

KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L) SETELAH PERLAKUAN DENGAN BORAKS

Kaspul

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Lambung Mangkurat
Jl. Brigjen H. Hasan Basry, Banjarmasin, Kalimantan Selatan

ABSTRACT

The objective of this research is to assess the effects of sodium borate on concentration, motility, velocity of movement, and normal morphology of spermatozoa in rats. Fifty male rats at four months age were fed in five treatment groups per day, i. e : (1) without treatment, (2) placebo of sodium borate ; 1 ml CMC 1%, (3) 200 mg sodium borate per kg body weight, (4) 400 mg sodium borate per kg body weight, and (5) 600 mg sodium borate per kg body weight. The concentration, motility velocity of movement and normal morphology of spermatozoa were research with modification of First method (1991) ; Suhadi and Arsyad method (1983). The result of this research showed that sodium borate decreased concentration, motility, velocity of movement and normal morphology of spermatozoa in rats.

Keywords: spermatozoa, sodium borate, rat

PENDAHULUAN

Berdasarkan penelitian Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia, boraks (natrium borat) masih terdapat dalam beberapa makanan tradisional seperti empek-empek, pisang molen, pangsit, mie ayam, batagor, dan dijumpai di beberapa kota besar seperti Jakarta, Surabaya, dan Yogyakarta (Novrianto, 1994). Boraks sering digunakan karena zat kimia ini dapat menjadikan makanan lebih kenyal, empuk dan jika dikunyah terasa renyah dan lembut.

Uji teratologik pada tikus membuktikan bahwa boraks dapat menyebabkan

cacat fetus (Pangestiningih, 1994). Boraks juga dapat menyebabkan atrasia folikel ovarium dan pada dosis tinggi menyebabkan gagal hamil (Dieter, 1994) karena embrio yang sampai ke uterus belum siap melakukan implantasi, sebagai akibat terhambatnya proses segmentasi dan perkembangan awal embrio (Munir dkk, 1997). Pada hewan jantan, boraks juga menyebabkan lesi pada testis ditandai dengan penghambatan spermosis yang diikuti oleh atrofi pada dosis tinggi (Chapin dan Ku, 1994 ; Ku dkk, 1993). Berangkat dari kenyataan tersebut, perlu juga diteliti pengaruh boraks terhadap kualitas spermatozoa, karena spermatozoa mudah terpengaruh oleh zat yang bersifat toksis seperti boraks. Dalam hal ini digunakan hewan percobaan berupa tikus putih (*Rattus norvegicus* L).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh preparat boraks terhadap konsentrasi, motilitas, kecepatan gerak, dan morfologi normal spermatozoa tikus putih. Masalah yang ingin dipecahkan adalah apakah kualitas (konsentrasi, motilitas, kecepatan gerak, dan morfologi normal) spermatozoa tikus putih menjadi menurun setelah perlakuan dengan boraks.

Apabila ditemukan bahwa preparat boraks dapat menurunkan kualitas spermatozoa, diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangan pemikiran agar para pedagang bahan makanan dan ibu rumah tangga tidak menggunakan boraks sebagai bahan tambahan dalam bahan makanan.

BAHAN DAN METODE

Dalam penelitian ini dipergunakan natrium borat, larutan CMC dan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus* L) jantan berusia 4 bulan sebanyak 50 ekor.

Perlakuan terhadap hewan uji dilaksanakan berdasarkan rancangan acak lengkap. Perlakuan dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu (1) Tanpa perlakuan, (2) Placebo boraks berupa 1 ml larutan CMC 1%, (3) Boraks sebanyak 200 mg/kg berat badan dalam 1 ml CMC 1%, (4) Boraks sebanyak 400 mg/kg berat badan dalam 1 ml CMC 1%, dan (5) Boraks sebanyak 600 mg/kg berat badan dalam 1 ml CMC 1%. Setiap kelompok perlakuan dengan 10 ulangan. Perlakuan dilakukan

secara oral, dilakukan setiap hari antara jam 08.30 sampai dengan jam 10.30, perlakuan selama 30 hari.

Pengamatan kualitas spermatozoa meliputi konsentrasi, motilitas, kecepatan gerak, dan morfologi spermatozoa. Cuplikan spermatozoa diperoleh dari cauda epididimis kanan yang diambil dari hewan yang telah mendapat perlakuan selama satu bulan. Cauda epididimis dimasukkan ke dalam gelas arloji yang berisi 1 ml garam fisiologis hangat (37°C), kemudian dipotong–potong dengan gunting kecil hingga halus dan diaduk dengan gelas pengaduk. Suspensi spermatozoa yang telah diperoleh dapat digunakan untuk pengamatan kualitas spermatozoa (Modifikasi dari First, 1991). Pengamatan kualitas spermatozoa dilakukan menurut Soehadi dan Arsyad (1983) sebagai berikut :

1. Konsentrasi spermatozoa ditentukan sebagai berikut :
 - a. Suspensi spermatozoa dihisap dengan pipet leukosit sampai tanda 1,0.
 - b. Pipet yang telah berisi suspensi spermatozoa kemudian diencerkan dengan larutan garam fisiologis sampai tanda 1,1. Kemudian pipet dikocok rata.
 - c. Sebelum menghitung spermatozoa, terlebih dahulu beberapa tetes campuran spermatozoa dibuang agar yang terhitung nanti adalah bagian yang benar–benar mengandung spermatozoa homogen.
 - d. Campuran spermatozoa dimasukkan ke dalam kotak–kotak kamar hitung Neubauer, jumlah spermatozoa pada 16 kotak dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.
 - e. Hasil perhitungan merupakan jumlah spermatozoa dalam 10^{-5} ml suspensi spermatozoa.
2. Motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa dapat diamati pada suspensi spermatozoa yang telah ditetaskan pada bilik hitung Neubauer dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Motilitas spermatozoa ditentukan dari 100 spermatozoa dalam satu lapangan pandang. Motilitas spermatozoa dinilai berdasarkan persen spermatozoa dengan motilitas baik, yaitu spermatozoa yang bergerak cepat, lurus ke depan, lincah dan aktif. Kecepatan gerak spermatozoa diukur berdasarkan waktu yang diperlukan

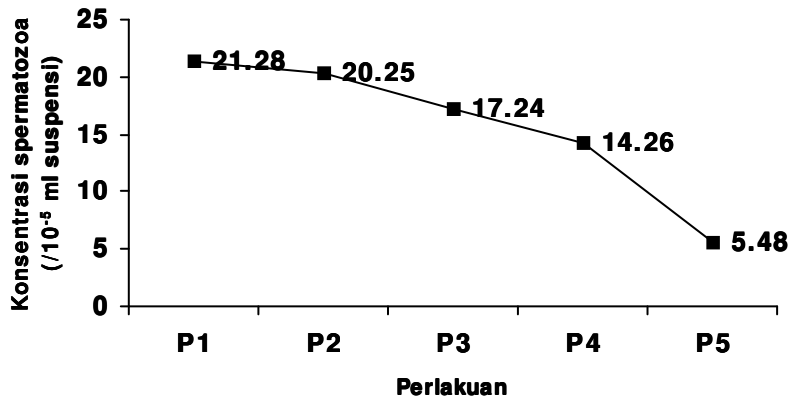
spermatozoa untuk motil dan bergerak lurus menempuh satu kotak mikrohemositometer.

3. Morfologi spermatozoa dapat diamati pada sediaan apus dengan pewarnaan Hemotoksilin Mayer. Pemeriksaan morfologi spermatozoa dilakukan dengan membedakan bentuk spermatozoa normal dan abnormal dari 100 spermatozoa yang diamati, hingga diperoleh data bentuk spermatozoa dalam persen. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

HASIL

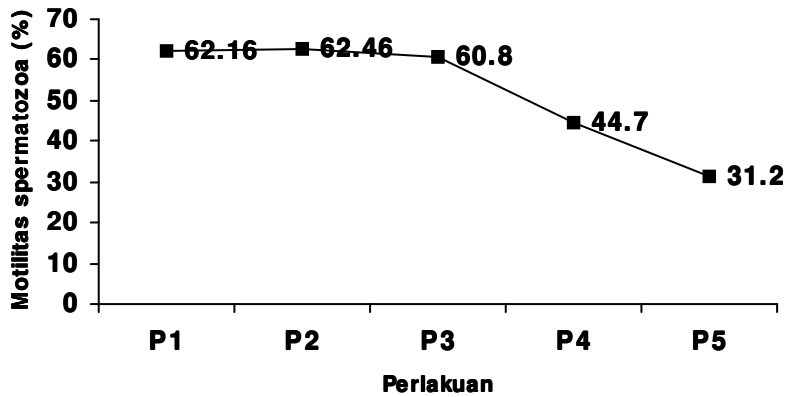
Hasil penelitian menunjukkan bahwa spermatozoa tikus putih mengalami penurunan kualitas setelah perlakuan dengan boraks (Gambar 1–4). Konsentrasi spermatozoa tikus putih tampaknya sangat menurun setelah diberi perlakuan dengan boraks. Penurunan konsentrasi spermatozoa jelas terlihat pada pemberian boraks mulai dosis 400 mg boraks/kg berat badan (Gambar 1). Motilitas spermatozoa tikus putih juga tampak menurun mulai perlakuan dengan dosis 400 mg boraks/kg berat badan (Gambar 2).

Kecepatan gerak spermatozoa tikus putih tampak menurun mulai perlakuan dengan dosis 400 mg boraks/kg berat badan. Hal ini terlihat dengan makin lamanya waktu yang diperlukan oleh spermatozoa untuk menempuh jarak satu kotak mikrohemositometer (Gambar 3). Sementara itu, morfologi normal spermatozoa tikus putih tampak menurun mulai perlakuan dengan 200 mg boraks/kg berat badan (Gambar 4).



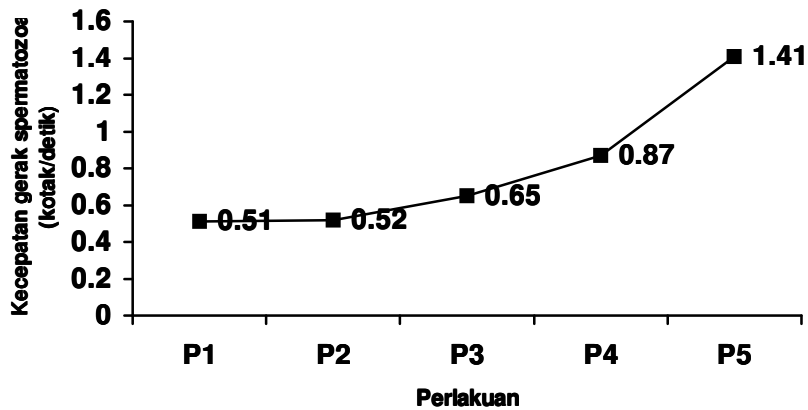
Gambar 1. Konsentrasi spermatozoa tikus putih setelah pemberian boraks.

P1 = tanpa perlakuan; P2 = plasebo boraks 1 ml CMC 1%; P3 = 200 mg boraks/kg bb; P4 = 400 mg boraks/kg bb; P5 = 600 mg boraks/kg bb



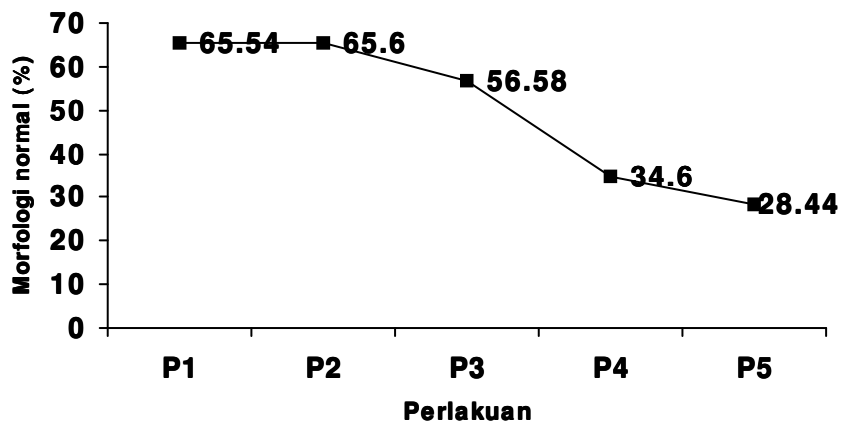
Gambar 1. Motilitas spermatozoa tikus putih setelah pemberian boraks.

P1 = tanpa perlakuan; P2 = plasebo boraks 1 ml CMC 1%; P3 = 200 mg boraks/kg bb; P4 = 400 mg boraks/kg bb; P5 = 600 mg boraks/kg bb



Gambar 3. Waktu yang diperlukan oleh spermatozoa tikus putih untuk menempuh jarak satu kotak mikrohemositometer setelah pemberian boraks.

P1 = tanpa perlakuan; P2 = plasebo boraks 1 ml CMC 1%; P3 = 200 mg boraks/kg bb; P4 = 400 mg boraks/kg bb; P5 = 600 mg boraks/kg bb



Gambar 4. Morfologi normal spermatozoa tikus putih setelah pemberian boraks.

P1 = tanpa perlakuan; P2 = plasebo boraks 1 ml CMC 1%; P3 = 200 mg boraks/kg bb; P4 = 400 mg boraks/kg bb; P5 = 600 mg boraks/kg bb

PEMBAHASAN

Analisis varian ($\alpha = 0,01$) menunjukkan terjadinya penurunan kualitas spermatozoa tikus putih setelah perlakuan dengan boraks. Penurunan ini terjadi pada keempat parameter pengamatan yaitu konsentrasi spermatozoa, motilitas, kecepatan gerak dan morfologi normal spermatozoa. Penurunan kualitas spermatozoa mulai terlihat nyata pada perlakuan dengan 400 mg boraks/kg berat badan untuk parameter pengamatan konsentrasi, motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa, sedangkan morfologi normal spermatozoa sudah menunjukkan penurunan pada perlakuan dengan 200 mg boraks/kg berat badan. Hal ini dibuktikan berdasarkan uji lanjut dengan DMRT dengan $\alpha = 0,01$.

Penurunan kualitas spermatozoa tikus putih yang diperlakukan dengan boraks dapat terjadi karena boraks berikatan dengan sisi ribitil dari riboflavin membentuk kompleks riboflavin–boraks yang merupakan metabolit tidak aktif. Adanya ikatan ini menyebabkan defisiensi riboflavin, sehingga energi yang diperlukan sel menjadi berkurang; sebab riboflavin diperlukan sel untuk menghasilkan energi termasuk sel spermatozoa. Dalam hal ini energi diperlukan spermatozoa untuk mempertahankan kualitas kehidupannya selama di epididimis. Kekurangan energi ini terjadi karena riboflavin merupakan komponen koenzim flavin mononukleotida (FMN) dan Flavin adenin dinukleotida (FAD) yang merupakan pembawa elektron pada sistem transfer elektron untuk menyediakan energi tinggi. Jika diikat oleh boraks, riboflavin tidak dapat bekerja dan mekanisme transfer elektron menjadi terganggu karena tidak ada molekul pembawa elektron yang memungkinkan terjadinya reaksi biokimia untuk menghasilkan energi tinggi (Rennie dkk, 1990). Hal ini menunjukkan bahwa boraks bersifat sitotaksis dengan bekerja sebagai penghambat pembentukan ATP (molekul berenergi tinggi). Dengan dihambatnya pembentukan energi yang secara umum diperlukan sel untuk aktivitas hidup, maka kekurangan energi juga menyebabkan penurunan integritas sel. Penurunan integritas sel juga menyebabkan penurunan fungsi faal reseptor sel. Menurut Cook (1990), De Kretser (1997) dan Setchell (1997) fungsi pemeliharaan spermatozoa juga melibatkan kontrol hormonal, padahal kerja hormon melibatkan

reseptor. Jika fungsi faal reseptor terganggu, mekanisme kerja hormon juga terganggu. Akibatnya fungsi pemeliharaan spermatozoa terganggu. Ini mengakibatkan menurunnya kualitas spermatozoa.

Pada parameter pengamatan konsentrasi dan morfologi normal spermatozoa menurunnya konsentrasi dan morfologi normal spermatozoa akibat perlakuan dengan boraks tampaknya mulai terjadi pada saat spermatogenesis (Kaspul, 2000) yang terjadi dengan menghambat pembelahan sel pada saat spermatogenesis sehingga sel spermatozoa yang dihasilkan berkurang jumlahnya. Di samping itu, karena kekurangan energi pada saat pemeliharaan, banyak juga sel spermatozoa yang mengalami degenerasi dan resorpsi. Akibatnya, konsentrasi spermatozoa menurun. Gangguan pada saat spermatogenesis dapat pula menyebabkan menurunnya morfologi normal spermatozoa dan penurunan morfologi normal ini semakin besar pada saat pemeliharaan di epididimis, karena kekurangan energi. Kelainan (abnormalitas) morfologi yang ditemukan berupa spermatozoa tanpa kepala, spermatozoa dengan kepala yang mempunyai sisa sitoplasma dan ekor melengkung, spermatozoa ekor melengkung, spermatozoa ekor patah.

Motilitas dan kecepatan gerak menunjukkan penurunan karena untuk bergerak diperlukan energi, sedangkan energi yang diperlukan kurang karena pembentukan energi dihambat oleh boraks.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan kualitas spermatozoa tikus putih setelah perlakuan dengan boraks. Penurunan kualitas spermatozoa ini meliputi konsentrasi, motilitas, kecepatan gerak dan morfologi normal spermatozoa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia Dikjendikti Depdiknas yang telah membiayai penelitian ini pada tahun anggaran 2002.

DAFTAR PUSTAKA

- Chapin RE and Ku WW. 1994. The Reproductive Toxicity of Boric. *Environ Health Perspectve*. 102 (7) : 87 – 91
- Cook B 1990. Hormon–hormon Reproduksi. Dalam: *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas* (Diterjemahkan oleh Sunaryo). UI Press. Jakarta. h.205–246
- De Kretser DM. 1997. The Testis. In: *Hormonal Control of Reproduction*. 2nd ed. (Edited by : C.R. Austin and R.V. Short FRS), Cambridge University Press. New York. p. 76-90.
- Dieter MP. 1994. Toxicity and carcinogenicity studies of Boric Acid in Male and Female Mice. *Environ Health Prespective*. 102 (7): 93 – 97
- First NI. 1991. Collection and Preservation of Spermatozoa. In : *Methods in Mammalian Embryology* (Edited by : I.C. Daniel, Jr). Toppan Company Limited. Japan. P. 15 – 36.
- Kaspul. 2000. Aktivitas Spermatogenesis Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Setelah Diperlakukan Dengan Natrium Borat. *Laporan Penelitian. FKIP Unlam Banjarmasin*. Tidak dipublikasikan.
- Ku WW, Chapin RE, Wine. RN, Glade BC. 1993. Testicular Toxicity of Boric Acid Relationship of Dose to Lesion Development And Recovery in the F 344 Rat. *Repro. Toxicol*. 7 (4) : 305–319.
- Pangestningsih TW. 1994. Pengaruh Dosis Sodium Borat pada Tikus (*Rattus norvegicus albinus*) Induk terhadap Fetus. *Tesis Pascasarjana UGM*, tidak dipublikasikan.
- Munir W, Netty M., Syukri F. 1997. Uji Pengaruh Asam Boraks terhadap Perkembangan Prainplantasi embrio mencit (*Mus Musculus*). *Laporan Penelitian PMIPA Universitas Andalas*. Tidak dipublikasikan.
- Novrianto, 1991. *Ancaman Boraks Lewat Bakso*. Tempo. XXI/1. PT. Grafiti Press. Jakarta. h.37.
- Rennie JS, Whitehaed CC, Montanari A. 1990. Effect of Dietary Borate and Aluminate on Riboflavin Metabolism in Breeding Hen. *Res. Vet. Sc*. 49: 253 – 255.
- Soehadi K dan Arsyad KM. 1983. *Analisis Sperma*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Setchell BP. 1997. Spermatogenesis and Spermatozoa. In : *Germ Cells and Fertilization* (Edited by: C.R. Austin and R.V. Short. FRS). Cambridge University Press. New York. P. 63 – 101.