat berlekatan satu sama lain pada bagian dasar dan bagian sisi, membentuk suatu lapisan pertahanan yang mencegah penetrasi dari kapiler-kapiler yang mengelilingi tubulus dari molekul-molekul protein yang besar seperti imunoglobulin yang mungkin mengganggu perkembangan lanjut dari spermatogonia untuk menjadi spermatozoa. Spermatogonia yang sudah dipersiapkan untuk menjadi spermatozoa menembus lapisan pertahanan ini dan menjadi terbungkus di dalam proses-proses sitoplasma dari sel-sel Sertoli yang berlipat ke dalam. Hal ini terus berlanjut di seluruh sisa perkembangan spermatozoa (Guyton 1997).

Meiosis untuk jangka waktu rata-rata 24 hari, setiap spermatogonium yang melewati lapisan pertahanan masuk ke dalam lapisan sel Sertoli dimodifikasi secara bertahap dan membesar untuk membentuk suatu spermatosit primer yang besar. Pada akhir hari ke 24, setiap spermatosit terbagi dua menjadi spermatosit sekunder. Pembagian ini bukan suatu pembagian yang normal. Sebaliknya, pembagian ini disebut sebagai pembagian meiosis pertama. Pada tahap awal pembagian meiosis ini, semua DNA di dalam 46 kromosom bereplikasi. Dalam proses ini, masing-masing 46 kromosom menjadi dua kromatid yang tetap berikatan bersama pada sentromer, kedua kromatid memiliki gen duplikat dari kromosom tersebut. Pada waktu ini, spermatosit pertama terbagi menjadi dua spermatosit sekunder, yang setiap pasang kromosom berpindah sehingga ke- 23 kromosom yang masing-masing memiliki dua kromatid, menuju ke salah satu spermatosit sekunder sementara 23 kromosom yang lain menuju ke spermatosit sekunder yang lain. Dalam 2 sampai 3 hari, pembagian meiosis kedua terjadi dimana kedua kromatid dari setiap 23 kromosom berpisah pada sentromer, membentuk dua pasang 23 kromosom, satu pasang dibawa ke spermatid yang pertama dan satu pasang yang lain dibawa ke spermatid yang kedua (Guyton 1997).

Proses selanjutnya adalah spermiogenesis, yang mencakup pembentukan akrosom, pematangan dan pemanjangan inti, pembentukan flagelum, dan pengurangan sebagian besar sitoplasmanya. Hasil akhirnya adalah spermatozoa matang, yang kemudian dilepaskan ke dalam lumen tubulus sminiferus (Junqueira dan Caneiro 1998)



Gambar 3 Kelainan Spermatozoa (Anonim 2004)

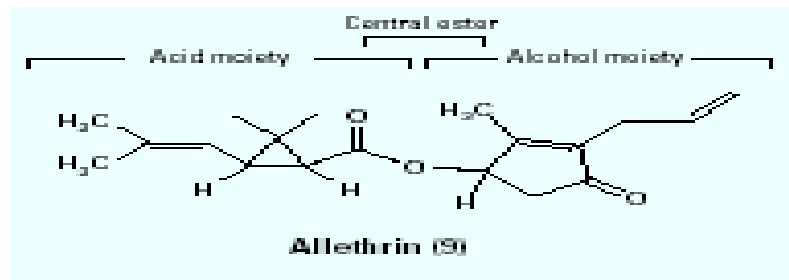
Keterangan : 1. *Normal* 7. *Coiled tail*
 2. *Large Head* 8. *Immorphic form*
 3. *Small head* 9. *Shapeless head*
 4. *Double tail* 10. *Cynoprism droplets*
 5. *Double head* 11. *Abnormal midpiece*
 6. *Taperal head*

Kelainan spermatozoa juga dapat disebabkan kelainan hormonal. Pada perubahan spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder (dalam spermatogenesis) dalam tubulus seminiferus dirangsang oleh FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dari kelenjar hipofisis anterior. Tidak adanya FSH maka spermatogenesis tidak akan terjadi. Akan tetapi, FSH tidak dapat bekerja sendiri menyelesaikan spermatogenesis. Agar spermatogenesis berlangsung sempurna, memerlukan testosteron yang dihasilkan oleh sel interstisial Leydig (Guyton 1997). Bila ada gangguan maka kualitas sperma akan berubah. Sperma hitung kurang dari 20 juta/ml disebut dengan kelainan *oligospermia*, sedangkan untuk sperma dengan nilai motilitas kurang dari 40% disebut dengan *asthenospermia*. Kombinasi kadar FSH dan LH yang tinggi dan kadar testosteron yang rendah menyebabkan adanya kegagalan testis. Kadar FSH yang tinggi dengan kadar LH dan testosteron yang normal menyebabkan kegagalan sel germinal terisolasi, fungsi sel Leydig yang normal dan terandrogenisasi normal tapi mengalami *azoospermia* atau *oligospermia* (DeCherney *et al.* 1997).

2. Metabolisme *allethrin*

Allethrin atau $C_{16}H_{26}O_3$ merupakan zat aktif yang merupakan senyawa turunan dari *pyrethroid* dalam obat nyamuk elektrik. Zat ini banyak digunakan dalam racun

pembasmi nyamuk yang memiliki resiko merusak kesehatan. Zat tersebut dapat masuk ke dalam tubuh melalui tiga cara, yaitu: termakan atau terminum bersama makanan atau minuman, dihirup dalam bentuk gas dan uap, langsung menuju paru-paru lalu masuk ke dalam aliran darah. Atau terserap melalui kulit dengan tanpa terlebih dahulu menyebabkan luka pada kulit (Ogg *et al.* 2006).



Gambar 4 struktur kimia allethrin (Shafer 2005)

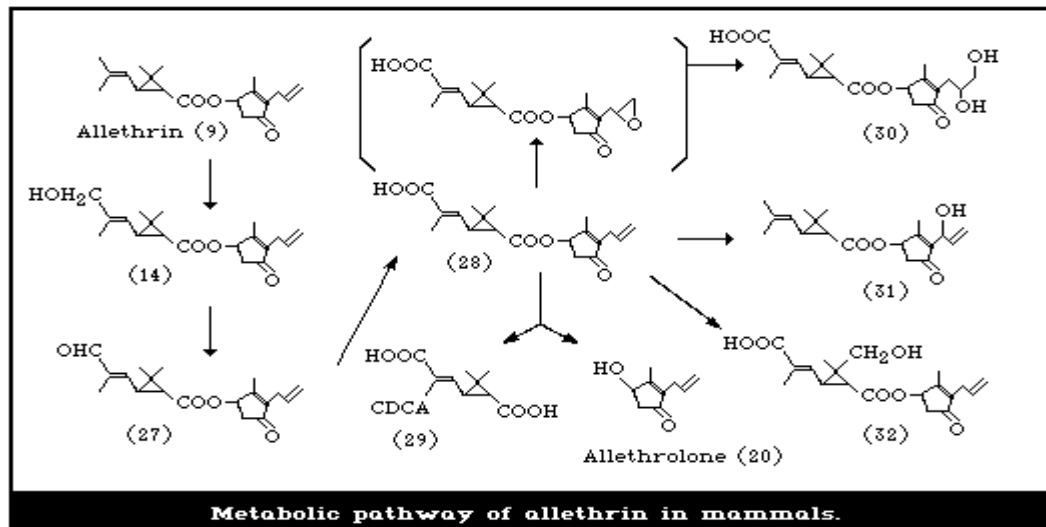
Pestisida atau racun pembasmi serangga merupakan kelompok zat yang digunakan dalam obat nyamuk. Ditemukan bahan aktif di dalam obat nyamuk yaitu jenis *dichlorvos*, *propoxur*, *pyrethroid*, dan *diethyltoluamide* serta bahan kombinasi dari ketiganya. *Allethrin* adalah *pyrethroid* sintetik pertama, diperkenalkan pertamakali pada tahun 1949 dan berasal dari campuran delapan *isomeric form* (Casida dalam Sakr and Azab 2001). Bentuk yang paling sering ada adalah perbandingan 4 : 1 dari *trans*- dan *cis*- isomer. Nama kimia *3-allyl-2-methyl-4-oxo-cyclopent-2-enyl-(1R)-cis,trans-chrysanthemate* (Cage *et al.* 1998).

Jika terhirup, *allethrin* ini dianggap tidak menyebabkan iritasi pada pernapasan (Cage *et al.* 1998). Meskipun demikian penghirupan debu, atau uap terutama untuk periode yang cukup lama dapat menyebabkan gangguan saluran pernapasan. Setelah masuk saluran pernafasan, *allethrin* menuju ke peredaran darah dan menyebar ke seluruh tubuh bersama darah yang akhirnya sampai ke testis yang diduga juga akan menyebabkan kerusakan. Bila testis rusak tentu saja spermatogenesis akan terganggu dan pada akhirnya akan mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dihasilkan.

Paparan *pyrethroid* (*allethrin*) secara inhalasi sering menyebabkan *symptoms* dan tanda-tanda iritasi pada saluran paru-paru. Frekuensi dari *symptoms* bisa sangat bervariasi berdasarkan rasio dari *stereoisomer* dari setiap formulasi, lebih berbahaya apabila proporsi dari transisomer lebih tinggi. Paparan melalui pernafasan dihitung

berbahaya karena partikel-partikel *pyrethroid* dapat dengan cepat diserap oleh paru-paru menuju peredaran darah. Pestisida ini dapat menyebabkan kerusakan serius pada hidung tenggorokan dan jaringan paru-paru apabila terhirup dengan jumlah yang cukup dan dalam waktu yang lama. Uap air dan partikel-partikel kecil adalah yang menyebabkan/menghasilkan resiko paling serius. Paru-paru dapat terpapar *allethrin* melalui penghirupan serbuk, dan uap air. Serbuk padatan yang diencerkan juga dapat menyebabkan keracunan apabila terhirup ketika pencampuran (Ogg *et al.* 2006).

Pyrethroid yang masuk ke dalam peredaran darah akan dimetabolisme di dalam hati. *Pyrethroid* dihidrolisis dengan cepat di hati menjadi asam tidak aktif dan komponen alkohol. Hidrolisis ini kemungkinan dilakukan oleh *microsomal carboxylesterase*. Kemudian terjadi degradasi dan hidrosilasi dari alkohol pada posisi 4', dan oksidasi menghasilkan banyak metabolit. Pada metabolisme terjadi stereospesifitas dimana *trans*-isomer lebih cepat dihidrolasi daripada *cis*-isomer, dimana oksidasi adalah jalur yang penting dalam metabolisme (Cage *et al.* 1998).



Gambar 5 Metabolisme *allethrin* (WHO, 1987)

Ketika *allethrin* dilabeli dengan ^{14}C pada *acid moiety* atau dengan ^3H pada *alcohol moiety* dan dimasukkan secara oral pada tikus Dawley jantan, kebanyakan metabolit yang diekskresikan adalah metabolit berbentuk ester bersama dengan dua hasil hidrolisis, yaitu berupa *chrysanthemum dicarboxylic acid* (CDCA) (angka 29) dan *allethrolone* (angka 20). *Allethrin* dapat dimetabolisasi melalui 5 jalur berikut ini; hidrolisis menjadi *allethrolone* dan menjadi CDCA yang lebih kecil, formasi dari the 2,3-diol (angka 30) dari *allyl moiety*, hidrosilasi dari salah satu kelompok *geminal*

dimethyl (angka 32), dan oksidasi pada kelompok *trans methyl* dari *isobutenyl moiety* menjadi *carboxylic acid* (angka 28)

Pemaparan *pyrethroid* merusak membran mitokondria sel leydig dan mengganggu proses *steroidogenic*, menekan ekspresi mRNA dari *Peripheral Benzodiazepine Receptor* (PBR), *Steroidogenic Acute Regulatory Protein* (StAR), dan *Cytochrome P450 side-chain cleavage* (P450scc) serta ekspresi protein dari StAR dan P450scc yang juga mengurangi biosintesis testosteron testicular dari tikus jantan. Pengaruh *pyrethroid* pada ekspresi gen sel Leydig dan pembentukan steroid merupakan pengaruh tak langsung seperti pada pengaruh langsung dari kerusakan mitokondria. Terjadi dengan cara menghambat penyaluran kolesterol ke mitokondria dan menghilangkan konversi subsequent dari kolesterol menjadi *pregnenolone*. Hasil dari penurunan testosteron menyebabkan pengaruh pada perkembangan organ reproduksi tikus, dan berkurangnya jumlah sperma, motilitas dan ketidaknormalan morfologi pada testis (Shu-Yun Zhang *et al.* 2007)

3. Antioksidan Vitamin E, C dan Radikal Bebas

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan yang dikenal ada yang berupa enzim dan ada yang berupa mikronutrien. Enzim antioksidan dibentuk dalam tubuh, yaitu *super oksida dismutase* (SOD), *glutathion peroksida*, katalase, dan *glutathion reduktase*. Sedangkan antioksidan yang berupa mikronutrien dikenal tiga yang utama, yaitu : *b-karoten*, vitamin C dan vitamin E. *B-karoten* merupakan *scavengers* (pemulung) oksigen tunggal, vitamin C pemulung superoksida dan radikal bebas yang lain, sedangkan vitamin E merupakan pemutus rantai peroksida lemak pada membran dan *Low Density Lipoprotein*. Vitamin E yang larut dalam lemak merupakan antioksidan yang melindungi *Poly Unsaturated Fatty Acids* (PUFAs) dan komponen sel serta membran sel dari oksidasi oleh radikal bebas (Hariyatmi 2004).

Berdasarkan fungsinya, antioksidan dapat dibagi menjadi : (Hariyatmi 2004)

- a. Tipe pemutus rantai reaksi pembentuk radikal bebas, dengan menyumbangkan atom H, misalnya vitamin E
- b. Tipe pereduksi, dengan mentransfer atom H atau oksigen, atau bersifat pemulung, misalnya vitamin C
- c. Tipe pengikat logam, mampu mengikat zat peroksidan, seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} , misalnya flavonoid
- d. Antioksidan sekunder, mampu mendekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk stabil, pada manusia dikenal SOD, katalase, glutathion peroksidase.

Mekanisme kerja antioksidan seluler adalah sebagai berikut:

- a. Berinteraksi langsung dengan oksidan, radikal bebas atau oksigen tunggal
- b. Mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif
- c. Mengubah jenis oksigen reaktif menjadi kurang toksik
- d. Mencegah kemampuan oksigen reaktif
- e. Memperbaiki kerusakan yang timbul.

Vitamin E (*Tocopherol*), adalah vitamin yang larut baik dalam lemak yang melindungi tubuh dari radikal bebas. Vitamin E juga berfungsi mencegah penyakit hati, mengurangi kelelahan, membantu memperlambat penuaan karena oksidasi, mensuplai oksigen ke darah sampai dengan ke seluruh organ tubuh. Vitamin E juga menguatkan dinding pembuluh kapiler darah dan mencegah kerusakan sel darah merah akibat racun. Vitamin ini juga membantu mencegah sterilitas dan destrofi otot. Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak yang terdiri dari campuran substansi tokoferol (a, b, g, dan d) dan tokotrietinol (a, b, g, dan d), pada manusia a-tokoferol merupakan vitamin E yang paling penting untuk aktifitas biologis tubuh. Bentuk vitamin ini dibedakan berdasarkan letak berbagai grup metil pada cincin fenil rantai cabang molekul dan ketidakjenuhan rantai cabang vitamin E dan selenium (suatu mineral esensial yang merupakan komponen dari enzim antioksidan) mempunyai sifat yang sama (Frei 1994).

Vitamin E berada di dalam lapisan fosfolipid membran sel dan berfungsi melindungi asam lemak jenuh ganda dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksida lipid yang banyak muncul karena adanya reaksi antara lipid dan radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atom

hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak. Mekanisme kerja vitamin E dalam mendonorkan ion hidrogen untuk menetralkan atau mengurangi kadar lemak peroksida darah dimulai dengan kerja α -tokoferol radikal yang kemudian berubah menjadi tokoferol peroksida. Dari dua tokoferol radikal berubah menjadi tokoferol dimer dan akhirnya menjadi tocoquinone yang oleh vitamin C dapat diregenerasi kembali menjadi tokoferol (Hariyatmi 2004).

Vitamin C adalah nutrisi dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C dikenal sebagai antioksidan terlarut air paling dikenal, vitamin C juga secara efektif memungut formasi ROS dan radikal bebas (Frei 1994).

Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor asam askorbat akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.* 2007).

Vitamin C memiliki struktur yang mirip glukosa, merupakan antioksidan yang bekerja pada sitosol secara ekstrasel. Vitamin C terdapat dalam bentuk asam askorbat maupun dehidroaskorbat. Asam askorbat dioksidasi *in vivo* menjadi radikal bebas askorbil reversibel dan mampu menjadi asam askorbat kembali. Secara *in vitro*, vitamin C berfungsi sebagai koantioksidan pada regenerasi bentuk radikal vitamin E menjadi vitamin E tereduksi. Asam askorbat masuk sirkulasi untuk didistribusikan ke sel-sel tubuh. Vitamin C adalah antioksidan kuat yang berperan dibawah kondisi *in vitro* dan *in vivo* (Pavlovic *et al.* 2005).

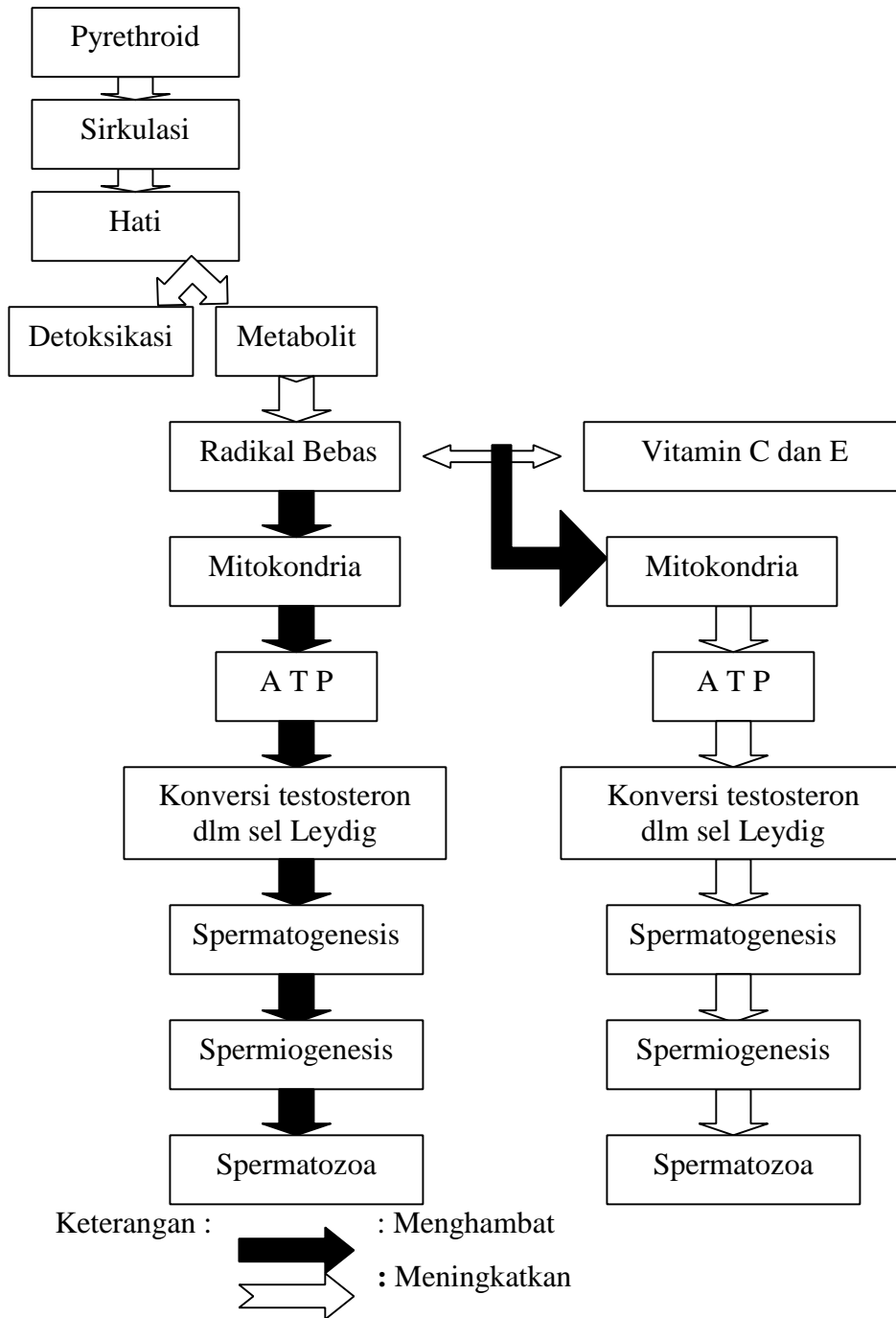
Vitamin E merupakan antioksidan yang bekerja pada membran sel yang memerlukan tekanan oksigen yang tinggi, sedangkan vitamin C bekerja pada sitosol dan secara ekstrasel. Dengan mekanisme kerja yang berbeda, jika kedua vitamin ini

digunakan bersamaan diharapkan akan memberikan efek yang optimal dalam menghadapi aktifitas senyawa oksigen reaktif (ROS) (Christyaningsih 2003). Vitamin C bersama-sama dengan vitamin E dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat vitamin E radikal yang terbentuk pada proses pemutusan reaksi radikal bebas oleh vitamin E menjadi vitamin E bebas yang berfungsi kembali sebagai antioksidan. Asam askorbat dengan cepat mengeliminasi oksigen radikal dan mencegah proses oksidatif (Pavlovic *et al.* 2005)

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas bersifat kronis, yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata. Radikal bebas yang mengambil elektron dari sel tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbullah sel-sel mutan. Bila perubahan DNA ini terjadi bertahun-tahun, maka dapat menjadi penyakit kanker. Tubuh manusia, sebenarnya dapat menghasilkan antioksidan tetapi jumlahnya sering sekali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh.

Reactive Oxygen Species (ROS) kemungkinan dilibatkan dalam patofisiologi penyakit manusia, seperti kanker, kardiovaskuler dan juga pada penyakit *neurodegeneratif* seperti alzheimer dan parkinson. ROS secara tetap diproduksi oleh reaksi metabolisme dalam tubuh manusia. Banyak ROS yang merupakan radikal bebas. Jika bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat. Dampak perusakan pada protein oleh radikal bebas menyebabkan katarak, dampak pada lipid menyebabkan aterosklerosis dan dampak pada DNA menyebabkan kanker. Akan tetapi, radikal bebas tidak selalu merugikan. Misalnya, radikal bebas berperan dalam pencegahan penyakit yang disebabkan karena mikrobial melalui sel-sel darah khusus yang disebut fagosit (Tuminah 2000).

B. Kerangka berpikir



C. Hipotesis

Pemberian antioksidan vitamin C dan vitamin E dapat menangkal radikal bebas dari *allethrin* dalam obat nyamuk elektrik terhadap kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNNES selama 3 bulan.

B. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa yang terpapar *allethrin*. Sampel penelitian yang digunakan adalah 16 ekor tikus putih dengan berat antara 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Jurusan Biologi UNNES.

C. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini ada 3 yaitu :

1. Variabel bebas: pemberian antioksidan berupa vitamin C dosis 1,8 mg/hari, vitamin E dosis 1,44 mg/hari, dan kombinasi antara vitamin C dan vitamin E.
2. Variabel tergantung: kualitas spermatozoa yang meliputi jumlah, morfologi, motilitas, viabilitas spermatozoa
3. Variabel kendali: strain, jenis kelamin, berat badan, dan kandang perlakuan.

D. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test randomized control design* menggunakan 16 ekor tikus putih yang dibagi menjadi 4 kelompok, dengan pembagian kelompok sebagai berikut :

Tabel 2. Matrik Penelitian

Kelompok	Perlakuan per hari
I	Kontrol
II	Vitamin C 1,8 mg
III	Vitamin E 1,44 mg
IV	Vitamin C 0,36 mg + vitamin E 1,44 mg

E. Alat dan bahan

1. Alat

- a. Timbangan elektrik untuk menimbang tikus dengan skala terkecil 0,2 gram.
- b. Kandang tikus khusus dengan tempat pakan dan minum.
- c. Seperangkat alat obat nyamuk elektrik.
- d. Seperangkat alat bedah dan papan bedah.
- e. Hemositometer untuk mengukur jumlah spermatozoa.
- f. Hand counter untuk menghitung jumlah spermatozoa
- g. Mikroskop untuk melihat spermatozoa.
- h. Timer 24 jam.
- i. Alat gelas untuk membuat apusan spermatozoa.

2. Bahan

- a. tikus jantan dewasa dengan berat badan 150 - 200 gram, sebanyak 16 ekor.
- b. Insektisida yang mengandung *allethrin* dari obat nyamuk elektrik
- c. Antioksidan (vitamin C dan vitamin E)
- d. Pakan tikus berupa pellet.
- e. NaCl fisiologis
- f. Giemsa.

F. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Penelitian

- a. Menyiapkan hewan uji sejumlah 16 ekor tikus jantan dewasa dengan berat badan 150 -200 gram.
- b. Membuat kandang perlakuan yang terbuat dari bak plastik.
- c. Menyiapkan *Allethrin* (dalam obat nyamuk elektrik) dan antioksidan (vitamin C dan vitamin E)
- d. Penentuan dosis untuk lama waktu pemaparan dengan *allethrin* dan dosis untuk pemberian vitamin C dan E :
 - 1) Dosis Vitamin C (Merk 'X' dengan berat tablet 250 gr dan mengandung 50 gr vitamin C)
Dosis pencegahan untuk manusia = 100 mg /hari
Dosis konversi untuk tikus = $0,018 \times 100 \text{ mg} = 1,8 \text{ mg /hari}$

Untuk 8 tikus : $1,8 \times 8 \times 1 = 14,4 \text{ mg/hr}$

$$\frac{14,4}{50} \times 250 (\text{berat tablet}) = 72 \text{ mg/hr} = 0,072 \text{ gr/hr}$$

2) Dosis Vitamin E (vitamin E murni dalam bentuk serbuk)

Dengan asumsi bahwa 1 IU (Karyadi 1990) = 0.666 mg

Dosis pencegahan untuk manusia = 120 IU /hr = 80 mg/ hari

Dosis konversi untuk tikus = $0.018 \times 80 \text{ mg} = 1,44 \text{ mg/hr}$

3) Lama pemberian *allethrin* dalam obat nyamuk elektrik adalah 8 jam /hr (Srivastava *et al.* 2005)

2. Pelaksanaan Penelitian

- a. Hewan uji diaklimasi dalam kandang selama satu minggu.
- b. Enam belas ekor tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok secara acak, masing-masing 4 ekor.
- c. Menimbang berat badan awal tikus dan menandai tikus putih dengan asam pikrat.
- d. Memberi perlakuan masing masing kelompok seperti pada Tabel 1
- e. Selama penelitian tikus diberi makan dan minum ad libitum
- f. Pemaparan *allethrin* dalam obat nyamuk elektrik dimulai pukul 21.00 – 05.00 dan pemberian antioksidan secara peroral selama 45 hari.
Pada akhir perlakuan, tikus dibedah untuk diambil vas deferens-nya.
- g. Membuat larutan stok dengan jalan meletakkan vas deferens dalam cawan yang berisi NaCl fisiologis 0,9%, kemudian vas deferens diplurut dalam wadah yang berisi NaCl fisiologis 0,9%, disebut sebagai larutan stok yang digunakan untuk mengetahui kualitas spermatozoa seperti di bawah ini (Soehadi dan Arsyad 1983) :
 - 1) Menghitung jumlah spermatozoa dengan cara menghisap larutan stok memakai hemositometer sampai tanda 0,5 lalu hisap larutan NaCl fisiologis sampai tanda 101, dan pipet dikocok. Buang beberapa tetes pada kertas tisu, kemudian teteskan pada bilik hitung yang sudah ditutup dengan kaca penutup dan sudah disiapkan di mikroskop, kemudian periksa di mikroskop.

Dihitung dengan menggunakan rumus jumlah spermatozoa terhitung (s) x 200.000 = juta/ml

- 2) Melihat morfologi spermatozoa dengan cara meneteskan 1 tetes larutan stok pada kaca obyek dan ditambahkan zat giemsa lalu tutup dengan kaca penutup. Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengetahui apakah ada kelainan pada bentuk kepala, leher, dan ekor spermatozoa.
- 3) Menghitung viabilitas sperma dengan cara membuat preparat apus dari larutan stok kemudian diwarnai dengan giemsa. Pengamatan dilakukan dengan menghitung rerata dari persentase 6 bidang pandang dan dilihat pada kepala spermatozoa, bila berwarna transparan berarti spermatozoa masih hidup dan yang mati pada daerah kepala berwarna. Kepala menjadi berwarna karena zat warna giemsa akan menembus masuk dan mewarnai spermatozoa yang rusak dan mati, disebabkan karena permeabilitas membran sel spermatozoa mati meningkat di daerah kepala yang tidak tertutup akrosom. Nilai viabilitas spermatozoa dinyatakan dalam persen.
- 4) Menghitung motilitas dengan cara 6 lapang pandang diperiksa secara berurutan dengan menggeser bidang pandang dari kiri ke kanan serta dari kanan ke kiri untuk memperoleh 100 sperma motil yang dijumpai dan dihitung persentasenya. Kategori yang dipakai untuk mengklasifikasi motilitas sperma disebut (a), (b), (c), (d), dan didefinisikan sebagai berikut: Kategori (a) jika sperma bergerak cepat dan lurus ke muka. Kategori (b) jika gerakannya lambat atau sulit maju lurus atau bergerak tidak lurus. Kategori (c) jika tidak bergerak maju. Kategori (d) jika sperma tidak bergerak (Hermawanto 2000). Klasifikasi motil untuk gerakan spermatozoa kategori (a) dan klasifikasi non motil untuk gerakan spermatozoa kategori (b), (c), (d) sehingga menghasilkan persentase setiap kategori motilitas.

G. Metode Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan dengan melakukan pengamatan di bawah mikroskop terhadap jumlah (juta/ml ejakulat), morfologi normal dan abnormal (%), motilitas (%), dan viabilitas spermatozoa (%).

H. Metode Analisis Data

Data berupa kualitas spermatozoa dianalisis secara statistik dengan Anava satu jalan pada taraf uji 5%. Bila terdapat perbedaan akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Untuk data berupa morfologi spermatozoa dianalisis secara deskriptif. Untuk perhitungan jumlah, motilitas dan viabilitas spermatozoa dengan rumus seperti di bawah :

1. derajat kebebasan (db)

$$\text{db total} : (t \times r) - 1$$

$$\text{db galat} : t (r-1)$$

$$\text{db perlakuan} : (t-1)$$

t = perlakuan

r = ulangan

2. Faktor Koreksi (FK)

$$\text{FK} = \frac{(\sum \sum X_i)^2}{n}$$

3. Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{JK total} = \sum \sum X_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\text{JK perlakuan} = \sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - \text{FK}$$

$$\text{JK galat} = \text{JK total} - \text{JK perlakuan}$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT perlakuan} = \frac{\text{JK}_{\text{perlakuan}}}{\text{db}_{\text{galat}}}$$

$$\text{KT galat} = \frac{\text{JK}_{\text{galat}}}{\text{db}_{\text{galat}}}$$

$$\text{F hitung} = \frac{\text{KT}_{\text{perlakuan}}}{\text{KT}_{\text{galat}}}$$

Tabel 3 Ringkasan Anava

Sumber Variasi	db	JK	KT	F hitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	(t-1)	$\sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - \text{FK}$	$\frac{\text{JK}_{\text{perlakuan}}}{\text{db}_{\text{galat}}}$	$\frac{\text{KT}_{\text{perlakuan}}}{\text{KT}_{\text{galat}}}$	
Galat	t (r-1)	JK total- JK perlakuan	$\frac{\text{JK}_{\text{galat}}}{\text{db}_{\text{galat}}}$		
Total	(t x r) - 1	$\sum \sum X_{ij}^2 - \text{FK}$			

Untuk dapat mengetahui hipotesis ditolak atau diterima, nilai F hitung yang telah diketahui melalui perhitungan ANAVA satu jalan dibandingkan dengan nilai F tabel dengan taraf uji 5%, sehingga kesimpulan yang dapat diambil :

1. Bila F hitung > F tabel = Beda signifikan → Tolak Ho, terima Ha
2. Bila F hitung < F tabel = Beda tidak signifikan → Terima Ho, tolak Ha

Apabila perhitungan dengan uji ANAVA satu jalan menunjukkan perbedaan signifikan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT dengan membandingkan nilai tengah (rata-rata) dari dua kelompok perlakuan. Jika nilai rata-rata > nilai BNT 5% maka kedua perlakuan tersebut berbeda nyata dan apabila nilai rata-rata < nilai BNT 5% maka kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata.

$$BNT = t_{(1-0,5)} \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

= Taraf Signifikan

$t_{(1-0,5)}$ = Nilai kritik uji t dengan db = db galat

KTG = Kuadrat Tengah Galat (Kuadrat Tengah Dalam Kelompok)

r = Banyaknya ulangan

Tabel 4 Uji Lanjut BNT

Selisih Antara	A (A)	B (B)	C (C)	D (D)
A (A)	-			
B (B)	(A - B)	-		
C (C)	(A - C)	(B - C)	-	
D (D)	(A - D)	(B - D)	(C - D)	-

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Data yang digunakan sebagai parameter penelitian adalah jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa setelah perlakuan selama 45 hari. Data-data tersebut didapat dari 4 kelompok, yaitu kelompok A (kontrol), kelompok B (perlakuan vitamin C 0,36 mg), kelompok C (perlakuan vitamin E 1,44 mg), kelompok D (perlakuan vitamin C 0,36 mg + vitamin E 1,44 mg)

1. Jumlah Spermatozoa (juta/ml ejakulat)

Jumlah spermatozoa didapat dari larutan stok yang kemudian diperiksa di bawah mikroskop, jumlah spermatozoa di hitung dari bilik hitung Neubauer dan hasilnya dikalikan 200.000 (Soehadi & Arsyad 1983)

Tabel 5 Rerata jumlah spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan

Perlakuan	Rerata
Jumlah Spermatozoa (juta/ml ejakulat)	
A	10,5 a
B	15,25 b
C	16,5 bc
D	17,5 c

angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan ($p < 0,05$)

*) Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1

Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa jumlah spermatozoa setelah pemberian vitamin C, E dan kombinasi vitamin C dan E dengan dosis yang sama untuk masing-masing kelompok reratanya berbeda. Tiap kelompok menunjukkan peningkatan nilai rerata kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dan rerata peningkatan tertinggi ditunjukkan oleh kelompok perlakuan vitamin C + vitamin E. Untuk mengetahui apakah perbedaan rerata tiap kelompok tersebut berpengaruh atau tidak, maka data diuji secara statistik dengan uji Anava satu jalan pada taraf uji 5%.

Berdasarkan hasil analisis anava dapat diketahui bahwa hipotesis diterima, yaitu terdapat pengaruh pada ($p < 0,05$) untuk kelompok vitamin C dan E dari masing-masing perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan harga F hitung (25,93) lebih besar dari F tabel

(3,49). Selanjutnya untuk mengetahui kelompok yang berbeda, maka dilakukan uji BNT dengan taraf uji 5 % yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 7 :

Tabel 6 Hasil uji BNT jumlah spermatozoa *)

Kelompok	Rerata	K	P1	P2	P3
K	10,5	-			
P1	15,25	4,75**	-		
P2	16,5	6**	1,25 ^{ns}	-	
P3	17,5	7**	2,25**	1 ^{ns}	-

Keterangan :

BNT= 1,87

ns= non signifikan, berbeda tidak nyata pada taraf uji 5%

**= signifikan, berbeda nyata pada taraf uji 5%

*) Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 3

Setelah dilakukan uji lanjut dengan uji BNT 5% dapat dilihat bahwa kelompok A berbeda dengan kelompok B, C dan D. Antara kelompok B dengan kelompok C tidak berbeda tetapi dengan kelompok D berbeda. Sedangkan antara kelompok C dengan kelompok D tidak berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin C dan E bersama-sama hasilnya lebih efektif dalam menangkal radikal bebas dari *allethrin* dibanding bila vitamin tersebut diberikan secara terpisah.

2. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa pada penelitian ini didapat dari pengamatan pada mikroskop. Klasifikasi motil untuk gerakan spermatozoa kategori (a) dan klasifikasi non motil untuk gerakan spermatozoa kategori (b), (c), (d) sehingga menghasilkan persentase setiap kategori motilitas.

Tabel 7 Rerata motilitas spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan

Perlakuan	Rerata
	Motilitas Spermatozoa (%)
A	11,75 a
B	41,75 b
C	60,25 c
D	66,75 c

angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan ($p < 0,05$)

*) Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1

Rerata motilitas spermatozoa setelah perlakuan mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tanpa diberi vitamin C ataupun E. Apakah

peningkatan ini berpengaruh atau tidak, maka dilakukan uji ANAVA satu jalan pada taraf 5%.

Berdasarkan hasil analisis anava dapat diketahui bahwa hipotesis diterima, yaitu terdapat pengaruh pada ($p < 0,05$) untuk kelompok vitamin C dan E dari masing-masing perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan harga F hitung (113,5) lebih besar dari F tabel (3,49). Selanjutnya untuk mengetahui kelompok yang berbeda, maka dilakukan uji BNT dengan taraf uji 5 % yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 10 :

Tabel 8 Hasil uji BNT motilitas spermatozoa *)

Kelompok	Rerata	K	P1	P2	P3
K	11,75	-			
P1	41,75	30**	-		
P2	60,25	48,5**	18,5**	-	
P3	66,75	55**	25**	6,5 ^{ns}	-

Keterangan :

BNT= 7,12

ns= non signifikan, berbeda tidak nyata pada taraf uji 5%

**= signifikan, berbeda nyata pada taraf uji 5%

*) Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5

Setelah dilakukan uji lanjut dengan uji BNT 5% dapat dilihat bahwa antara kelompok A dengan kelompok B, C dan D berbeda. Kelompok B berbeda dengan kelompok C dan D. Hal ini memperlihatkan bahwa dengan pemberian salah satu vitamin baik vitamin C 0,36 mg/hari maupun vitamin E 1,44 mg/hari telah mampu menangkal radikal bebas ditunjukkan dengan meningkatnya motilitas spermatozoa dan apabila kedua vitamin ini diberikan bersama maka menunjukkan fungsi yang lebih baik dalam menangkal radikal bebas.

3. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa didapat dari pengamatan struktur spermatozoa pada daerah kepala, bila berwarna transparan berarti spermatozoa masih hidup dan yang mati pada daerah kepala berwarna, sehingga didapatkan data dalam bentuk persentase.

Tabel 9 Rerata viabilitas spermatozoa kelompok kontrol dan perlakuan

Perlakuan	Rerata
	Viabilitas Spermatozoa (%)
A	30,5a
B	47,5 b
C	67 c
D	90,5 d

angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan ($p < 0,05$)

*) Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1

Rerata viabilitas spermatozoa kelompok perlakuan mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kemudian untuk mengetahui apakah peningkatan ini berpengaruh atau tidak, maka dilakukan uji ANAVA satu jalan pada taraf 5%.

Berdasarkan hasil analisis anava dapat diketahui bahwa hipotesis diterima, yaitu terdapat pengaruh pada ($p < 0,05$) untuk kelompok vitamin C dan E dari masing-masing perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan harga F hitung (97,32) lebih besar dari F tabel (3,49). Untuk mengetahui kelompok yang berbeda, maka dilakukan uji BNT dengan taraf uji 5 % yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 13 :

Tabel 10 Hasil uji BNT viabilitas spermatozoa *)

Kelompok	Rerata	K	P1	P2	P3
K	30,5	-			
P1	47,5	17**	-		
P2	67	36,5**	22,5**	-	
P3	90,5	60**	43**	23,5**	-

Keterangan :

BNT= 8,06

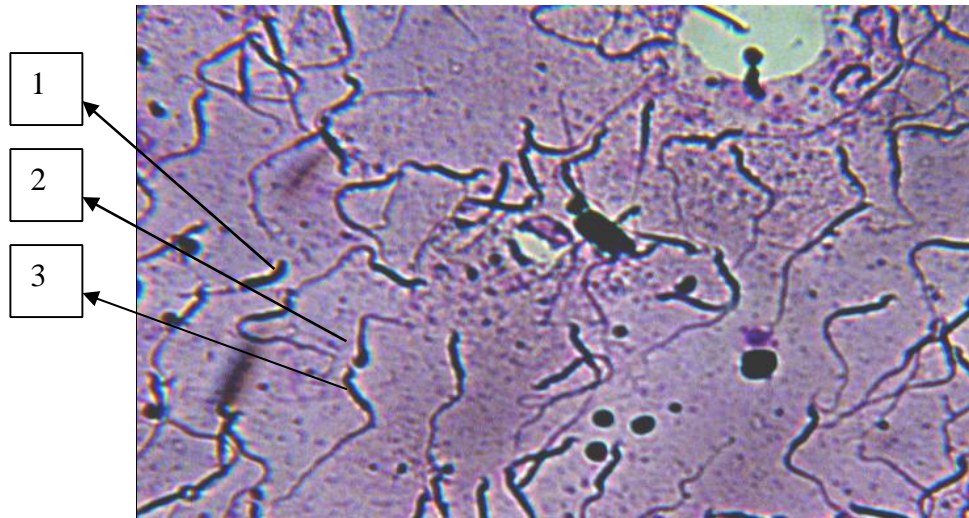
**= signifikan, berbeda nyata pada taraf uji 5%

*) Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 7

Setelah dilakukan uji lanjut dengan uji BNT 5% dapat dilihat bahwa tiap kelompok memiliki perbedaan. Hal ini memperlihatkan bahwa dengan pemberian salah satu vitamin baik vitamin C 0,36 mg/hari maupun vitamin E 1,44 mg/hari telah mampu menangkal radikal bebas dengan bertahannya viabilitas spermatozoa. Apabila vitamin C dan E berada bersama-sama hasilnya lebih efektif dalam menangkal radikal bebas untuk mempertahankan viabilitas spermatozoa tikus putih yang terpapar *allethrin*.

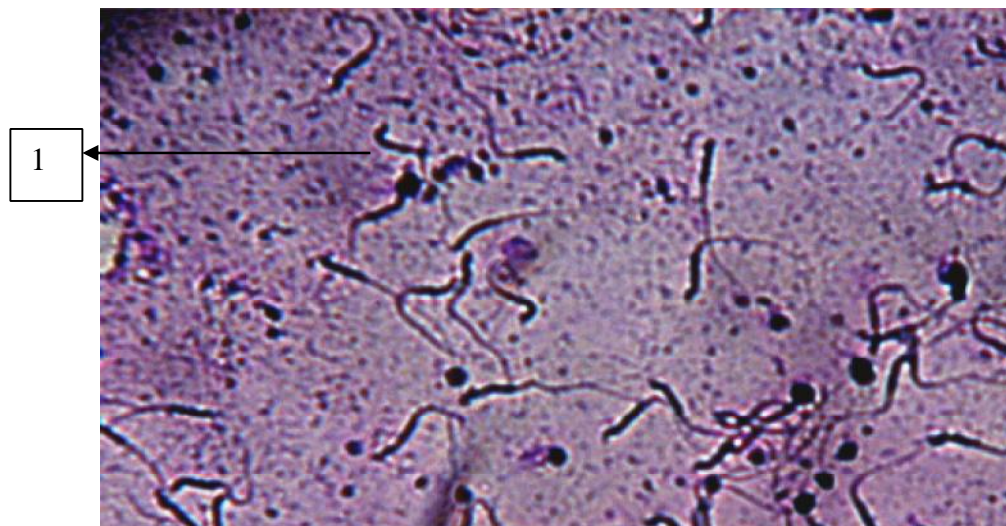
4. Morfologi Spermatozoa

Hasil pengamatan morfologi spermatozoa pada tikus yang terpapar *allethrin*, didapatkan adanya beberapa kelainan morfologi spermatozoa. Kelainan-kelainan yang ditemukan antara lain :



Gambar 6 Kelainan morfologi spermatozoa (Perlakuan A, 400x, giemsa)

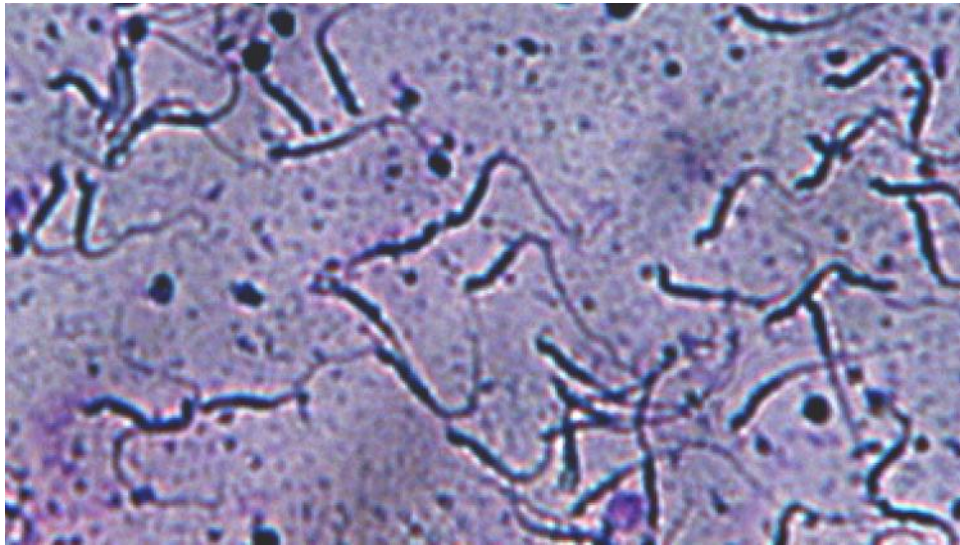
Keterangan: 1. spermatozoa berekor pendek
2. spermatozoa berkepala kecil
3. spermatozoa normal yang terdiri dari kepala, leher, dan ekor



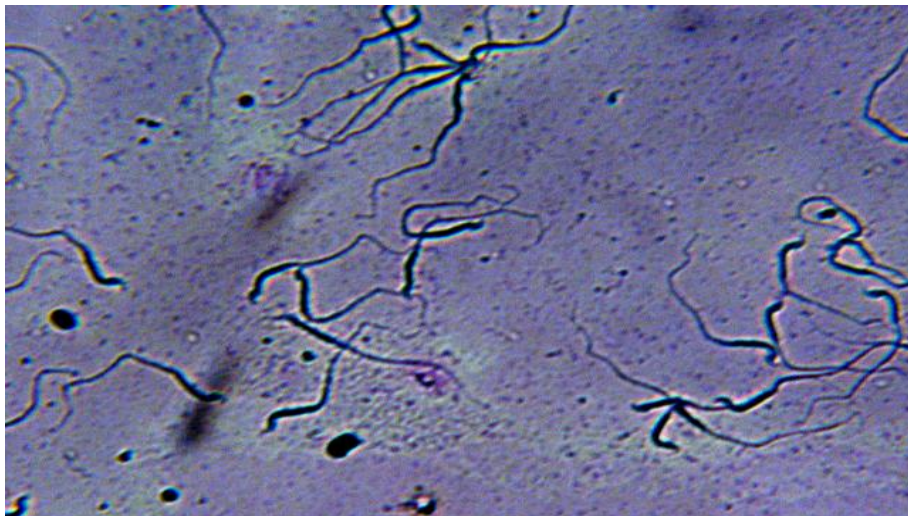
Gambar 7 Kelainan morfologi spermatozoa (Perlakuan A, 400x, giemsa)

keterangan: 1. spermatozoa tanpa ekor

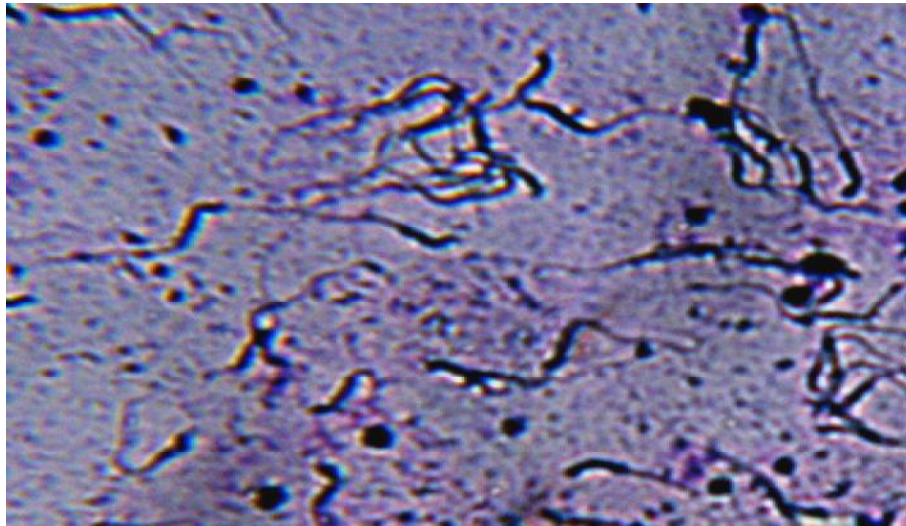
Gambar di atas menunjukkan kelainan morfologi spermatozoa pada kelompok kontrol yang disebabkan oleh adanya gangguan dari radikal bebas. Pada Gambar 7 yang ditunjukkan dengan angka 1 menunjukkan kelainan morfologi spermatozoa berupa spermatozoa berekor pendek, sedangkan angka 2 menunjukkan adanya kelainan morfologi pada spermatozoa yang berupa spermatozoa berkepala kecil. Angka 3 menunjukkan gambar spermatozoa normal. Gambar 7 dengan angka 1 menunjukkan adanya kelainan morfologi spermatozoa berupa spermatozoa tanpa ekor.



Gambar 8 Morfologi Spermatozoa normal (Perlakuan B, perbesaran 400x, pengecatan giemsa)



Gambar 9 Morfologi Spermatozoa normal (Perlakuan C, perbesaran 400x, pengecatan giemsa)



Gambar 9 Morfologi Spermatozoa normal (Perlakuan C, perbesaran 400x, pengecatan giemsa)

Ketiga gambar di atas menunjukkan tidak adanya kelainan morfologi spermatozoa pada kelompok perlakuan perlakuan yang diberi vitamin C, vitamin E dan kombinasi dari vitamin C dan E. morfologi normal tersebut ditunjukkan dengan adanya bagian-bagian tubuh spermatozoa yaitu kepala spermatozoa yang berbentuk sabit, adanya leher, serta ekor. Hal ini menunjukkan bahwa antioksidan vitamin C dan E mampu menangkal dampak dari radikal bebas.

B. Pembahasan

Dari penelitian yang telah dilakukan ternyata paparan obat nyamuk elektrik 8 jam/hari selama 45 hari pada kelompok kontrol menunjukkan hasil rerata yang paling rendah untuk perhitungan jumlah, motilitas dan viabilitas spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberi vitamin C, vitamin E dan kombinasi dari vitamin C dan E. Morfologi spermatozoa pada kelompok kontrol menunjukkan adanya kelainan morfologi sedangkan pada kelompok yang diberi vitamin tidak ditemukan adanya kelainan. Hal ini menunjukkan bahwa *allethrin* dalam obat nyamuk yang termasuk kelompok *pyrethroid* I, dapat menyebabkan penurunan jumlah, motilitas, dan viabilitas spermatozoa, serta menyebabkan kelainan morfologi spermatozoa.

Allethrin dalam obat nyamuk dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas. Apabila radikal bebas tidak dihentikan maka akan merusak membran sel mitokondria. Dalam hal ini sel mitokondria adalah penghasil ATP yang diperlukan untuk konversi testosteron dalam sel *leydig* dalam proses spermatogenesis. Bila mitokondria terganggu atau rusak maka proses spermatogenesis akan mengalami gangguan. Hal ini sesuai dengan Shu (2007) yang mengatakan radikal bebas dari *pyrethroid* dapat menyebabkan kerusakan membran mitokondria sel Leydig, kerusakannya berupa membran sel mitokondria yang tidak berpasangan. Selain itu Shu (2007) juga mengatakan bahwa radikal bebas dari *pyrethroid* mengganggu biosintesis testosteron dengan cara mengurangi pengiriman kolesterol ke mitokondria oleh *Peripheral Benzodiazepine Receptor* (PBR) dan *Steroidogenic Acute Regulatory protein* (StAR), serta menurunkan konversi kolesterol menjadi pregnenolone yang dikatalisis oleh *cytochrome P450side-chain cleavage* (P450scc), yang menyebabkan menurunnya produksi testosteron. Supaya gangguan tersebut tidak terjadi maka dibutuhkan penetralisir *allethrin* yang berupa antioksidan.

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak dengan cara menyumbangkan elektron hidrogen kepada radikal bebas untuk menjadi radikal bebas stabil yang sifatnya tidak merusak. Antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C dan E. Kelompok yang diberi antioksidan vitamin C dan E menunjukkan adanya peningkatan dalam jumlah, motilitas, dan viabilitas spermatozoa. Begitu juga dengan morfologi spermatozoa yang tidak ditemukan kelainan pada kelompok yang diberi perlakuan antioksidan berupa vitamin C dan E. Hal ini sesuai dengan Pavlovic *et al* (2005) yang menyatakan bahwa vitamin C mempunyai kemampuan mengubah vitamin C yang bersifat reaktif menjadi vitamin C yang stabil dan mampu meregenerasi vitamin E yang reaktif menjadi vitamin E yang stabil kembali.

Pemberian kombinasi vitamin C dan E yang mampu meningkatkan jumlah, motilitas, viabilitas spermatozoa serta mengurangi kelainan morfologi spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa adanya kerja sama yang sinergis dari vitamin C dan E, yaitu dengan cara radikal bebas yang ditimbulkan oleh *allethrin* dalam obat nyamuk elektrik

akan ditangkap oleh vitamin E dengan menyumbangkan satu elektronnya kepada radikal yang kemudian berubah menjadi vitamin E radikal dan selanjutnya akan distabilkan oleh vitamin C. Vitamin C yang bersifat radikal karena kehilangan elektron nantinya akan berubah menjadi stabil kembali oleh enzim antioksidan di dalam tubuh.

Pada penghitungan jumlah spermatozoa menunjukkan antara kelompok A dengan kelompok B, C, dan D berbeda, sehingga bila dibandingkan dengan kontrol, antioksidan vitamin C dan E mampu menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh *allethrin* dalam obat nyamuk. Antara kelompok B dengan kelompok C tidak menunjukkan perbedaan. Ini menunjukkan vitamin C dan E mempunyai kemampuan sama dalam menangkan radikal bebas sehingga jumlah spermatozoa bisa dipertahankan.

Vitamin C berfungsi menangkal radikal bebas dengan cara menetralsir *allethrin* dalam obat nyamuk di dalam sitosol karena vitamin C mempunyai kelarutan yang tinggi di dalam air. Vitamin E memiliki kemampuan untuk menghentikan lipid peroksida dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksil yang bersifat radikal sehingga menjadi vitamin E yang kurang reaktif dan tidak merusak. Antara kelompok C dan D berbeda karena pemberian vitamin E saja sudah mampu menangkal efek radikal bebas, sehingga ketika vitamin E dan vitamin C diberikan secara bersamaan kurang bisa menunjukkan perbedaan yang nyata dalam statistik walaupun menunjukkan angka rerata yang lebih baik dalam perhitungan.

Pada motilitas spermatozoa didapatkan data yang menunjukkan kelompok A berbeda dengan kelompok B, C, dan D. Ini membuktikan membuktikan bahwa pemberian antioksidan berupa vitamin C dan E mampu menangkal radikal bebas sehingga dapat mempertahankan motilitas spermatozoa dengan menghambat pengrusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Kelompok B menunjukkan perbedaan dengan kelompok C dan D, ini memperlihatkan bahwa bila vitamin C bekerja sendiri kurang mampu memberikan perbedaan, supaya vitamin C bisa berperan secara optimal dalam mengangkal radikal bebas untuk mempertahankan motilitas spermatozoa, sebaiknya vitamin C bekerja sama dengan vitamin E. Hal ini dikarenakan vitamin C bekerja secara sinergis dengan vitamin E dalam mempertahankan jumlah spermatozoa dengan menangkap radikal bebas dari *allethrin* dalam obat nyamuk, vitamin E menyumbangkan satu elektronnya kepada radikal yang kemudian berubah menjadi

vitamin E radikal dan selanjutnya akan distabilkan oleh vitamin C. Vitamin C yang bersifat radikal selanjutnya akan berubah menjadi stabil kembali oleh enzim antioksidan di dalam tubuh.

Untuk kelompok C dan D tidak menunjukkan perbedaan ini dikarenakan vitamin E saja sudah mampu menangkal radikal bebas yang ditunjukkan dengan bertahannya motilitas spermatozoa sehingga ketika digunakan bersama dengan vitamin C tidak dapat menunjukkan perbedaan walaupun dalam angka rerata perhitungan menunjukkan angka yang lebih banyak. Ini karena vitamin E memiliki kemampuan untuk menghentikan lipid peroksida dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksida yang bersifat radikal sehingga menjadi vitamin E yang kurang reaktif dan tidak merusak. Saat terdapat radikal bebas, lipid peroksida meningkat karena adanya reaksi antara lipid dengan radikal bebas. Pada tahap awal reaksi terjadi pelepasan hidrogen dari asam lemak tidak jenuh secara homolitik sehingga terbentuk radikal alkil yang terjadi karena adanya inisiator (panas, oksigen aktif, logam atau cahaya). Pada keadaan normal radikal alkil cepat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi dimana radikal peroksi ini bereaksi lebih lanjut dengan asam lemak tidak jenuh membentuk hidroproksida dengan radikal alkil, kemudian radikal alkil yang terbentuk ini bereaksi dengan oksigen. Dengan demikian reaksi otoksidasi adalah reaksi berantai radikal bebas. Oleh karena membran sel mitokondria kaya akan lipid yang peka terhadap serangan radikal bebas.

Pada perhitungan viabilitas spermatozoa antara kelompok A, B, C dan D berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dan E berfungsi lebih baik dalam menangkal radikal bebas sehingga dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa apabila digunakan bersama. Vitamin C berfungsi dalam menetralkan radikal bebas dari *allethrin* dalam obat nyamuk di dalam sitosol karena vitamin C mempunyai kelarutan yang tinggi di dalam air. Sedangkan vitamin E memiliki kemampuan untuk menghentikan lipid peroksida dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksil yang bersifat radikal sehingga menjadi lipid peroksida yang kurang reaktif dan tidak merusak. Oleh karena membran sel mitokondria kaya akan lipid yang peka terhadap serangan radikal bebas yang disebabkan oleh *allethrin* dalam obat nyamuk. hal ini menunjukkan bahwa vitamin C maupun vitamin E telah bisa menangkal radikal bebas

sehingga mampu meningkatkan viabilitas spermatozoa. Apabila kedua vitamin tersebut digunakan bersama akan berfungsi dengan lebih baik dibandingkan dengan penggunaan satu vitamin saja, hal ini ditunjukkan dengan memperlihatkan viabilitas spermatozoa yang lebih banyak. Hal ini sesuai dengan Chrystyaningsih (2003) yang menyatakan dengan mekanisme kerja yang berbeda, jika kedua vitamin C dan E digunakan bersamaan diharapkan akan memberikan efek yang optimal dalam menghadapi aktivitas radikal bebas.

Morfologi spermatozoa tikus terpapar *allethrin* yang diamati hanya ditemukan sedikit kelainan, kelainan tersebut ditemukan pada kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok perlakuan antioksidan vitamin C dan E serta kombinasi vitamin C dan E tidak ditemukan kelainan pada morfologi spermatozoa. Ini dikarenakan antioksidan vitamin C dan E mampu menangkal radikal bebas dengan baik, sehingga memperlancar tahapan-tahapan spermatogenesis yang dimulai dari proses konversi testosteron yang bermula dari transfer kolesterol ke dalam membran mitokondria oleh PBR dan StAR sehingga berhasil dikonversi menjadi *pregnenolone* yang dikatalisis oleh P450_{scc} pada membran dalam mitokondria. Proses selanjutnya dalam dalam testis terdapat sel Leydig dimana P450_{scc} memulai tahap enzimatis awal pada steroidogenesis. Setelah itu *pregnenolone* menuju retikulum endoplasma halus yang kemudian dikonversi menjadi progesteron oleh 3-HSD. *Pregnenolone* dikatalisis oleh P450₁₇ untuk membentuk 17-*hydroxyprogesterone* dan *androstenedione* yang selanjutnya diubah menjadi testosteron oleh 17-HSD. Bila tahapan di atas terganggu dengan adanya radikal bebas dari *phyrethroid* maka tahapan selanjutnya dalam spermatogenesis dan spermiogenesis sampai menjadi spermatozoa akan terganggu pula, bila terganggu maka viabilitas spermatozoa yang dihasilkan juga tidak akan sempurna.

Dari hasil penelitian dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa paparan obat nyamuk elektrik 8jam/hari selama 45 hari dapat menyebabkan berkurangnya kualitas spermatozoa, dalam hal ini jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa. Pemberian antioksidan vitamin C 0,36 mg/hari dan E 1,44 mg/hari mampu menangkal radikal bebas ditunjukkan dengan meningkatnya kualitas spermatozoa. Untuk menangkal radikal bebas sehingga dapat mempertahankan jumlah spermatozoa, pemberian vitamin C 0,36 mg/hari lebih efektif apabila digunakan bersama dengan

vitamin E 1,44 mg/hari, sedangkan vitamin E 1,44 mg/hari sudah dapat dianggap menangkal dampak radikal bebas sehingga jumlah spermatozoa dapat dipertahankan. Pada motilitas spermatozoa pemberian vitamin E 1,44 mg/hari saja sudah dapat menangkal dampak radikal bebas ditunjukkan dengan meningkatnya motilitas spermatozoa, sedangkan vitamin C 0,36 mg/hari akan lebih baik bila digunakan bersama vitamin E 1,44 mg/hari. Pada viabilitas spermatozoa pemberian kombinasi vitamin C 0,36 mg/hari dan E 1,44 mg/hari lebih memberikan fungsi yang lebih baik dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa dengan cara menangkal radika bebas, walaupun pemberian salah satu vitamin saja baik vitamin C 0,36 mg/hari maupun vitamin E 1,44 mg/hari saja sudah dapat menangkal radikal bebas sehingga dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa. Pada morfologi spermatozoa pemberian vitamin C 0,36 mg/hari atau vitamin E 1,44 mg/hari secara sendiri sendiri sudah mampu menangkal dampak dari radikal bebas, dan bila dipergunakan bersama-sama akan lebih menunjukkan hasil yang lebih baik.

Secara keseluruhan pemberian antioksidan vitamin C 0,36 mg/hari bersama dengan vitamin E 1,44 mg/hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang terpapar *allethrin* mampu menangkal radikal bebas sehingga kualitas spermatozoa dapat dipertahankan lebih baik daripada pemberian satu jenis vitamin yaitu vitamin E 1,44 mg/hari saja maupun vitamin C saja, sedangkan pemberian vitamin E 1,44 mg/hari saja masih lebih baik daripada pemberian vitamin C 0,36 mg/hari.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan pada bab sebelumnya, dapat diambil simpulan bahwa pemberian antioksidan vitamin C dan vitamin E dapat menangkal radikal bebas dari *allethrin* dalam obat nyamuk elektrik terhadap kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan.

B. Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat diajukan saran yaitu perlu adanya penelitian lanjut pemberian vitamin C dan E dengan dosis yang efektif terhadap peningkatan kualitas spermatozoa tikus sampai ambang normal dan variasi lamanya paparan obat nyamuk elektrik dengan sifat toksik yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Balls. 1983. *Animals and Alternatives in Toxicity Testing*. Academic Press, inc. London
- Cage S.A, Bradberry, S. M., Meacham.S. dan Vale J.M. 1998. *Ukpid Monograph Allethrin*. National poison Information services City Hospital NHS trust. Birmingham
<http://www.intox.org/databank/documents/chemical/allethrn/ukpid31.htm>
- Christyaningsih J. 2003. Pengaruh Suplementasi Vitamin E dan C Terhadap Aktivitas Enzim Super Oxide Dismutase(SOD) dalam Eritrosit Tikus yang Terpapar Asap Rokok Kretek. *JIPTU*. Malang
<http://adln.lib.unair.ac.id>
- DeCherney A.H., Polan, M.L., Lee, R.D., Boyers, S.P. 1997. *Seri Skema Diagnostis dan Penatalaksanaan infertilitas*. Binarupa Aksara.
- Duenholter J.H. 1988, *Ginekologi Greenhill*. (alih bahasa: Candra Sanusi) EGC. Jakarta
- Frei. 1994. *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanisms of Action (American Jurnal Medicine)*. Excerpta Medica Inc.
- Ganong WF. 1988. *Fisiologi Kedokteran*. (alih bahasa : Adji Dharma) EGC . Jakarta
- Geneser F. 1994. *Histologi dan Biologi Sel*. (alih bahasa: Arifin Gunawijaya) Binarupa Aksara. Jakarta
- Guyton AC. 1997. *Fisiologi Kedokteran*. (Alih bahasa: Adji Dharma dan P. Lukmanto) EGC. Jakarta
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan vitamin e sebagai antioksidan Terhadap radikal bebas pada lanjut usia. *Jurnal MIPA vol 14 No.1*. Surakarta. UMS
- Hermawanto HH & Hadiwidjaja DB. 2000 *Analisis Sperma pada Infertilitas Pria*. Malang www.kompas.com/pus-3.htm

- Instisari. 2007. Jangan Asal Semprot, bahaya...!. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
www.depkes.go.id/index.php?option=articles&task=viewarticle&artid=4621&temid=3
- Junqueira LC & J Carneiro 1998. Histologi Dasar (Alih bahasa; Jan Tambayong). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Karyadi. D & Muhilal. 1990. *Kecukupan Gizi Yang Dianjurkan*. Gramedia. Jakarta
- Ogg CL & Schulze LD. 2006. *Managing the risk of pesticide poisoning and understanding the sign and symptoms*. The board of regents of the university of Nebraska on behalf of the University of Nebraska – Lincoln extension. Nebraska, United States of America
- Pavlovic V, Cekic S, Rankovic G & Stoiljkovic N. 2005. Antioxidant and Pro-oxidant Effect of Ascorbic Acid. *Acta Medica Medianae*. 44 (1): 65-69.
- Sakr SA & Azab AE. 2001 Effect of Pyrethroid Inhalation on Testis of Albino Rat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. vol 4 hal 498-500
www.ansijournals.com/pjbs/2001/49-500.pdf
- Sauriasari R. 2006. Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas.
www.beritaiptek.com_radikalbebas.html
- Shu-Yun Zhang, Yuki Ito, Osamu Yamanoshita, Yukie Yanagiba, Miya Kobayashi, Kazuyoshi Taya, Chun-Mei Li, Maiko Miyata, Jun Ueyama, Chul-Ho Lee, Michihiro Kamijima dan Tamie Nakajima. 2007. Permethrin May Disrupt Testosterone Biosynthesis via Mitochondrial Membrane Damage of Leydig Cells in Adult Male Mouse. *The Endocrine Society*. Volume: 148 halaman: 3941 – 3949
- Soehadi K. dan Arsyad K. M. 1983. *Analisis Sperma*. Airlangga University Press. Surabaya
- Srivastava Anvita, Mithilesh Kumar S, dan Rajendra Behari R. 2005. Ninety-day toxicity and one-generation reproduction study in rats exposed to allethrin-based liquid mosquito repellent. India :Pesticide Toxicology Laboratory. *The Journal of Toxicological sciences*. Vol 31No.1
www.jstage.jst.go.jp/article/ots/31/1/1-pdf
- Suhartono E, Fachir H & Setiawan B. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin: Pustaka Benua

Tuminah S. 2000. Radikal Bebas dan Antioksidan-kaitannya dengan nutrisi dan penyakit kronis. *Cermin dunia Kedokteran* Vol.128 hal 49-51. Jakarta
<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/15radiklabebasdanantioksidan128.pdf>
[/15radikalbebasDanAntioksidan128.html](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/15radiklabebasdanantioksidan128.html)

World Health Organization, 1989. Environmental Health Criteria For Allethrins. International Programme On Chemical Safety Environmental Health Criteria 87
www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc87.htm

Wiknjosastro H, Saifudin AB, Rachimhadhi T, 1999. *Ilmu Kandungan*. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta

Lampiran 1. HASIL PERHITUNGAN DATA

1. Data Hasil Perhitungan Jumlah Spermatozoa

Perlakuan	Ulangan (juta/ml)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A	12	12	10	8	42	10,5
B	14	16	16	15	61	15,25
C	16	18	16	16	66	16,5
D	18	18	17	17	70	17,5
Total					239	59,75

2. Data Hasil Perhitungan Motilitas Spermatozoa

a. Spermatozoa motil

Perlakuan	Ulangan (juta/ml)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A	15	13	9	10	47	11,75
B	36	46	45	40	167	41,75
C	60	51	69	61	241	60,25
D	66	68	65	68	267	66,75
Total					722	180,5

b. Spermatozoa tidak motil

Perlakuan	Ulangan (juta/ml)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A	85	87	91	90	353	88,25
B	64	54	55	60	233	58,25
C	40	49	31	39	159	39,75
D	34	32	35	32	133	33,25
Total					878	219,5

3. Data Hasil Perhitungan Viabilitas Spermatozoa**a. spermatozoa hidup**

Perlakuan	Ulangan (juta/ml)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A	30	28	35	29	122	30,5
B	45	52	53	40	190	47,5
C	60	65	73	70	268	67
D	83	90	95	94	362	90,5
Total					942	235,5

b. spermatozoa mati

Perlakuan	Ulangan (juta/ml)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A	70	72	65	71	278	69,5
B	55	48	47	60	210	52,5
C	40	35	27	30	132	33
D	17	10	5	6	38	9,5
Total					658	164,5

Lampiran2.PERHITUNGAN ANAVA SATU JALAN JUMLAH SPERMATOZOA

1. Derajat kebebasan (db)

$$b \text{ total} : (t \times r) - 1 = 15$$

$$db \text{ galat} : t (r-1) = 3$$

t = perlakuan

$$db \text{ perlakuan} : (t-1) = 12$$

r = ulangan

2. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum \sum X_i)^2}{n}$$

$$= \frac{(239)^2}{16}$$

$$= 3.570,1$$

3. Jumlah Kuadrat (JK)

$$JK \text{ total} = \sum \sum X_{ij}^2 - FK$$

$$= (12^2 + 12^2 + 10^2 \dots + 17^2) - 2. 332,89$$

$$= 132,9$$

$$JK \text{ perlakuan} = \sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(42)^2}{4} + \frac{(61)^2}{4} + \frac{(60)^2}{4} + \frac{(70)^2}{4} - 2. 332,89$$

$$= 115,15$$

$$JK \text{ galat} = JK \text{ total} - JK \text{ perlakuan}$$

$$= 132,9 - 115,15$$

$$= 17,75$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

$$KT \text{ perlakuan} = \frac{JK_{perlakuan}}{db_{galat}}$$

$$= \frac{115,15}{3} = 38,38$$

$$KT \text{ galat} = \frac{JK_{galat}}{db_{galat}}$$

$$= \frac{17,75}{12}$$

$$= 1,48$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{galat}}$$

$$= \frac{38,38}{1,48}$$

$$= 25,93$$

Tabel Ringkasan ANAVA

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fhitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	3	115,15	38,38	25,93	3,49
Galat	12	17,75	1,48		
Total	15	132,9			

F hitung (25,93) > F tabel (3,49), maka hipotesis diterima. Nilai ujinya dinyatakan ada pengaruh vitamin C dan E terhadap jumlah spermatozoa.

Lampiran 3. UJI LANJUT BNT JUMLAH SPERMATOZOA

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{(1-0,5)} \sqrt{\frac{2 \times 1,48}{4}} \\ &= 2,179 \sqrt{0,74} \\ &= 1,87 \end{aligned}$$

1. Perbandingan perlakuan A terhadap kelompok yang lain
 - A-B = 4,75 (signifikan)
 - A-C = 6 (Signifikan)
 - A-D = 7 (Signifikan)
2. Perbandingan perlakuan B terhadap kelompok yang lain
 - B-C = 1,25 (Tidak signifikan)
 - B-D = 2,25 (Signifikan)
3. Perbandingan perlakuan C terhadap kelompok yang lain
 - C-D = 1 (Tidak Signifikan)

Berbeda nyata bila selisih rata-rata perlakuan lebih besar dari hasil perhitungan BNT

Tabel Uji lanjut BNT

Selisih	A	B	C	D
Antara	10,5	15,25	16,5	17,5
A				
10,5	-			
B				
15,25	4,75	-		
C				
16,5	6	1,25	-	
D				
17,5	7	2,25	1	-

Lampiran 4. PERHITUNGAN ANAVA SATU JALAN MOTILITAS SPERMATOZOA

A. Spermatozoa motil

1. derajat kebebasan (db)

$$\text{db total} : (t \times r) - 1 = 15$$

$$\text{db galat} : t(r-1) = 3$$

t = perlakuan

$$\text{db perlakuan} : (t-1) = 12$$

r = ulangan

2. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum \sum X_i)^2}{n} \\ &= \frac{(722)^2}{16} \\ &= 32.580,25 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= \sum \sum X_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (15^2 + 13^2 + 9^2 + \dots + 68^2) - 32.508,25 \\ &= 7.543,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(47)^2}{4} + \frac{(167)^2}{4} + \frac{(241)^2}{4} + \frac{(267)^2}{4} - 32.508,25 \\ &= 7268,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK total} - \text{JK perlakuan} \\ &= 7.543,75 - 7.286,75 \\ &= 257 \end{aligned}$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT perlakuan} &= \frac{\text{JKperlakuan}}{\text{dbgalat}} \\ &= \frac{7286,75}{3} = 2.428,91 \end{aligned}$$

$$KT \text{ galat} = \frac{JK_{galat}}{db_{galat}}$$

$$= \frac{257}{12}$$

$$= 21,4$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{galat}}$$

$$= \frac{2.428,91}{21,4}$$

$$= 113,5$$

Tabel Ringkasan ANAVA

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fhitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	3	7286,75	2428,91	113,3	3,49
Galat	12	257	21,4		
Total	15	7543,75			

F hitung (113,3) > F tabel (3,49), maka hipotesis diterima. Jadi ada pengaruh vitamin C dan E terhadap motilitas spermatozoa.

B. Spermatozoa non motil

1. derajat kebebasan (db)

$$db \text{ total} : (t \times r) - 1 = 15$$

$$db \text{ galat} : t(r-1) = 3$$

t = perlakuan

$$db \text{ perlakuan} : (t-1) = 12$$

r = ulangan

2. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum \sum Xi)^2}{n}$$

$$= \frac{(878)^2}{16}$$

$$= 48.180,25$$

3. Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= \sum \sum X_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (85^2 + 87^2 + 91^2 \dots + 32^2) - 48.180,25 \\ &= 7.543,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(353)^2}{4} + \frac{(233)^2}{4} + \frac{(159)^2}{4} + \frac{(133)^2}{4} - 48.180,25 \\ &= 7268,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK total} - \text{JK perlakuan} \\ &= 7.543,75 - 7.286,75 \\ &= 257 \end{aligned}$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT perlakuan} &= \frac{JK_{perlakuan}}{dbgalat} \\ &= \frac{7286,75}{3} = 2.428,91 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT galat} &= \frac{JK_{galat}}{dbgalat} \\ &= \frac{257}{12} \\ &= 21,4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F hitung} &= \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{galat}} \\ &= \frac{2.428,91}{21,4} \\ &= 113,5 \end{aligned}$$

Tabel Ringkasan ANAVA

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fhitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	3	7286,75	2428,91	113,3	3,49
Galat	12	257	21,4		
Total	15	7543,75			

F hitung (113,3) > F tabel (3,49), maka hipotesis diterima. Jadi ada pengaruh vitamin C dan E terhadap motilitas spermatozoa.

Lampiran 5. UJI LANJUT BNT MOTILITAS SPEMATOZOA

A. Spermatozoa Motil

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{(1-0,5)} \sqrt{\frac{2 \times 21,4}{4}} \\ &= 2,179 \sqrt{10,7} \\ &= 7,12 \end{aligned}$$

1. Perbandingan perlakuan A terhadap kelompok yang lain
 - A-B = 30 (Signifikan)
 - A-C = 48,5 (Signifikan)
 - A-D = 55 (Signifikan)
3. Perbandingan perlakuan B terhadap kelompok yang lain
 - B-C = 18,5 (signifikan)
 - B-D = 25 (Signifikan)
4. Perbandingan perlakuan C terhadap kelompok yang lain
 - C-D = 6,5 (Tidak signifikan)

Berbeda nyata bila selisih rata-rata perlakuan lebih besar dari hasil perhitungan BNT

Tabel Uji Lanjut BNT

Selisih	A	B	C	D
Antara	11,75	41,75	60,25	66,75
A				
11,75	-			
B				
41,75	30	-		
C				
60,25	48,5	18,5	-	
D				
66,75	55	25	6,5	-

B. Spermatozoa non motil

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{(1-0,5)} \sqrt{\frac{2 \times 21,4}{4}} \\ &= 2,179 \sqrt{10,7} \\ &= 7,12 \end{aligned}$$

1. Perbandingan perlakuan A terhadap kelompok yang lain
 - A-B = 30 (Signifikan)
 - A-C = 48,5 (Signifikan)
 - A-D = 55 (Signifikan)
5. Perbandingan perlakuan B terhadap kelompok yang lain
 - B-C = 18,5 (signifikan)
 - B-D = 25 (Signifikan)
6. Perbandingan perlakuan C terhadap kelompok yang lain
 - C-D = 6,5 (Tidak signifikan)

Berbeda nyata bila selisih rata-rata perlakuan lebih besar dari hasil perhitungan BNT

Tabel Uji Lanjut BNT

Selisih	A	B	C	D
Antara	11,75	41,75	60,25	66,75
A				
11,75	-			
B				
41,75	30	-		
C				
60,25	48,5	18,5	-	
D				
66,75	55	25	6,5	-

Lampiran 6. PERHITUNGAN ANAVA SATU JALAN VIABILITAS SPERMATOZOA

A. Spermatozoa hidup

1. derajat kebebasan (db)

$$\text{db total} : (t \times r) - 1 = 15$$

$$\text{db galat} : t(r-1) = 3$$

t = perlakuan

$$\text{db perlakuan} : (t-1) = 12$$

r = ulangan

2. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum \sum X_i)^2}{n} \\ &= \frac{(942)^2}{16} \\ &= 55.460,25 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= \sum \sum X_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (30^2 + 28^2 + 35^2 \dots + 94^2) - 55.460,25 \\ &= 8.831,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(122)^2}{4} + \frac{(190)^2}{4} + \frac{(268)^2}{4} + \frac{(362)^2}{4} - 55.460,25 \\ &= 8.002,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK total} - \text{JK perlakuan} \\ &= 8.831,75 - 8.002,75 \\ &= 329 \end{aligned}$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT perlakuan} &= \frac{\text{JKperlakuan}}{\text{dbgalat}} \\ &= \frac{8.002,75}{3} = 2.667,58 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT galat} &= \frac{JK_{galat}}{db_{galat}} \\
 &= \frac{329}{12} \\
 &= 27,41 \\
 \text{F hitung} &= \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{galat}} \\
 &= \frac{2.667,58}{27,41} \\
 &= 97,32
 \end{aligned}$$

Tabel Ringkasan ANAVA

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fhitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	3	8.002,75	2.667,58	97,32	3,49
Galat	12	329	27,41		
Total	15	8.331,75			

F hitung (97,32) > F tabel (3,49), maka hipotesis diterima (berbeda signifikan). Jadi ada pengaruh vitamin C dan E terhadap viabilitas spermatozoa.

B. Spermatozoa mati

1. derajat kebebasan (db)

$$\text{db total : } (t \times r) - 1 = 15$$

$$\text{db galat : } t(r-1) = 3$$

t = perlakuan

$$\text{db perlakuan : } (t-1) = 12$$

r = ulangan

2. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}
 \text{FK} &= \frac{(\sum \sum X_i)^2}{n} \\
 &= \frac{(658)^2}{16} \\
 &= 27.060,25
 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= \sum \sum X_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (70^2 + 12^2 + 65^2 \dots + 6^2) - 27.060,25 \\ &= 8.831,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \sum \frac{(\sum X_i)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(278)^2}{4} + \frac{(210)^2}{4} + \frac{(132)^2}{4} + \frac{(38)^2}{4} - 27.060,25 \\ &= 8.002,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK total} - \text{JK perlakuan} \\ &= 8.831,75 - 8.002,75 \\ &= 329 \end{aligned}$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT perlakuan} &= \frac{JK_{perlakuan}}{dbgalat} \\ &= \frac{8.002,75}{3} = 2.667,58 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT galat} &= \frac{JK_{galat}}{dbgalat} \\ &= \frac{329}{12} \\ &= 27,41 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F hitung} &= \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{galat}} \\ &= \frac{2.667,58}{27,41} \\ &= 97,32 \end{aligned}$$

Tabel Ringkasan ANAVA

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fhitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	3	8.002,75	2.667,58	97,32	3,49
Galat	12	329	27,41		
Total	15	8.331,75			

F hitung (97,32) > F tabel (3,49), maka hipotesis diterima (berbeda signifikan). Jadi ada pengaruh vitamin C dan E terhadap viabilitas spermatozoa.

Lampiran.7 UJI LANJUT BNT VIABILITAS SPERMATOZOA

A. Spermatozoa hidup

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{(1-0,5)} \sqrt{\frac{2 \times 27,41}{4}} \\ &= 2,179 \sqrt{13,705} \\ &= 8,06 \end{aligned}$$

1. Perbandingan perlakuan A terhadap kelompok yang lain
 - A-B = 17 (Signifikan)
 - A-C = 36,5 (Signifikan)
 - A-D = 60 (Signifikan)
7. Perbandingan perlakuan B terhadap kelompok yang lain
 - B-C = 22,5 (signifikan)
 - B-D = 43 (Signifikan)
8. Perbandingan perlakuan C terhadap kelompok yang lain
 - C-D = 23,5 (signifikan)

Berbeda nyata bila selisih rata-rata perlakuan lebih besar dari hasil perhitungan BNT

Tabel Uji Lanjut BNT

Selisih	A	B	C	D
Antara	30,5	47,5	67	90,5
A				
30,5	–			
B				
47,5	17	–		
C				
67	36,5	22,5	–	
D				
90,5	60	43	23,5	–

B. Spermatozoa mati

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{(1-0,5)} \sqrt{\frac{2 \times 27,41}{4}} \\ &= 2,179 \sqrt{13,705} \\ &= 8,06 \end{aligned}$$

1. Perbandingan perlakuan A terhadap kelompok yang lain

- A-B = 17 (Signifikan)
- A-C = 36,5 (Signifikan)
- A-D = 60 (Signifikan)

9. Perbandingan perlakuan B terhadap kelompok yang lain

- B-C = 22,5 (signifikan)
- B-D = 43 (Signifikan)

10. Perbandingan perlakuan C terhadap kelompok yang lain

- C-D = 23,5 (signifikan)

Berbeda nyata bila selisih rata-rata perlakuan lebih besar dari hasil perhitungan BNT

Tabel Uji Lanjut BNT

Selisih	A	B	C	D
Antara	30,5	47,5	67	90,5
A				
30,5	–			
B				
47,5	17	–		
C				
67	36,5	22,5	–	
D				
90,5	60	43	23,5	–

Lampiran 8. DOKUMENTASI PENELITIAN



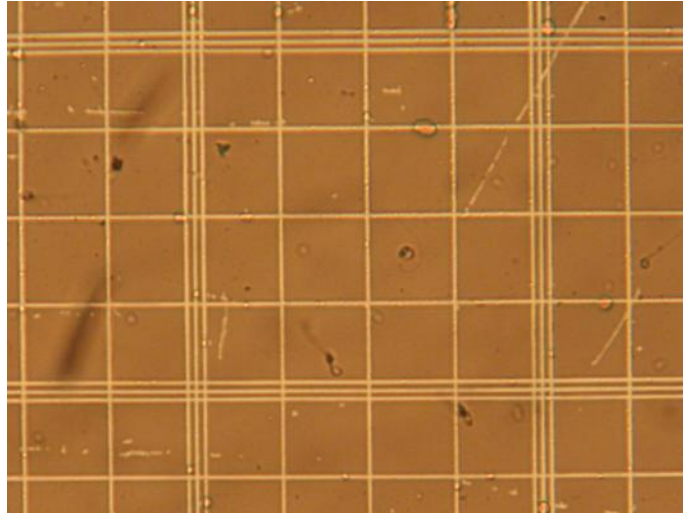
Pembedahan tikus saat mengangkat vas defferen untuk mengambil spermatozoa



Pembuatan larutan stok dalam cawan



Pengamatan spermatozoa



Gambar spermatozoa dalam bilik hitung



Tikus Saat Tidak Perlakuan



Tikus Saat dipapar *allethrin*



Tikus Saat Pemberian Vitamin