

**PENGARUH LAMA PAPARAN MERKURI PERORAL TERHADAP
VIABILITAS SPERMATOZOA**

Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Rizki Julyano

30101900168

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2023

SKRIPSI
PENGARUH LAMA PAPARAN MERKURI PERORAL TERHADAP VIABILITAS
SPERMATOZOA

Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Rizki Julyano

30101900168

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada, 15 Agustus 2023

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

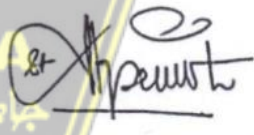
Anggota Tim Penguji


dr. Meidona N. Milla, MCE


Dr. Drs. Israhanto Isradji, M.Si

Pembimbing II


dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc


Dr. Siti Thomas Zulaikhah, SKM., M.Kes

Semarang, 22 Agustus 2023

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Rizki Julyano

NIM : 30101900168

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

“PENGARUH LAMA PAPARAN MERKURI PERORAL TERHADAP

VIABILITAS SPERMATOZOA

Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan Tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 23 Agustus 2023

Yang menyatakan,



Rizki Julyano

PRAKATA

Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirrabbi lalamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua anugerah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“PENGARUH LAMA PAPARAN MERKURI PERORAL TERHADAP VIABILITAS SPERMATOZOA Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar”**. Shalawat serta salam penulis haturkan pada junjungan Nabi Muhammad SAW yang senantiasa ikut membantu menegakkan sunnahnya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Skripsi ini merupakan bagian dari penelitian dr. Meidona Nurul Milla, MCE dengan sumber pendanaan Dana Internal Fakultas Kedokteran UNISSULA. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Meidona Nurul Milla, MCE dan dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Skripsi ini.
3. Dr. Drs. Israhanto Isradji, M.Si. dan Dr. Siti Thomas Zulaikhah, SKM., M.Kes., selaku dosen penguji I dan II yang telah berkenan memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyelesaian Skripsi ini.

4. Kepala *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), staf pengurus Laboratorium Biologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang (Bapak Mardi, Ibu Eva, Mbak Debi, Mbak Anita, dan Mas Wildan) yang telah membantu dalam penelitian ini serta dosen Laboratorium Biologi Ibu Dina Fatmawati S.Si, M.Sc yang sudah membimbing penelitian ini.
5. Ayahanda Armanto, Ibunda Yesi hartati, AM.Kep., dan Adinda Dina Eflianti serta keluarga yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan dengan penuh kasih sayang dalam proses pengerjaan Skripsi ini.
6. Semua pihak yang telah banyak membantu dan mendukung selama penelitian serta penyelesaian Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat berterimakasih atas kritik dan saran yang bersifat membangun. Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di masa depan serta bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, 22 Agustus 2023

Rizki Julyano

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Sperma	5
2.1.1. Spermatogenesis	5
2.1.2. Hormon yang berperan dalam Spermatogenesis	7
2.1.3. Kualitas spermatozoa	8
2.1.4. Analisis Viabilitas Spermatozoa	8
2.1.5. Faktor Penyebab Gangguan Viabilitas	9
2.2. Merkuri	10
2.2.1. Deskripsi Merkuri	10
2.2.2. Sifat Fisika dan Kimia Merkuri	11

2.2.3. Bentuk Merkuri.....	12
2.2.4. Pemanfaatan Merkuri	13
2.2.5. Identifikasi Merkuri Klorida.....	14
2.2.6. Toksisitas Merkuri Klorida.....	14
2.3. Pengaruh Merkuri terhadap Viabilitas Sperma	15
2.4. Kerangka Teori.....	19
2.5. Kerangka Konsep	19
2.6. Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	20
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	20
3.2.1. Variabel	20
3.2.2. Definisi Operasional.....	20
3.3. Subjek Uji	21
3.3.1. Subjek Penelitian.....	21
3.3.2. Kriteria Inklusi.....	21
3.3.3. Besar Sampel	21
3.3.4. Teknik Sampling	22
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	22
3.4.1. Instrumen Penelitian.....	22
3.4.2. Bahan Penelitian	23
3.5. Cara Penelitian	23
3.5.1. Persiapan Penelitian	23
3.5.2. Pelaksanaan Penelitian	23
3.6. Tempat dan Waktu penelitian	25
3.6.1. Tempat Penelitian	25
3.6.2. Waktu penelitian	25
3.7. Alur Penelitian.....	25
3.8. Analisis Data	26
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1. Hasil Penelitian.....	27

4.2. Pembahasan.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
5.1. Kesimpulan.....	34
5.2. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	38



DAFTAR SINGKATAN

DNA : *Deoxyribonucleic Acid*

FSH : *Follicle-Stimulating Hormone*

LH : *Luteinizing Hormone*

GPx : *Glutathione peroxidase*

Nrf2 : *Nuclear factor erythroid 2-Related Factor 2*

PESK : *Pertambangan Emas Skala Kecil*

ROS : *Reactive oxygen species*

SOD : *Superoxide dismutase*

WHO : *World Health Organization*



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Nilai Rujukan Kualitas Sperma.....	8
Tabel 2.2. Sifat Fisika dan Kimia Merkuri.....	11
Tabel 4.1. Hasil analisis data viabilitas spermatozoa	30
Tabel 4.2. Hasil Uji post hoc Tamhanes	30



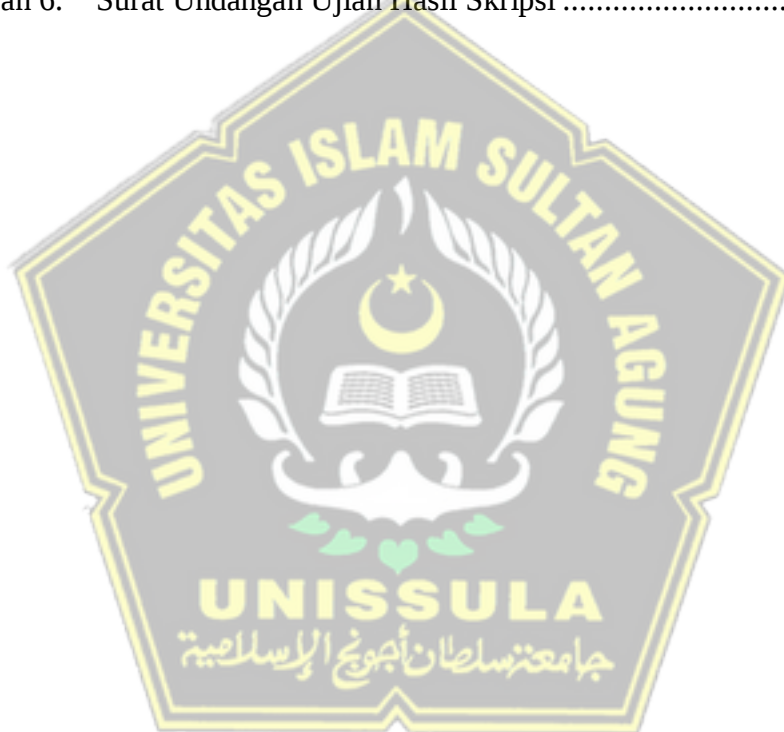
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Komponen membran sel spermatozoa (Öztürk <i>et al.</i> , 2020).....	16
Gambar 2.2.	Peroksidasi lipid dan produk akhirnya (Öztürk <i>et al.</i> , 2020).....	17
Gambar 4.1.	Gambaran viabilitas spermatozoa tikus. (A) Spermatozoa yang mati/tidak viabel, (B) Spermatozoa yang hidup/viabel	27
Gambar 4.2.	Gambaran viabilitas spermatozoa perwakilan tiap kelompok	28
Gambar 4.3.	Grafik rerata viabilitas spermatozoa tiap kelompok	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data hasil pengamatan dan hasil analisis statistik viabilitas spermatozoa	38
Lampiran 2.	<i>Ethical Clearance</i>	42
Lampiran 3.	Surat Izin Penelitian Laboratorium Biologi.....	43
Lampiran 4.	Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	44
Lampiran 5.	Dokumentasi Penelitian.....	45
Lampiran 6.	Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi	46



INTISARI

Infertilitas adalah salah satu masalah kesehatan reproduksi yang dialami sekitar 12-15% dari 40 juta pasangan usia subur di Indonesia. Gangguan kualitas spermatozoa, khususnya viabilitas adalah salah satu penyebab terjadi infertilitas. Penurunan viabilitas spermatozoa dapat terjadi karena paparan zat beracun seperti merkuri. Merkuri dapat menyebabkan stress oksidatif pada organ reproduksi laki-laki yang akan berdampak buruk pada fertilitas seorang laki-laki. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama paparan merkuri peroral terhadap viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar.

Studi eksperimental dengan desain “*post-test only control group design*” ini menggunakan subjek uji sebanyak 30 ekor tikus jantan Wistar dibagi menjadi 5 kelompok secara acak. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol sedangkan kelompok 2, 3, 4 dan 5 adalah kelompok perlakuan yang masing-masing dipapar merkuri klorida 0,4 mg/KgBB/hari secara peroral selama 7, 14, 21 dan 28 hari. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji normalitas, homogenitas, *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhanes*.

Rerata viabilitas spermatozoa kelompok 1 (54,79%), kelompok 2 (37,49%), kelompok 3 (35,32%), kelompok 4 (33,78%) dan kelompok 5 (32,45%). Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan hasil signifikan 0,000 ($p < 0,05$). Uji *Post Hoc Tamhanes* menunjukkan terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok 1 dengan kelompok 2, 3, 4 dan 5 serta antara kelompok 2 dan kelompok 5 ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa lama paparan merkuri peroral berpengaruh terhadap rerata viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar.

Kata Kunci: Lama paparan, Merkuri peroral, Viabilitas spermatozoa

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ketidaksuburan atau infertilitas adalah gangguan pada sistem reproduksi yang ditandai dengan ketidakmampuan pasangan untuk hamil setelah berhubungan seks secara teratur selama 12 bulan atau lebih (Zegers-Hochschild *et al.*, 2017). Infertilitas dapat terjadi baik dari faktor laki-laki maupun perempuan. Angka infertilitas di Indonesia adalah 12-15% dari 40 juta pasangan usia subur. Faktor penyebab terjadi infertilitas ini, 35% adalah faktor dari laki-laki karena gangguan kualitas spermatozoa (Mulyani *et al.*, 2021). Kualitas spermatozoa dapat dipengaruhi salah satunya oleh paparan zat kimia seperti merkuri. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Almeer *et al.* (2020) dan Adalakun *et al.* (2020) menunjukkan pemberian merkuri peroral selama 28 hari menyebabkan penurunan berat testis dan kualitas spermatozoa pada tikus jantan wistar. Penelitian lain dengan pemberian merkuri dengan dosis yang lebih kecil, yaitu 0,4 mg/kgBB selama 7 hari menunjukkan gambaran nekrosis pada sel-sel hepar (Othman *et al.*, 2014). Sejauh ini belum diketahui efek pemberian merkuri dengan dosis tersebut dengan lama paparan bertingkat terhadap viabilitas spermatozoa.

Salah satu parameter kualitas spermatozoa yang baik adalah viabilitas. Viabilitas spermatozoa adalah persentase spermatozoa yang hidup terhadap jumlah total spermatozoa yang keluar saat ejakulasi (Cooper *et al.*, 2009). Persentase normal viabilitas spermatozoa adalah 54% (Boitrelle *et al.*, 2021).

Spermatozoa dalam uji viabilitas dianggap hidup bila zat warna tidak mampu menembus membrannya sedangkan yang mati dapat terwarnai karena zat warna mampu menembus membrannya. Hal tersebut dikarenakan pada spermatozoa yang telah mati, permeabilitas membrannya sudah rusak sehingga zat warna dapat menembus membran (Indriyani *et al.*, 2021). Semakin tinggi viabilitas spermatozoa maka peluang keberhasilan untuk terjadi fertilisasi akan semakin tinggi. Kondisi dimana persentase spermatozoa yang tidak viabel (mati) >42% disebut *necrospermia* dan umumnya terlihat setelah paparan zat beracun (Samplaski *et al.*, 2015).

Salah satu zat kimia beracun yang ada di alam adalah merkuri. Merkuri secara alami berada di kerak bumi dan dapat dilepaskan ke lingkungan. Salah satu penyebab utamanya adalah akibat dari aktivitas manusia seperti pembangkit listrik berbahan bakar batubara, penggunaan pada alat-alat kesehatan, proses industri, dan proses penambangan. Penambang Emas Skala Kecil (PESK) menyumbang pencemaran merkuri cukup tinggi. Merkuri yang mencemari lingkungan, perairan dan bahan makanan berpotensi mengakibatkan infertilitas di daerah sekitarnya. Merkuri terdiri atas beberapa bentuk, yaitu berupa elemental/unsur, inorganik dan organik. Semua bentuk merkuri ini dapat terakumulasi dan menyebabkan kerusakan pada berbagai organ dalam tubuh (Liu *et al.*, 2012). Merkuri elemental dalam bentuk uap dapat berefek terhadap kesehatan ketika terhirup (Raffee *et al.*, 2021). Merkuri dapat menyebabkan stress oksidatif pada organ reproduksi laki-laki. Merkuri menyerang integritas kromatin spermatozoa dan

menyebabkan pemutusan DNA untai tunggal dan ganda. Hal ini akan berdampak buruk pada fertilitas seorang laki-laki (Arabi, 2006).

Penelitian yang pernah dilakukan dengan merkuri yang diinjeksikan terhadap subjek uji tikus dengan dosis rendah selama 60 hari, menyebabkan stress oksidatif yang berpengaruh kepada kualitas spermatozoa (Martinez *et al.*, 2014). Penelitian mengenai pemberian merkuri klorida peroral pada tikus wistar dengan dosis 0,4 mg/kgBB selama 7 hari menunjukkan bahwa paparan tersebut menyebabkan nekrosis hepar dan perubahan pada ginjal (Othman *et al.*, 2014). Penelitian serupa pada tahun 2017, dilakukan pada dua kelompok perlakuan, yakni kelompok dengan diberi 10 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB, keduanya dilakukan selama 14 hari dan menunjukkan kerusakan hepar (Johan *et al.*, 2017). Penelitian dengan dosis merkuri klorida 40 mg/kgBB selama 28 hari, ditemukan penurunan kualitas spermatozoa (Adelakun *et al.*, 2020). Penelitian dengan dosis 0,4 mg/kgBB merkuri klorida peroral diberikan ke tikus wistar selama 28 hari dan ditemukan penurunan kadar testosteron, FSH, LH, degenerasi testis, dan deformasi sel-sel tubulus seminiferus (Almeer *et al.*, 2020).

Berdasarkan pemaparan diatas, masih perlu dilakukan penelitian untuk menggambarkan pengaruh lama paparan merkuri peroral terhadap viabilitas spermatozoa.

1.2. Perumusan Masalah

Apakah lama paparan merkuri peroral berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh lama paparan merkuri peroral terhadap viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui rerata viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar pada kelompok kontrol

1.3.2.2. Mengetahui rerata viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar yang dipapar merkuri klorida peroral 0,4 mg/kgBB selama 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari

1.3.2.3. Mengetahui perbedaan rerata viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar yang dipapar merkuri klorida peroral pada berbagai kelompok perlakuan

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai dasar atau landasan untuk penelitian selanjutnya tentang efek pemberian merkuri peroral terhadap viabilitas spermatozoa.

1.4.2. Manfaat Praktis

Untuk memberikan informasi pada masyarakat mengenai pengaruh merkuri peroral pada kualitas spermatozoa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sperma

2.1.1. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di testis, tepatnya dalam tubulus seminiferous akibat stimulasi dari hormon gonadotropin hipofisis anterior (Hall & Hall, 2020). Ada dua jenis sel dalam tubulus seminiferus yang berperan penting dalam spermatogenesis, yaitu sel germinativum yang nantinya akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa, dan sel sertoli yang berfungsi menyokong proses spermatogenesis (Sherwood, 2019). Proses spermatogenesis mulai berlangsung sejak usia pubertas dan menurun saat sudah di usia tua (Hall & Hall, 2020).

Spermatogenesis pada manusia memerlukan waktu 74 hari sampai terbentuk spermatozoa matang, sedangkan pada tikus terjadi selama 54 hari (Perrard *et al.*, 2016). Satu sel germinativum dapat menghasilkan sampai 16 spermatozoa. Setiap hari, proses spermatogenesis dapat menghasilkan beberapa ratus juta spermatozoa matang. Pada prosesnya, terdapat tiga tahapan dalam spermatogenesis, yakni proliferasi mitotik/spermatositogenesis, meiosis, dan spermiogenesis (Sherwood, 2019).

2.1.1.1. Spermatositogenesis

Sel germinativum awal yang belum terdiferensiasi yaitu spermatogonium yang terletak di lapisan terluar tubulus seminiferous

mengalami pembelahan secara mitosis menghasilkan dua spermatogonium. Dua sel anak ini mempunyai karakteristik yang identik dengan sel induknya (diploid). Salah satu dari dua sel anak tersebut akan tetap berada di tubulus seminiferus sedangkan sel anak lain akan bermigrasi ke dalam lumen dan mengalami dua kali mitosis untuk menghasilkan empat sel anak. Keempat sel anak tersebut disebut spermatosit primer. Spermatosit primer kemudian memasuki fase istirahat untuk bersiap melakukan pembelahan secara meiosis (Sherwood, 2019).

2.1.1.2. Meiosis

Setiap spermatosit primer nantinya akan menghasilkan empat sel anak. Spermatosit primer berjumlah kromosom diploid (46 kromosom), selama meiosis I akan membelah menjadi spermatosit sekunder berkromosom haploid (23 kromosom). Meiosis II terjadi beberapa hari kemudian, spermatosit sekunder membelah menjadi spermatid berkromosom haploid. Spermatid dikemudian hari akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa (Hall & Hall, 2020; Sherwood, 2019).

2.1.1.3. Spermiogenesis

Spermatid yang telah terbentuk pada proses sebelumnya akan berdiferensiasi dan memanjang membentuk spermatozoa. Bagian spermatozoa terdiri dari kepala, bagian tengah (*midpiece*), dan ekor. Kepala disusun oleh inti sel yang berisi informasi genetik spermatozoa. Pada ujung kepala ditudungi oleh akrosom yang merupakan vesikel yang

berisi enzim yang nantinya akan digunakan untuk menembus ovum. Spermatozoa dapat bergerak menggunakan ekornya yang mirip cambuk yang disebut *flagellum* dengan ditenagai oleh mitokondria yang berada di *midpiece* (Sherwood, 2019).

Setelah spermatozoa terbentuk di tubulus seminiferous, sel sertoli menyekresikan cairan tubulus seminiferus ke dalam lumen sehingga spermatozoa terdorong menuju epididimis (Sherwood, 2019). Spermatozoa memerlukan waktu beberapa hari untuk melalui tubulus epididimis. Spermatozoa akan menjadi motil setelah 18 -24 jam dalam epididimis. Spermatozoa akhirnya disimpan sebagian besar dalam vas deferens dan yang lainnya disimpan di epididimis (Hall & Hall, 2020).

2.1.2. Hormon yang berperan dalam Spermatogenesis

Hormon yang berperan dalam spermatogenesis menurut Hall & Hall (2020) adalah sebagai berikut.

- 1) Testosteron, hormon yang berperan dalam pembelahan sel germinal.
- 2) *Luteinizing hormone* (LH), hormon yang merangsang sel Leydig untuk mengeluarkan testosteron.
- 3) *Follicle-stimulating hormone* (FSH), hormon yang merangsang sel Sertoli. Sel Sertoli menyokong dan memberi nutrisi untuk membantu perkembangan spermatozoa.
- 4) Estrogen, hormon yang dibentuk dari testosteron untuk membantu proses spermatogenesis.

- 5) *Growth hormone* (dan juga sebagian besar hormon tubuh lainnya) untuk mengendalikan fungsi metabolisme dalam testis dan mendorong pembelahan spermatogonium.

2.1.3. Kualitas spermatozoa

Kualitas spermatozoa dianalisis secara makroskopis dan mikroskopis. Kualitas spermatozoa secara makroskopis menilai volume, warna, bau, pH dan viskositas sedangkan kualitas secara mikroskopis menilai konsentrasi, morfologi, motilitas, dan viabilitas. Nilai rujukan kualitas spermatozoa berdasarkan kriteria WHO (2021) adalah sebagai berikut.

Tabel 2.1. Nilai Rujukan Kualitas Sperma

Karakteristik semen	Nilai rujukan batas bawah
Volume (ml)	1,4 (1,3-1,5)
Konsentrasi spermatozoa (10^6 per ml)	16 (15-18)
Jumlah sperm total (10^6 per ejakulasi)	39 (35-40)
Total Motilitas (PR+NP, %)	42 (40-43)
Motilitas Progresif (PR, %)	30 (29-31)
Viabilitas (spermatozoa hidup, %)	54 (50-56)
Morfologi normal (%)	4 (3,9-4,0)

2.1.4. Analisis Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa atau bisa disebut juga dengan *vitality spermatozoa* adalah persentase spermatozoa yang hidup terhadap jumlah total spermatozoa yang keluar saat mengalami ejakulasi. Viabilitas adalah salah satu parameter untuk menentukan kualitas spermatozoa yang baik. Persentase normal viabilitas spermatozoa adalah 58% dengan *confident interval* 55% – 63% (Cooper *et al.*, 2009). Viabilitas spermatozoa dinilai

dengan mengidentifikasi sel spermatozoa yang memiliki membran sel utuh (Samplaski *et al.*, 2015).

Tes yang direkomendasikan untuk menentukan viabilitas spermatozoa adalah tes eosin-nigrosin (WHO, 2021). Tes ini dilakukan dengan meletakkan setetes spermatozoa di ujung dari kaca objek kemudian ditetaskan larutan eosin nigrosin. Preparat tersebut dilakukan *spread* dan ditunggu hingga kering lalu diperiksa dengan mikroskop perbesaran 400x. Pada spermatozoa yang masih hidup, membran selnya masih utuh dan berfungsi dengan baik sehingga warna tidak dapat menembus membran selnya. Sedangkan pada sel yang telah mati, membran selnya sudah tidak berfungsi lagi atau sudah rusak sehingga zat warna dapat masuk kedalam sel hingga sel tersebut terwarnai.

2.1.5. Faktor Penyebab Gangguan Viabilitas

2.1.5.1. Kelainan anatomi

Salah satu kelainan dari anatomi testis yang banyak menyebabkan seorang laki – laki menjadi infertil adalah kriptorkidisme. Kriptorkidisme merupakan suatu kelainan kongenital berupa tidak turunnya testis dari abdomen sehingga menyebabkan terjadi penurunan jumlah dari kadar testoteron yang digunakan untuk tumbuh kembang dari spermatogonium (Hall & Hall, 2020)

2.1.5.2. Suhu testis

Suhu yang terlalu meningkat pada testis akan mengakibatkan terhambatnya dari spermatogenesis. Karena suhu yang terlalu meningkat dapat mengakibatkan perubahan pada sel – sel tubulus seminiferus. Testis dapat memproduksi spermatozoa apabila suhu testi berada dibawah 2°C dibawah suhu tubuh (Hall & Hall, 2020).

2.1.5.3. Paparan zat kimia

Paparan bahan kimia baik secara ingesti maupun inhalasi memiliki dampak yang buruk bagi tubuh. Karena bahan kimia dapat menyebabkan terjadinya peningkatan prooksidan didalam tubuh, yang akan menyebabkan stress oksidatif. Salah satu zat kimia berbahaya adalah merkuri. Merkuri akan terakumulasi otak, hati, ginjal, paru-paru, testis, dan organ-organ lain. Akumulasi pada testis akan menyebabkan proses spermatogenesis terhambat (Bernhoft, 2012).

2.2. Merkuri

2.2.1. Deskripsi Merkuri

Merkuri merupakan logam berat berwujud cair, berwarna mengkilap putih keperakan dan hadir dalam beberapa bentuk di alam. Merkuri dapat diperoleh dengan memanaskan batu sinabar, jenis bebatuan yang berunsur merkuri (II) sulfida (Haynes, 2016). Merkuri adalah bahan beracun yang bersifat bioakumulatif dan berbahaya bagi kesehatan.

Merkuri digunakan dalam berbagai industri seperti industri pertambangan, industri manufaktur, fasilitas kesehatan dan berbagai industri lainnya. Emisi merkuri terbesar terjadi di sektor Penambang Emas Skala Kecil (PESK) sehingga penambang emas memiliki risiko tinggi keracunan merkuri karena dapat terpapar terus menerus (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

2.2.2. Sifat Fisika dan Kimia Merkuri

Merkuri adalah unsur kimia dengan simbol Hg dan nomor atom 80. Ia juga dikenal sebagai air raksa dan *hydrargyrum*. Menurut Maier (2013), Sifat fisika dan kimia dari merkuri dapat dijelaskan seperti dalam tabel 2.2 dibawah ini.

Tabel 2.2. Sifat Fisika dan Kimia Merkuri

Sifat Merkuri	
Nomor atom	80
Berat atom	200,59
Titik lebur, °C	-38.89
Titik didih pada 101,3 kPa, °C	357.3
Densitas pada 0°C, g/cm ³	13.5956
Kelimpahan relatif, %	5×10^{-5}
Kapasitas panas spesifik pada 0°C, J g ⁻¹ K ⁻¹	0.1397
Panas peleburan, j/g	11.807
Panas penguapan pada 357,3°C, kJ/mol	59.453
Konduktivitas termal pada 17°C, W cm ⁻¹ K ⁻¹	0.082
Koefisien ekspansi termal pada 0–100°C, K ⁻¹	1.826×10^{-4}
Konduktivitas listrik pada 0°C, Ω^{-1} mm ⁻²	1.063×10^{-4}
Struktur kristal	Rhombohedral
Viskositas pada 0°C, mPa·s	1.685
Tegangan permukaan, N/cm	480.3×10^{-5}

2.2.3. Bentuk Merkuri

2.2.3.1. Merkuri Elemental (Hg^0)/*Metallic Mercury*

Merkuri elemental bersifat cair dan mudah menguap karena panas. Merkuri elemental dapat ditemukan di termostat, termometer, dan amalgam gigi. Uap merkuri tidak berwarna dan tidak berbau. Semakin tinggi suhu sekitar, semakin banyak uap merkuri yang dilepaskan. Merkuri memiliki tegangan permukaan tinggi dan viskositas rendah sehingga tetes-tetes merkuri berbentuk butiran di permukaan datar dan mobilitasnya tinggi. Paparan merkuri elemental seringkali terkait dengan pekerjaan, dengan 70-80% paparan terjadi melalui paru-paru dan hanya 0.1% yang diserap melalui saluran pencernaan ketika tertelan sehingga relatif kurang toksik dibandingkan jalur paparan lain (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

2.2.3.2. Merkuri Anorganik

Merkuri anorganik terbentuk saat merkuri elemental bereaksi dengan klorin, sulfur atau oksigen. Senyawa merkuri anorganik biasanya berwarna putih, berbentuk bubuk dan disebut juga garam merkuri. Merkuri anorganik tersedia dalam bentuk Hg^{2+} (*mercuric*) dan Hg^+ (*mercurous*) dan dapat ditemukan dalam produk kosmetik dan antiseptik. Merkuri anorganik jika tertelan, 7-15% total paparan akan terserap melalui saluran cerna (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2016). Bentuk HgCl_2 lebih beracun daripada merkuri HgCl karena bentuk

bivalen lebih mudah larut. Bentuk HgCl_2 yang diserap dengan cepat dan mudah, menyebabkan toksisitasnya lebih besar (Alfian, 2008).

2.2.3.3. Merkuri Organik

Merkuri organik terjadi ketika merkuri bereaksi dengan senyawa karbon. Merkuri organik sering hadir sebagai kontaminan dalam rantai makanan. 90-95% paparan merkuri organik diserap di saluran gastrointestinal. Kelarutan garam merkuri organik dalam lemak yang lebih baik daripada merkuri anorganik sehingga dapat didistribusikan secara relatif merata ke seluruh tubuh (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

2.2.4. Pemanfaatan Merkuri

Merkuri menurut Haynes (2016) dimanfaatkan dalam berbagai bidang aktivitas manusia, yaitu sebagai berikut.

1. Digunakan pada peralatan laboratorium seperti termometer, barometer, pompa difusi dan lain-lain.
2. Dalam kedokteran gigi, digunakan sebagai bahan campuran untuk membuat amalgam gigi.
3. Pada bidang pertanian, digunakan sebagai bahan untuk membunuh jamur dan pembasmi hama tanaman.
4. Pada bidang industri, digunakan untuk membuat lampu uap merkuri, bahan pembuatan baterai, bahan pembuatan cat, dan produk kosmetik serta katalis pembuatan plastik.

2.2.5. Identifikasi Merkuri Klorida

Nama	: Merkuri Klorida
Simbol	: HgCl_2
PubChem CID	: 24085
Berat atom	: 271.50
Berat jenis	: 5.4 g/cm^3
Titik didih	: 277°C

(National Center for Biotechnology Information, 2022)

2.2.6. Toksisitas Merkuri Klorida

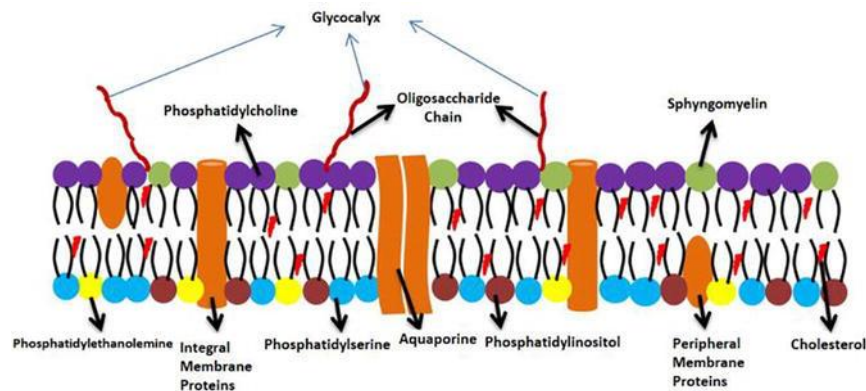
Senyawa merkuri anorganik khususnya merkuri klorida telah digunakan dalam berbagai produk industri dan farmasi. Rute paling umum dari paparan merkuri anorganik adalah ingesti. Merkuri klorida menunjukkan efek toksik pada sejumlah organ, terutama pada ginjal. Gagal ginjal akut telah diamati setelah konsumsi merkuri klorida. Masalah gastrointestinal muncul di antara pasien yang hipersensitif terhadap merkuri yang menyebabkan sakit perut, mual, muntah, dan gejala lainnya. Akumulasi di testis memungkinkan terhambatnya spermatogenesis (Bernhoft, 2012). Efek kulit dari merkuri klorida pada manusia adalah kemerahan, gatal, dan pembengkakan. Respon imunotoksik (*Kawasaki disease*) telah diamati pada anak-anak yang terpapar merkuri anorganik. Anak-anak memiliki tingkat penyerapan yang lebih tinggi daripada orang dewasa. Gejalanya meliputi demam, lesi

oral, takikardia, dan ruam kulit. Urin penderita *Kawasaki disease* menunjukkan peningkatan kadar merkuri (Maier, 2013).

2.3. Pengaruh Merkuri terhadap Viabilitas Sperma

Paparan merkuri sebagian besar terjadi melalui konsumsi makanan laut dan pada tingkat yang lebih rendah melalui amalgam gigi, termometer rusak, bola lampu neon, baterai kancing, dan krim pencerah kulit (Massányi *et al.*, 2020). Paparan merkuri menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dan stres oksidatif yang berimplikasi pada patogenesis gangguan hati dan ginjal akut sehingga menyebabkan gangguan pada proses ekskresi dan meningkatkan akumulasi merkuri di berbagai organ, termasuk testis (Othman *et al.*, 2014). Paparan merkuri mengganggu keseimbangan antara antioksidan dan prooksidan yang mengarah pada kerusakan oksidatif (Almeer *et al.*, 2020). Ion merkuri adalah salah satu *thiol-binding agents* yang diketahui dapat meningkatkan kadar *reactive oxygen species* (ROS) intraseluler dan menginduksi stress oksidatif (Akgül *et al.*, 2016).

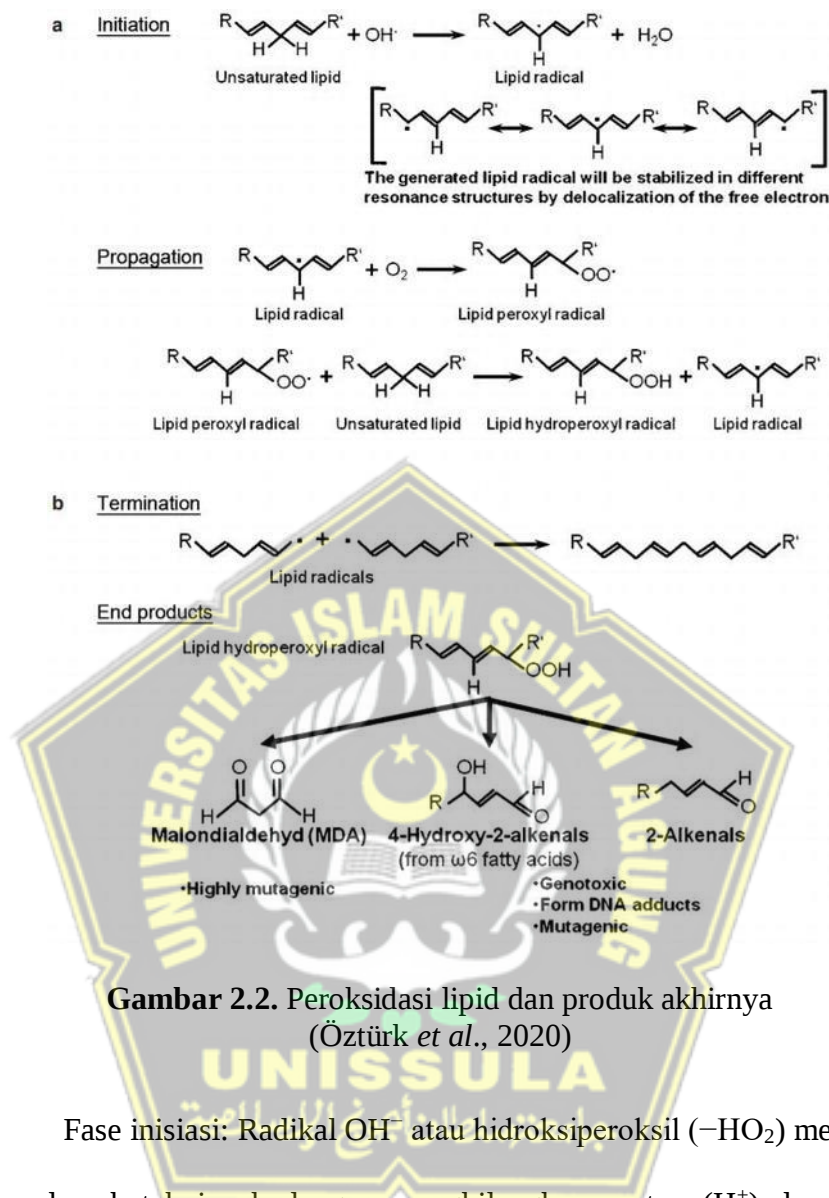
Membran sel spermatozoa tersusun atas berbagai fosfolipid dan protein. Fosfolipid menyusun Sebagian besar membran sel, terdiri dari dua lapisan (internal dan eksternal), tersusun atas gugus fosfat dan satu atau dua asam lemak yang menempel padanya (Öztürk *et al.*, 2020). Komponen struktural membran sel sperma secara skematis terlihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Komponen membran sel spermatozoa
(Öztürk *et al.*, 2020)

Radikal bebas akan merusak membran sel melalui beberapa mekanisme yaitu, 1) berikatan secara kovalen dengan enzim dan reseptor di membran sel sehingga mengubah aktivitas komponen yang ada di membran sel, 2) berikatan secara kovalen dengan komponen membran sel sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, 3) mengganggu sistem transpor membran sel melalui ikatan kovalen dan mengoksidasi gugus tiol, 4) menginisiasi peroksidasi lipid asam lemak tak jenuh (*polyunsaturated fatty acid*) pada membran sel (Hayati *et al.*, 2019).

Radikal bebas seperti ROS menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid sehingga dapat memengaruhi kualitas spermatozoa. Peroksidasi lipid terjadi terutama pada asam lemak tak jenuh yang rentan terhadap efek ROS. Peroksidasi lipid dilakukan dalam tiga fase yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi seperti pada gambar 2.2.



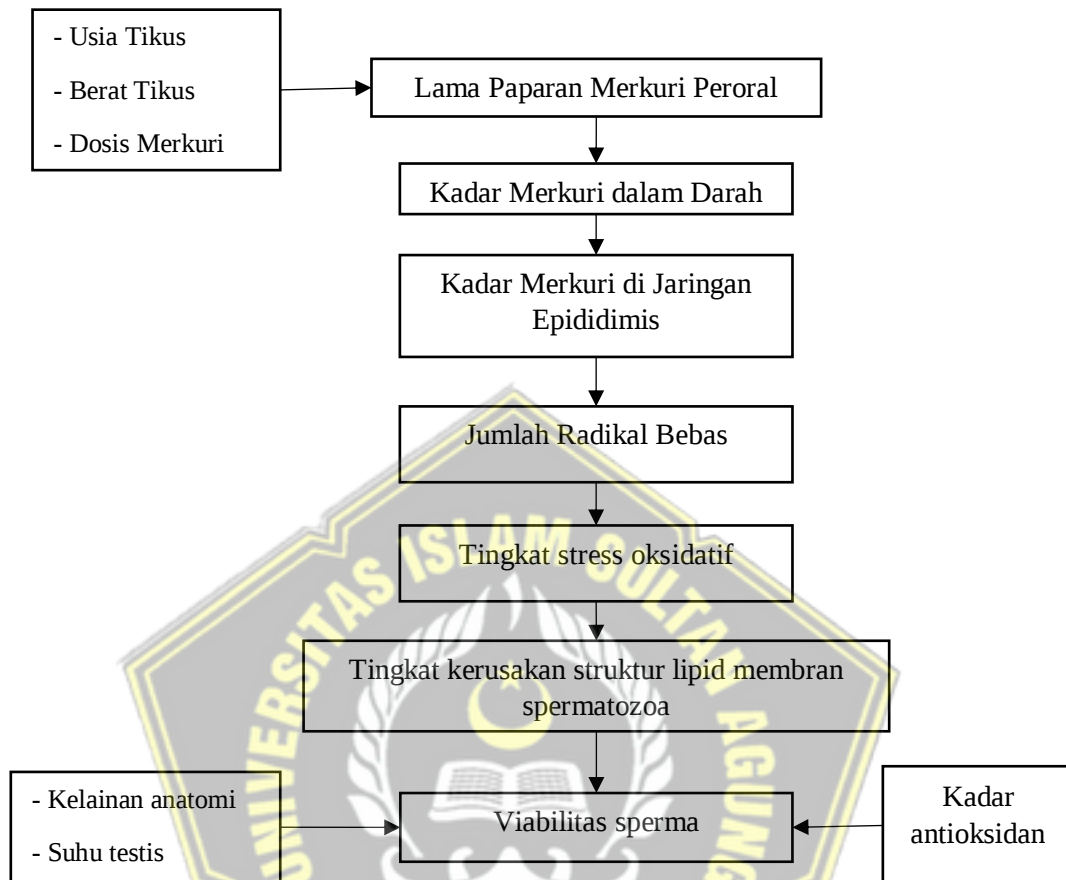
Gambar 2.2. Peroksidasi lipid dan produk akhirnya (Öztürk *et al.*, 2020)

Fase inisiasi: Radikal $\text{OH}^\cdot$ atau hidroksiperoksil ($-\text{HO}_2$) memengaruhi asam lemak tak jenuh dengan menghilangkan proton (H^+) dan mengubah strukturnya menjadi radikal lipid dan melepaskan air. Fase propagasi: lipid yang terbentuk pada fase sebelumnya bergabung dengan oksigen dan membentuk radikal peroksida lipid. Radikal peroksida lipid bereaksi dengan asam lemak lain untuk membentuk peroksidase lipid baru dan menjadi hidroperoksil lipid. Reaksi ini disebut sebagai reaksi berantai radikal dan mempengaruhi 60% lipid membran. Fase terminasi: dua atau lebih radikal

lipid berikatan satu sama lain membentuk radikal hidroperoksil seperti malandialdehida (MDA), 4-hidroksi-2-alkena, dan 2-alkenal. Ini akan mengubah komposisi asam lemak membran sel, fluiditas dan permeabilitas membran meningkat, integritas membran menurun dan terjadi kerusakan membran spermatozoa (Öztürk *et al.*, 2020).

Penelitian yang dilakukan Liu *et al.* (2018) mengaitkan antara paparan merkuri dan penonaktifan enzim antioksidan dan detoksifikasi. Paparan merkuri dilaporkan menurunkan regulasi *nuclear factor erythroid 2-related factor2* (Nrf2). Tugas Nrf2 ini mengendalikan sistem pertahanan antioksidan seluler terhadap kerusakan oksidatif melalui peningkatan ekspresi antioksidan, enzim detoksifikasi xenobiotik, dan sistem pengangkutnya (Almeer *et al.*, 2020). Peningkatan ROS bersamaan dengan penurunan pertahanan antioksidan mengakibatkan ketidakseimbangan redoks dan kerusakan DNA spermatozoa. Merkuri mampu menghasilkan ROS yang secara langsung merusak DNA sperma dengan menyerang basa purin dan pirimidin. ROS dapat menginisiasi terjadinya apoptosis pada spermatozoa, menyebabkan aktivasi enzim *caspase* untuk mendegradasi DNA sperma yang dapat menurunkan viabilitas spermatozoa (Hayati *et al.*, 2019).

2.4. Kerangka Teori



2.5. Kerangka Konsep



2.6. Hipotesis

Lama paparan merkuri peroral berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *post-test only control group design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Lama Paparan merkuri peroral

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Viabilitas spermatozoa tikus jantan Wistar

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Lama paparan merkuri peroral

Lama paparan merkuri peroral adalah lama waktu pemberian merkuri klorida dosis 0,4 mg/kgBB dilarutkan pada cairan salin normal (NaCl 0.9%) diberikan kepada subjek uji kelompok perlakuan menggunakan sonde, yaitu selama 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari.

Skala data: Ordinal

3.2.2.2. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa disebut juga *vitality* spermatozoa adalah persentase spermatozoa yang hidup terhadap jumlah total spermatozoa. Viabilitas spermatozoa diperiksa menggunakan metode pengecatan eosin nigrosin dengan pengamatan dibawah mikroskop lensa okuler 10x dan

lensa objektif 40x. Spermatozoa dengan kepala terwarnai merah atau merah gelap dianggap mati, sedangkan spermatozoa dengan kepala tidak terwarnai dianggap hidup karena membran selnya masih intact, sehingga cat tidak mudah menembus membran sel. Nilai viabilitas spermatozoa dinyatakan dalam persen (%) dihitung dengan cara menghitung jumlah spermatozoa yang hidup dibandingkan dengan total spermatozoa. Skala data: Rasio

3.3. Subjek Uji

3.3.1. Subjek Penelitian

Subjek uji yang digunakan adalah tikus jantan Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan berasal dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.3.2. Kriteria Inklusi

1. Berat Badan 150-200 gram
2. Umur 2-3 bulan
3. Sehat secara fisik luar
4. Tidak ada kelainan anatomi dan luka pada organ reproduksinya

Tikus yang sakit atau mati selama penelitian berlangsung dihitung sebagai subjek uji *drop out*.

3.3.3. Besar Sampel

Kelompok perlakuan yang dipapar merkuri peroral berjumlah empat (perlakuan selama 7, 14, 21, dan 28 hari) dan satu kelompok kontrol (28 hari tanpa perlakuan). Jumlah sampel setiap kelompok dihitung

menggunakan rumus Federer, $(n - 1) (t - 1) \geq 15$ dengan n adalah jumlah subjek uji per kelompok dan t adalah jumlah kelompok (Rinaldi & Mujiyanto, 2017).

$$(n - 1) (5 - 1) \geq 15 \rightarrow (n - 1) (4) \geq 15 \rightarrow n - 1 \geq 3,75 \rightarrow n \geq 4.75$$

Berdasarkan perhitungan diatas, jumlah subjek uji minimal yang diperlukan masing-masing kelompok adalah sebanyak 5 ekor. Peneliti menambahkan 1 ekor tikus tiap kelompok untuk mengantisipasi subjek uji *drop out* sehingga jumlah total subjek uji adalah 30 ekor tikus.

3.3.4. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah *simple random sampling* yaitu dengan memilih secara acak subjek uji yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam kelompok kontrol atau kelompok perlakuan.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

1. Kandang tikus
2. Mikroskop cahaya
3. Kaca objek
4. Cawan
5. Gunting kecil
6. Pinset sirugis
7. Pipet
8. Tempat larutan eosin nigrosin

3.4.2. Bahan Penelitian

1. 30 ekor tikus jantan Wistar
2. Merkuri klorida (HgCl_2)
3. NaCl 0,9%
4. Larutan Eosin Nigrosin
5. Makanan dan minuman tikus

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Persiapan Penelitian

Subjek uji tikus jantan galur Wistar disiapkan sebanyak 30 ekor, kandang, makanan dan minumannya serta alat dan bahan untuk menilai viabilitas spermatozoa.

3.5.2. Pelaksanaan Penelitian

3.5.2.1. Aklimatisasi

Aklimatisasi tikus selama 7 hari supaya dapat menyesuaikan diri dengan kandang barunya.

3.5.2.2. Pembagian Kelompok

Tikus yang sudah termasuk kriteria inklusi kemudian dirandomisasi atau diacak menjadi 5 kelompok, 1 kelompok kontrol yang berisi 6 tikus dan 4 kelompok perlakuan yang juga berisi 6 tikus.

1. Kelompok kontrol: satu kelompok yang berisi 6 ekor tikus jantan Wistar dengan diberi pakan dan minum tanpa diberi perlakuan.
2. Kelompok perlakuan: empat kelompok yang berisi masing-masing 6 ekor tikus jantan Wistar yang diberikan pakan minum dan dipapar

merkuri peroral 0,4 mg/kgBB selama 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari.

3.5.2.3. Pengambilan Spermatozoa

Pengambilan sampel spermatozoa dilakukan satu hari setelah perlakuan lama paparan, yaitu pada hari ke-8 untuk kelompok 2, hari ke-15 untuk kelompok 3, hari ke-22 untuk kelompok 4, dan hari ke-29 untuk kelompok 1 dan kelompok 5. Tikus dikorbankan dengan metode *dislocasio cervicalis*. Pengambilan spermatozoa dilakukan dari kauda epididimis dan vas deferens dengan diurut menggunakan pinset sirugis lalu diletakkan di cawan petri yang sudah diberi larutan NaCl dengan dosis 250 mikroliter menggunakan mikropipet. Preparat dihomogenkan menggunakan mikropipet dengan berulang kali meghisap cairannya dan dikeluarkan kembali sampai terlihat homogen.

3.5.2.4. Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa

1. Ambil cairan spermatozoa dengan menggunakan mikropipet.
2. Letakkan 1 tetes cairan tersebut pada ujung kaca objek.
3. Tetesi dengan setetes larutan eosin nigrosin.
4. Buat apusan (*spread*) dengan menggunakan kaca objek.
5. Tunggu preparat hingga kering.
6. Amati menggunakan mikroskop dengan lensa okuler 10x dan lensa obyektif 40x.

3.6. Tempat dan Waktu penelitian

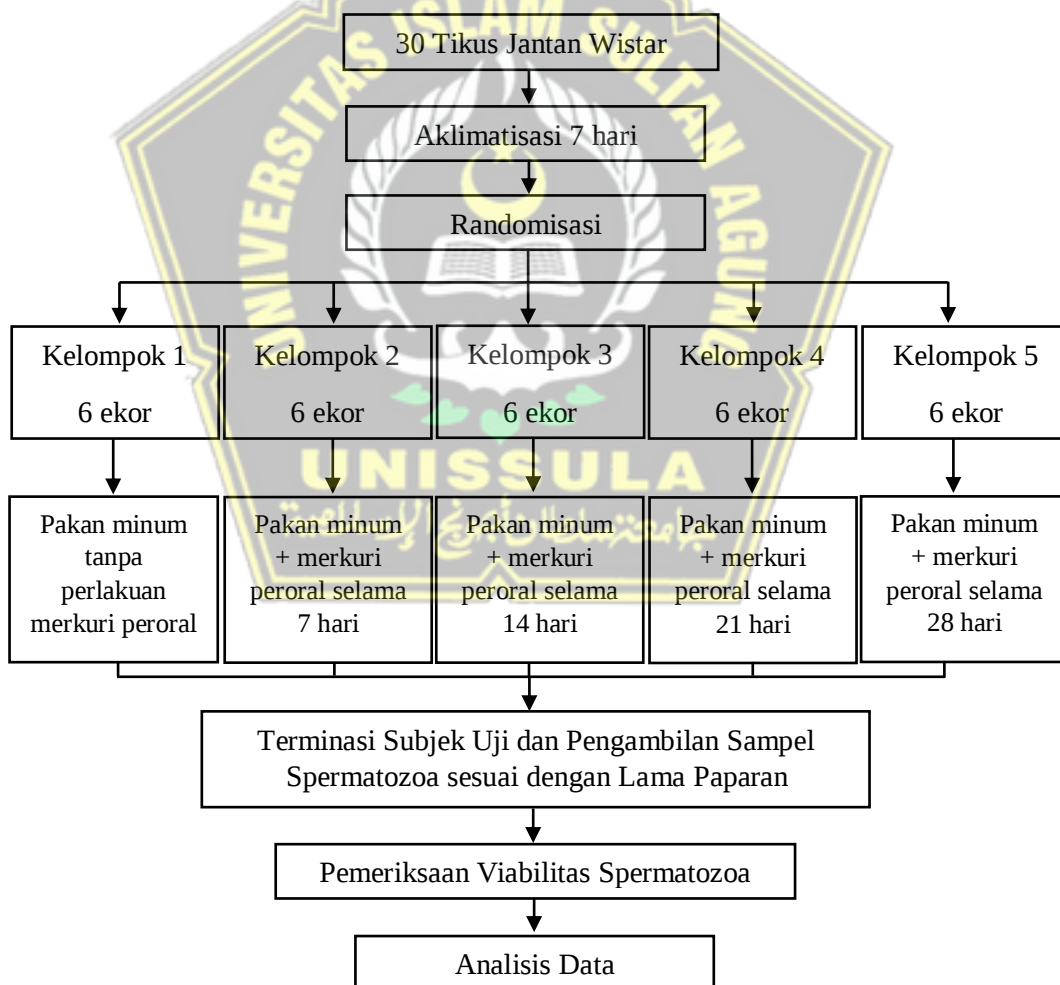
3.6.1. Tempat Penelitian

Perlakuan terhadap subjek uji dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang.

3.6.2. Waktu penelitian

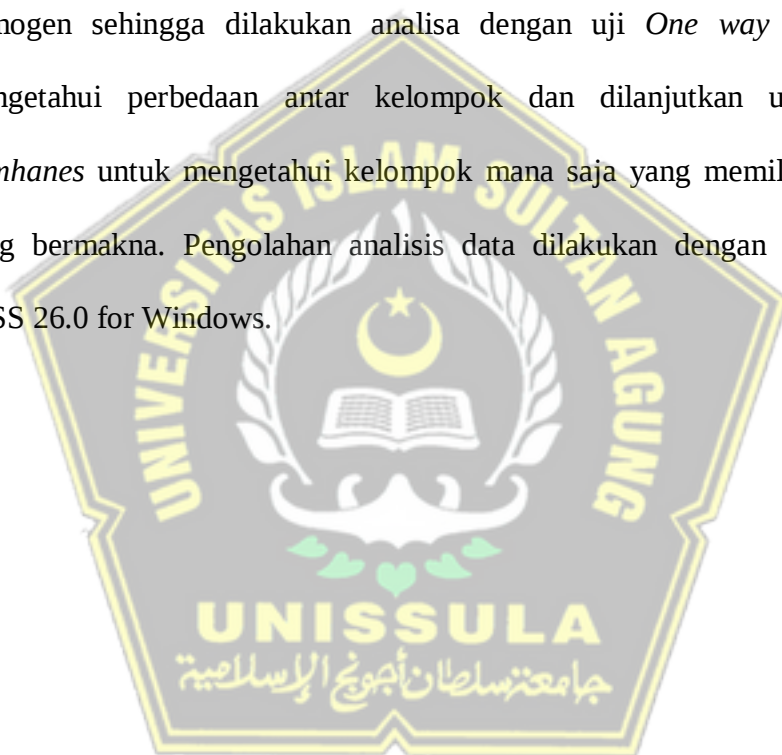
Penelitian dilakukan selama 28 hari pada bulan September sampai Oktober 2022

3.7. Alur Penelitian



3.8. Analisis Data

Analisis deskriptif disajikan dengan cara menghitung rerata viabilitas masing-masing kelompok. Sampel berjumlah kurang dari 50 sehingga untuk mengetahui normalitas distribusi data dilakukan uji *Shapiro-wilk* dan untuk mengetahui homogenitas varian data dilakukan uji *Levene statistic*. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan distribusi data normal dan tidak homogen sehingga dilakukan analisa dengan uji *One way Anova* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dan dilanjutkan uji *Post Hoc Tamhanes* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS 26.0 for Windows.

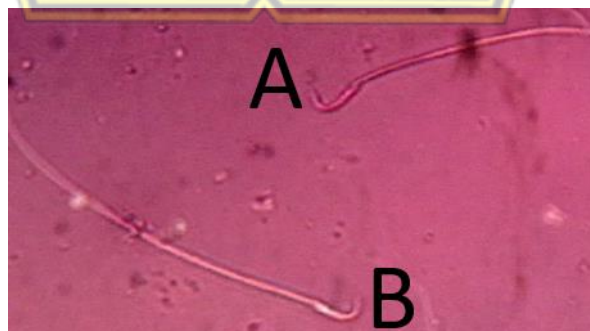


BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

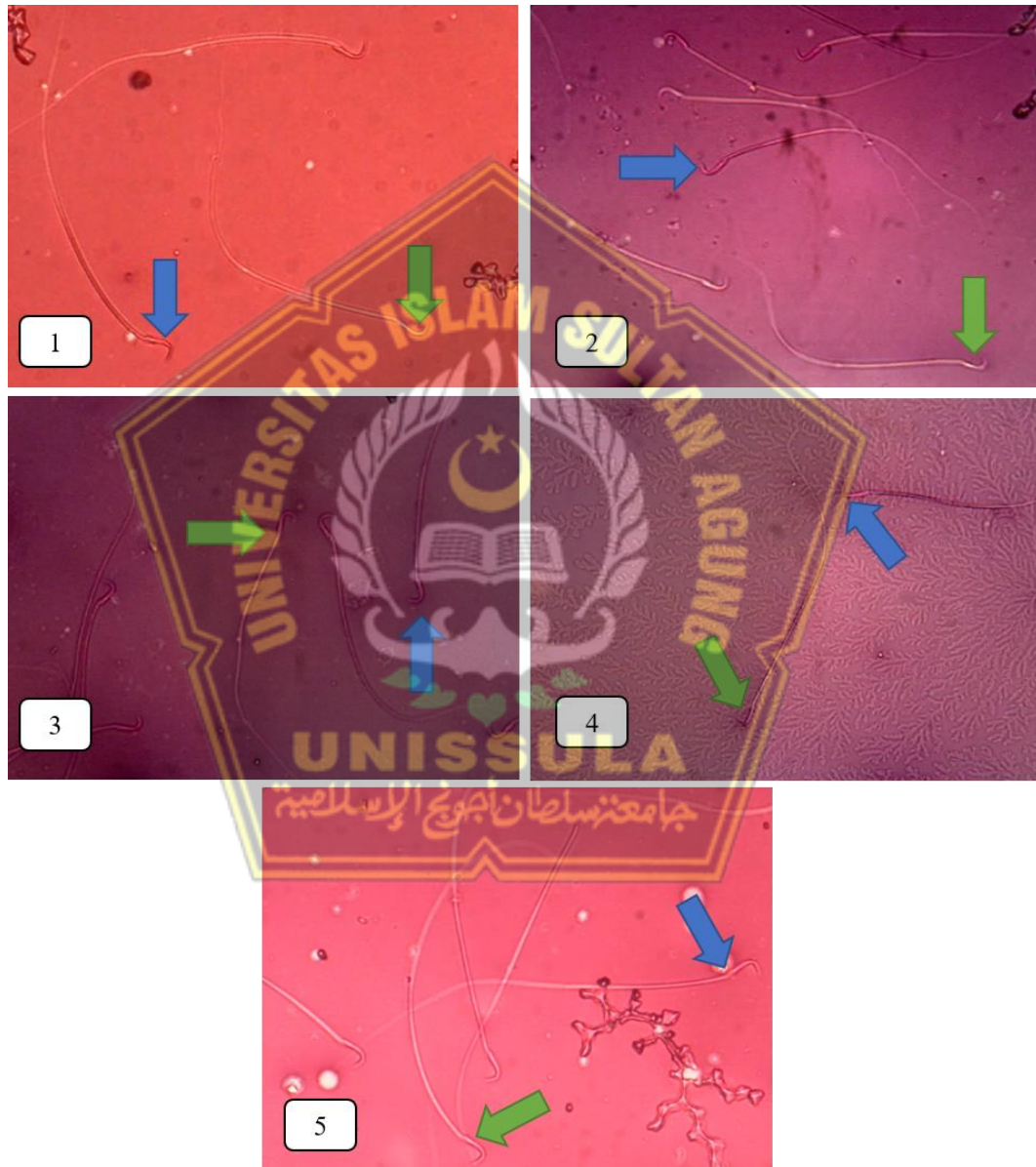
4.1. Hasil Penelitian

Penelitian pengaruh lama paparan merkuri peroral terhadap viabilitas spermatozoa ini telah dilakukan pada 30 ekor tikus jantan wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol yang tidak dipapar merkuri dan 4 kelompok perlakuan yang dipapar merkuri secara peroral selama 7, 14, 21 dan 28 hari. Terminasi sampel disetiap kelompok dilakukan satu hari setelah lama paparan berakhir sedangkan kelompok kontrol diterminasi bersama dengan kelompok perlakuan yang dipapar selama 28 hari, yakni satu hari setelah lama paparan selesai. Viabilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400x. Spermatozoa dengan kepala terwarnai merah atau merah muda gelap dianggap mati, sedangkan spermatozoa dengan kepalanya tidak terwarnai dianggap hidup karena membran selnya masih intak sehingga zat warna tidak mudah menembus membran sel, seperti terlihat pada gambar 4.1 dibawah.



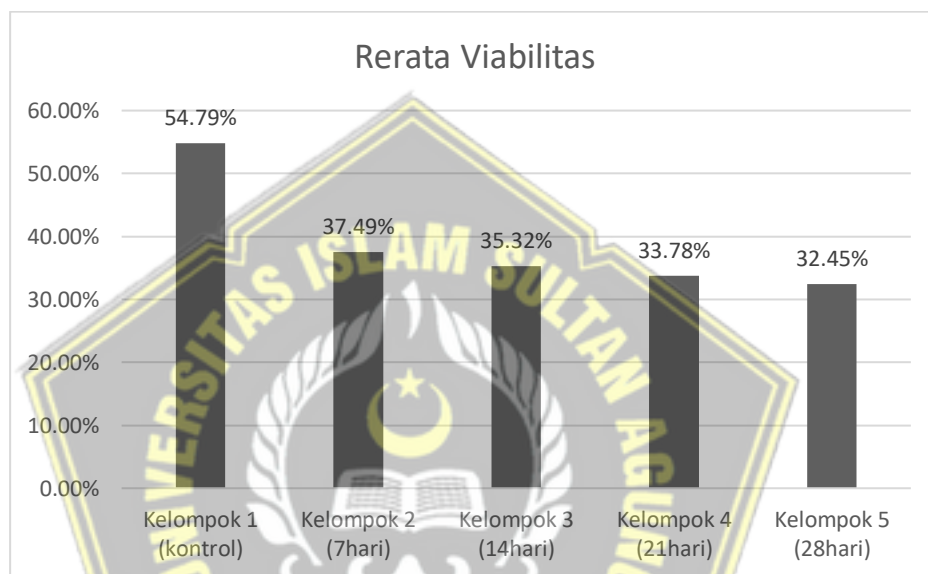
Gambar 4.1. Gambaran viabilitas spermatozoa tikus. (A) Spermatozoa yang mati/tidak viabel, (B) Spermatozoa yang hidup/viabel

Gambar 4.2 dibawah menunjukkan gambaran viabilitas perwakilan dari kelompok 1, 2, 3, 4 dan 5 dengan panah berwarna biru menunjukkan spermatozoa yang non viabel sedangkan panah hijau menunjukkan spermatozoa viabel.



Gambar 4.2. Gambaran viabilitas spermatozoa perwakilan tiap kelompok

Gambar 4.3 dibawah menampilkan grafik rerata viabilitas spermatozoa tiap kelompok. Grafik tersebut menunjukkan rerata viabilitas kelompok 1 (kelompok kontrol) memiliki rerata viabilitas tertinggi yaitu 54,79%. Rerata viabilitas paling rendah adalah pada kelompok 5 yang dipapar merkuri peroral selama 28 hari yaitu 32,45%.



Gambar 4.3. Grafik rerata viabilitas spermatozoa tiap kelompok

Analisis hasil dilakukan dengan mengidentifikasi distribusi data dan homogenitas varian data terlebih dahulu. Hasil uji normalitas distribusi data dengan *Shapiro Wilk test* menunjukkan bahwa distribusi data kelima kelompok menyebar secara normal dengan $p > 0,05$. Hasil uji homogenitas dengan *Levene test* didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa varian data tidak homogen. Analisis data dilakukan dengan uji parametrik *One Way Anova* dan uji *Post Hoc Tamhanes*. Hasil analisis data dapat dilihat pada tabel 4.1 dan 4.2 dibawah.

Tabel 4.1. Hasil analisis data viabilitas spermatozoa

Kelompok	Rerata viabilitas (%)	<i>p-value</i>		
		<i>Shapiro Wilk</i>	<i>Levene</i>	<i>One way anova</i>
1	54,79	0,280		
2	37,49	0,238		
3	35,32	0,184	0,000	0,000
4	32,78	0,093		
5	32,45	0,194		

Tabel 4.2. Hasil Uji *post hoc* Tamhanes

Kelompok (I)	Kelompok (II)	p	Keterangan
Kelompok 1	Kelompok 2	0,000	Bermakna
	Kelompok 3	0,000	Bermakna
	Kelompok 4	0,000	Bermakna
	Kelompok 5	0,000	Bermakna
	Kelompok 3	0,744	Tidak bermakna
Kelompok 2	Kelompok 4	0,747	Tidak bermakna
	Kelompok 5	0,040	Bermakna
	Kelompok 4	0,998	Tidak bermakna
Kelompok 3	Kelompok 5	0,082	Tidak bermakna
	Kelompok 5	0,999	Tidak bermakna

Keterangan: Kelompok 1 = kelompok kontrol
 Kelompok 2 = lama paparan 7 hari
 Kelompok 3 = lama paparan 14 hari
 Kelompok 4 = lama paparan 21 hari
 Kelompok 5 = lama paparan 28 hari

Hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang mempunyai rerata viabilitas yang berbeda secara bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *post hoc*. Uji *post hoc* *Tamhanes* menunjukkan perbedaan rerata viabilitas yang bermakna ($p<0,05$) antara kelompok 1 (kelompok kontrol) dengan semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan pengaruh signifikan lama paparan merkuri peroral terhadap viabilitas spermatozoa sudah mulai tampak pada hari ke-7 perlakuan.

Rerata viabilitas kelompok 2 yang dipapar merkuri 7 hari jika dibandingkan dengan rerata kelompok 3 yang dipapar merkuri 14 hari dan kelompok 4 yang dipapar merkuri selama 21 hari tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Perbedaan bermakna ada pada perbandingan antara rerata kelompok 2 dengan kelompok 5 yang dipapar merkuri selama 28 hari. Hal ini menunjukkan derajat keparahan penurunan viabilitas spermatozoa akibat paparan merkuri pada hari ke-14 dan ke-21 masih belum signifikan perbedaannya dari hari ke-7, namun pada hari ke-28 derajat keparahannya semakin meningkat dan menyebabkan penurunan viabilitas secara signifikan.

4.2. Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan lama paparan merkuri peroral berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan paparan merkuri dapat menurunkan viabilitas spermatozoa karena kemampuannya yang dapat menghasilkan ROS (Martinez *et al.*, 2014). Paparan merkuri menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dan peroksidasi lipid yang mengakibatkan hilangnya integritas membran dan menjadi penyebab sperma tidak viabel (Adelakun *et al.*, 2020).

Rerata viabilitas kelompok 2, 3, 4 dan 5 yang masing-masing dipapar merkuri peroral selama 7, 14, 21 dan 28 hari mengalami penurunan setelah dipapar merkuri peroral dengan kecenderungan, semakin lama paparan maka rerata viabilitas semakin menurun. Perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok 1 (kontrol) dengan kelompok 2 yang dipapar merkuri peroral

selama 7 hari menunjukkan bahwa kadar merkuri yang terakumulasi selama perlakuan telah adekuat untuk menurunkan viabilitas spermatozoa. Spermatozoa sangat rentan terhadap efek buruk ROS karena banyaknya asam lemak tak jenuh yang ditemukan di membran selnya. Asam lemak ini menyediakan fluiditas membran. ROS yang terbentuk akan mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid. ROS akan menghilangkan proton (H^+) pada struktur asam lemak membran dan mengubahnya menjadi radikal lipid. Radikal lipid tersebut bergabung dengan oksigen dan membentuk radikal peroksida lipid kemudian bereaksi dengan asam lemak lain untuk membentuk peroksidase lipid baru. Reaksi ini disebut sebagai reaksi berantai radikal. Produk akhir yang akan terbentuk adalah radikal hidroperoksil seperti MDA, 4-hidroksi-2-alkena dan 2-alkenal. Radikal hidroperoksil akan mengubah komposisi asam lemak membran sel sehingga fluiditas dan permeabilitas membran meningkat. Ini akan mengganggu integritas membran sehingga terjadi kerusakan membran spermatozoa (Öztürk *et al.*, 2020).

Perbandingan rerata antara kelompok 2 dengan kelompok 3 dan 4 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan meskipun terjadi penurunan pada rerata viabilitasnya. Hal ini dimungkinkan karena enzim-enzim antioksidan yang mungkin masih bekerja melindungi spermatozoa. Penelitian Adelakun *et al.* (2020) menyebutkan paparan merkuri menurunkan kadar antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPx). Itu berarti selama perlakuan berlangsung antioksidan tetap bekerja meskipun kadar antioksidan tersebut menurun akibat paparan merkuri

sehingga sistem pertahanan spermatozoa terhadap serangan radikal bebas tidak optimal dan berakibat pada rerata viabilitas sperma.

Perbedaan yang signifikan ada pada perbandingan antara rerata kelompok 2 dengan kelompok 5 yang dipapar merkuri selama 28 hari. Hal ini menunjukkan kadar merkuri yang terus menerus terakumulasi menyebabkan peningkatan kadar ROS yang semakin tinggi disertai kadar antioksidan yang terus menurun sehingga terjadi penurunan rerata viabilitas yang signifikan.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah ketidaksediaan data terkait kadar antioksidan sebelum dan setelah perlakuan yang mungkin berpengaruh pada viabilitas spermatozoa, sehingga mekanisme pertahanan antioksidan spermatozoa akibat lama paparan merkuri masih belum diketahui.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Lama paparan merkuri peroral berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa tikus jantan wistar.
- 5.1.2. Rerata viabilitas spermatozoa pada tikus jantan wistar pada kelompok kontrol adalah 54,8%.
- 5.1.3. Rerata viabilitas spermatozoa pada tikus jantan wistar pada kelompok yang dipapar merkuri peroral selama 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari berturut-turut adalah 37,5%; 35,3%; 33,8%; dan 32,5%.
- 5.1.4. Terdapat perbedaan rerata viabilitas spermatozoa yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang dipapar merkuri peroral selama 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari serta terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok yang dipapar selama 7 hari dan 28 hari.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh lama paparan merkuri terhadap kadar antioksidan spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelakun, S. A., Ukwenya, V. O., Akingbade, G. T., Omotoso, O. D., & Aniah, J. A. (2020). Interventions of aqueous extract of *Solanum melongena* fruits (garden eggs) on mercury chloride induced testicular toxicity in adult male Wistar rats. *Biomedical Journal*, 43(2), 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2019.07.004>
- Akgül, N., Altunkaynak, B. Z., Altunkaynak, M. E., Deniz, Ö. G., Ünal, D., & Akgül, H. M. (2016). Inhalation of mercury vapor can cause the toxic effects on rat kidney. *Renal Failure*, 38(3), 465–473. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2016.1138832>
- Alfian, Z. (2008). Merkuri: Antara Manfaat Dan Efek Penggunaannya Bagi Kesehatan. *Universitas Stuttgart*, 29.
- Almeer, R. S., Albasher, G., Kassab, R. B., Ibrahim, S. R., Alotibi, F., Alarifi, S., Ali, D., Alkahtani, S., & Abdel Moneim, A. E. (2020). *Ziziphus spina-christi* leaf extract attenuates mercury chloride-induced testicular dysfunction in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(3), 3401–3412. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07237-w>
- Arabi, M. (2006). The role of mercury in the etiology of sperm dysfunction in Holstein bulls. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(3), 335–340. <https://doi.org/10.5713/ajas.2006.335>
- Bernhoft, R. A. (2012). Mercury toxicity and treatment: A review of the literature. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/460508>
- Boitrelle, F., Shah, R., Saleh, R., Henkel, R., Kandil, H., Chung, E., Vogiatzi, P., Zini, A., Arafa, M., & Agarwal, A. (2021). The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. *Life*, 11(12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/life11121368>
- Cooper, T. G., Noonan, E., von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H. W. G., Behre, H. M., Haugen, T. B., Kruger, T., Wang, C., Mbizvo, M. T., & Vogelsong, K. M. (2009). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human Reproduction Update*, 16(3), 231–245. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp048>
- Hall, J.E., & Hall, M.E. (2020). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book*. <https://books.google.co.id/books?id=H1rrDwAAQBAJ>
- Hayati, A., Wulansari, E., Armando, D. S., Sofiyanti, A., Amin, M. H. F. adil, & Pramudya, M. (2019). Effects of in vitro exposure of mercury on sperm quality and fertility of tropical fish *Cyprinus carpio* L. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 45(2), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.06.005>

- Haynes, W. (2016). CRC Handbook of Chemistry and Physics, 97th Edition. In *Journal of Experimental Psychology: General* (Vol. 136, Issue 1). CRC Press LLC;Taylor & Francis Group [distributor].
- Indriyani, I., Busman, H., & Sutyarso, S. (2021). Penurunan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki (*Cyperus rotundus L.*). *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1), 85–95. <https://doi.org/10.21580/ah.v4i1.6455>
- Johan, J., Hadi, H., & Amarwati, S. (2017). Pengaruh Pemberian Merkuri Per Oral Terhadap Gambaran Histopatologi Liver Tikus Wistar. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*, 6(2), 673–681.
- Liu, P., He, K., Li, Y., Wu, Q., Yang, P., & Wang, D. (2012). Exposure to mercury causes formation of male-specific structural deficits by inducing oxidative damage in nematodes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79, 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.12.007>
- Maier, J. A. (2013). Encyclopedia of Metalloproteins. In *Encyclopedia of Metalloproteins*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1533-6>
- Martinez, C. S., Torres, J. G. D., Peçanha, F. M., Anselmo-Franci, J. A., Vassallo, D. V., Salaices, M., Alonso, M. J., & Wiggers, G. A. (2014). 60-Day chronic exposure to low concentrations of hgcl2 impairs sperm quality: Hormonal imbalance and oxidative stress as potential routes for reproductive dysfunction in rats. *PLoS ONE*, 9(11), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111202>
- Massányi, P., Massányi, M., Madeddu, R., Stawarz, R., & Lukáč, N. (2020). Effects of Cadmium, Lead, and Mercury on the Structure and Function of Reproductive Organs. *Toxics*, 8(4), 1–31. <https://doi.org/10.3390/TOXICS8040094>
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2016). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 2016 Tentang Rencana Aksi Nasional Pengendalian Dampak Kesehatan Akibat Paparan Merkuri Tahun 2016-2020. *Menteri Kesehatan Republik Indonesia*, 1–10.
- Mulyani, U., Sukarni, D., & Sari, E. P. (2021). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Infertilitas Primer pada Pasangan Usia Subur di Wilayah Kerja UPTD Puskesmas Lembak Kab. Muara Enim Tahun 2021. *NUSANTARA : Jurnal Ilmu Pengetahuan Sosial*, 8(8), 2698–2710. <https://doi.org/10.31604/JIPS.V8I8.2021.2698-2710>
- National Center for Biotechnology Information. (2022). *PubChem Compound Summary for CID 24085, Mercuric chloride*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mercuric-chloride>.
- Othman, M. S., Safwat, G., Aboulkhair, M., & Abdel Moneim, A. E. (2014). The potential effect of berberine in mercury-induced hepatorenal toxicity in albino rats. *Food and Chemical Toxicology*, 69, 175–181.

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.04.012>

- Öztürk, A. E., Numan Bucak, M., Bodu, M., Başpınar, N., Çelik, İ., Shu, Z., Keskin, N., & Gao, D. (2020). Cryobiology and Cryopreservation of Sperm. *Cryopreservation - Current Advances and Evaluations*, 1–42. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89789>
- Perrard, M. H., Sereni, N., Schluth-Bolard, C., Blondet, A., Giscard d'Estaing, S., Plotton, I., Morel-Journel, N., Lejeune, H., David, L., & Durand, P. (2016). Complete human and rat ex vivo spermatogenesis from fresh or frozen testicular tissue. *Biology of Reproduction*, 95(4), 1–10. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.142802>
- Raffee, L. A., Alawneh, K. Z., Alassaf, R. A., Alzoubi, A., Alshehabat, M. A., Alabdallah, N., & Al-Mistarehi, A. H. (2021). Effects of Elemental Mercury Vapor Inhalation on Arterial Blood Gases, Lung Histology, and Interleukin-1 Expression in Pulmonary Tissues of Rats. *Scientific World Journal*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/4141383>
- Rinaldi, S. F., & Mujiyanto, B. (2017). Metodologi Penelitian dan Statistik. In *News.Ge*. <https://doi.org/10.16309/j.cnki.issn.1007-1776.2003.03.004>
- Samplaski, M. K., Dimitromanolakis, A., Lo, K. C., Grober, E. D., Mullen, B., Garbens, A., & Jarvi, K. A. (2015). The relationship between sperm viability and DNA fragmentation rates. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0035-y>
- Sherwood, L. (2019). From Cells to Systems. 7th ed. In *Nelson Education Ltd*.
- WHO. (2021). World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. Geneva, Switzerland. *WHO Press*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Dyer, S., Racowsky, C., de Mouzon, J., Sokol, R., Rienzi, L., Sunde, A., Schmidt, L., Cooke, I. D., Simpson, J. L., & van der Poel, S. (2017). The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertility and Sterility*, 108(3), 393–406. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005>