

Kualitas Spermatozoa Mencit yang Terpapar Radiasi Sinar-X Secara Berulang

(*SPERMATOZOA QUALITY OF MICE EXPOSED TO X-RAYS RADIATION IN REPEATED*)

Ni Wayan Sudatri¹, Ni Made Suartini²,
Anak Agung Sagung Alit Sukmaningsih², Dwi Ariani Yulihastuti¹

¹Laboratorium Fisiologi Hewan, ²Bagian Zoologi,
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
Universitas Udayana, Kampus Unud Bukit Jimbaran,
Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali
Email: wayan_sudatri@yahoo.com

ABSTRAK

Dalam bidang kedokteran, radia sinar-x telah lama dimanfaatkan untuk mendiagnosis dan terapi penyakit. Namun, dibalik manfaat yang diberikan oleh teknologi radiasi, efek negatifnya juga sering diperdebatkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat efek radiasi berulang terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.). Sebanyak 32 ekor mencit jantan dewasa, berumur tiga bulan, dibagi kedalam kelompok P1 (1 x 200 rad), P2 (2 x 200 rad), P3 (3 x 200 rad), dan kontrol, diradiasi dengan sinar-x sesuai dengan rancangan percobaan. Parameter kualitas spermatozoa yang diamati meliputi : jumlah spermatozoa, motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa. Hasil uji *LSD* dengan *Post Hoc test* terhadap perbedaan bermakna ($P < 0.05$) antara kontrol dan perlakuan menunjukkan bahwa paparan radiasi sinar-x pada tingkat 1 x 200 rad, 2 x 200 rad, dan 3 x 200 rad, menurunkan motilitas, viabilitas, morfologi normal, dan jumlah spermatozoa yang dihasilkan dibandingkan dengan kontrol. Paparan radiasi sinar-x secara berulang menurunkan kualitas spermatozoa mencit.

Kata-kata kunci: sinar-x, kualitas spermatozoa, mencit jantan

ABSTRACT

In radiology, X-ray has been used to diagnose disease and therapy. However, behind the technology benefits provided by the radiation, the negative effects are often debated. The purpose of this study was to investigate the effects of repeated radiation on sperm quality mice (*Mus musculus* L). Thirty- two adult male mice aged three months were divided into groups P1 (1x 200 rad), P2 (2x200 rad), P3 (3x200 rad) and control irradiated with x-rays according to the experimental design . Spermatozoa quality parameters observed were : number of spermatozoa, motility, viability and morphology of spermatozoa. The results of the Post Hoc LSD tests for significant differences ($P > 0.05$) between the control and treatment showed that the X-ray radiation exposure to 1x200 rad, 2x200 rad, and 3x200 rad decreases the motility, viability, normal morphology and number spermatozoa produced compared with controls. This is caused by exposure to X-ray radiation causes the formation of free radicals in the body that damage sperm cells mice. Exposure to X-ray radiation repeatedly lowered the quality of spermatozoa of mice.

Keywords : x rays, sperm quality, male mice

PENDAHULUAN

Sinar-x merupakan salah satu radiasi pengion yang dikelompokkan kedalam tipe gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang pendek. Radiasi gelombang elektromagnetik di antaranya adalah sinar

ultraungu, inframerah, sinar lampu, gelombang radio, dan gelombang televisi. Sinar-x mempunyai daya tembus yang tinggi karena panjang gelombangnya yang pendek.

Dalam bidang kedokteran, radiasi sinar-x telah lama dimanfaatkan untuk mendiagnosis dan terapi penyakit. Berdasarkan hasil foto

sinar-x, bagian-bagian tulang yang mengalami kelainan ataupun patah bisa diketahui, pemunculan tumor atau kelainan-kelainan organ bagian dalam juga bisa dideteksi. Terapi tumor atau kanker yang dilakukan dengan radiasi telah meningkatkan rataan harapan hidup para pasien (Baker, 2008).

Namun, dibalik manfaat yang diberikan oleh teknologi radiasi, efek negatifnya juga sering diperdebatkan. Sinar-x merupakan radiasi pengion yang berenergi tinggi. Sinar ini akan mengionkan bahan-bahan yang dilaluinya. Ketika dilakukan terapi radiasi, selain membunuh sel-sel kanker, radiasi tersebut juga merusak sel-sel normal yang ada di sekitar sel kanker. Hal ini akan mengakibatkan sel normal ikut mati atau kalau pun tidak mati, sel tersebut akan mengalami mutasi yang dalam jangka waktu tertentu berubah menjadi sel kanker (Balentova, 2007).

Sel-sel dan jaringan pada manusia semuanya peka terhadap radiasi. Sel-sel yang termasuk sangat peka terhadap radiasi adalah sel sel yang sedang aktif membelah seperti sel-sel embrio, sel-sel darah, serta sel-sel gonad (ovarium dan testis). Testis merupakan gonad jantan yang berfungsi untuk menghasilkan sel-sel spermatozoa. Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus, tempat terjadinya spermatogenesis. Suharjo (2002) melaporkan bahwa mencit jantan yang diiradiasi dengan radiasi sinar-x dosis tunggal 200 rad, mengalami penurunan jumlah dan diameter tubulus seminiferus. Bobot badan dan bobot testis tikus jantan yang diiradiasi dengan dosis 2-5 Gy (1 Gy=100 rad) juga mengalami penurunan (Yamasaki *et al.*, 2010). Sementara itu Zhang *et al.*, (1999) melaporkan bahwa motilitas spermatozoa dan reaksi akrosom spermatozoa manusia yang diberikan radiasi tinggi, seperti 16, 32, dan 64 Gy dan dikombinasikan dengan ion $^{16}\text{O}^{+6}$ mengalami penurunan yang sangat tajam. Pengobatan kanker dengan radioterapi juga mengakibatkan terjadinya penurunan jumlah spermatozoa, bahkan sampai ke tingkat *azoospermia*, dan keadaan tersebut dapat bertahan selama beberapa tahun atau bersifat permanen. Hal tersebut disebabkan karena radiasi menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh yang merusak sel (Meistrich, 2013)

Untuk memperkirakan efek yang terjadi akibat pemaparan radiasi berulang terhadap sistem reproduksi manusia, maka penelitian ini bertujuan untuk melihat efek radiasi sinar-

x terhadap kualitas spermatozoa dengan mempergunakan mencit jantan dewasa sebagai hewan coba.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Kandang Percobaan dan Laboratorium Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Udayana, serta perlakuan radiasi dilakukan di Bagian Radiologi Rumah Sakit Umum Pusat, Sanglah, Denpasar. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan selama selama satu bulan dan dilanjutkan dengan pembedahan, pengamatan dan pengumpulan data.

Percobaan ini menggunakan 32 ekor mencit. Sebanyak 24 ekor mencit jantan yang terbagi ke dalam tiga kelompok (masing-masing delapan ekor) diiradiasi, sedangkan delapan ekor mencit lainnya berperan sebagai kontrol. Kelompok pertama diiradiasi dengan sinar-x dosis 1 x 200 rad (P1), kelompok kedua diiradiasi dengan dosis 2 x 200 rad (P2), kelompok ketiga diiradiasi dengan dosis 3 x 200 rad (P3), dan kelompok keempat sebagai kontrol (K). Dosis 200 rad digunakan berdasarkan hasil penelitian Suharjo (2002), bahwa mencit jantan yang diiradiasi dengan radiasi sinar-x dosis tunggal 200 rad mengalami penurunan jumlah dan diameter tubulus seminiferus organ testis.

Sehari setelah perlakuan, mencit jantan pada masing-masing kelompok nyawanya dikorbankan dengan cara dieuthanasia dengan cara dislokasi leher. Setelah mencit tiada, kadaver mencit tersebut dibedah. Spermatozoa diambil dari cauda epididimis. Cauda epididimis diletakkan di cawan petri yang telah berisi 2 mL NaCl 0,9%, kemudian organ dicacah menjadi potongan-potongan kecil, diaduk hingga homogen dan siap untuk diamati. Variabel yang diamati meliputi : motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, morfologi spermatozoa, dan jumlah spermatozoa.

Motilitas Spermatozoa

Suspensi spermatozoa dalam NaCl 0,9% diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali. Pengamatan diulang dua kali untuk satu ekor mencit. Jumlah spermatozoa yang motil dihitung berdasarkan kriteria WHO (WHO, 1988). Kategori 0 (spermatozoa tidak bergerak sama sekali), kategori 1 (spermatozoa bergerak lambat), kategori 2 (spermatozoa bergerak ke depan

dengan kecepatan sedang atau berputar-putar), dan kategori 3 spermatozoa bergerak lurus ke depan. Persentase kategori spermatozoa motil ditentukan berdasarkan katagori 2 dan 3, dibagi dengan banyaknya spermatozoa yang diamati dikalikan 100%.

Viabilitas Spermatozoa

Untuk melihat viabilitas spermatozoa, suspensi spermatozoa dalam NaCl 0,9% dipipet sebanyak satu tetes, kemudian diletakkan pada gelas objek. Spermatozoa tersebut difiksasi dengan formalin 2% dalam aquades selama 10 menit lalu dibuat apusan. Setelah kering lalu diberi pewarna Eosin 2% dalam aquades selama 15 menit kemudian dibilas dengan aquades dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna sedangkan spermatozoa yang mati terwarnai Eosin, dan hasilnya dinyatakan dalam persen (Lina, 2013).

Morfologi Spermatozoa

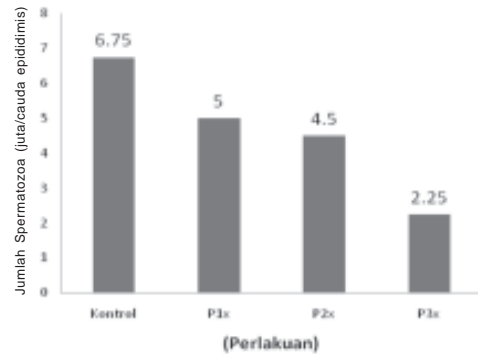
Pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan sediaan apusan spermatozoa yang diwarnai dengan Eosin 2% dan pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan morfologi ditekankan pada kelainan bentuk dan abnormalitas spermatozoa. Bentuk spermatozoa disebut abnormal bila terdapat satu atau lebih bagian spermatozoa yang abnormal (kepala, *midpiece*, ekor melingkar, kepala kecil, ekor *double*), dan hasilnya dinyatakan dalam persen.

Jumlah Spermatozoa

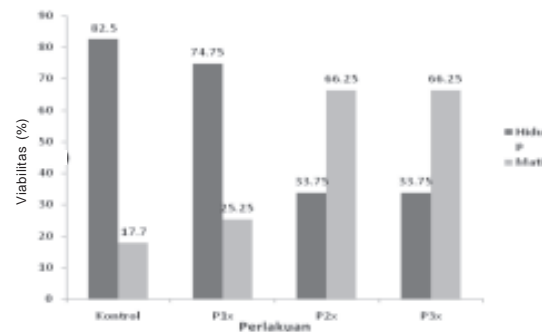
Untuk melihat jumlah spermatozoa, suspensi spermatozoa dalam NaCl 0,9% dipipet dan ditetaskan pada kamar hitung *Neubauer*/hemositometer dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali. Jumlah spermatozoa dinyatakan dalam satuan juta per cauda epididimis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

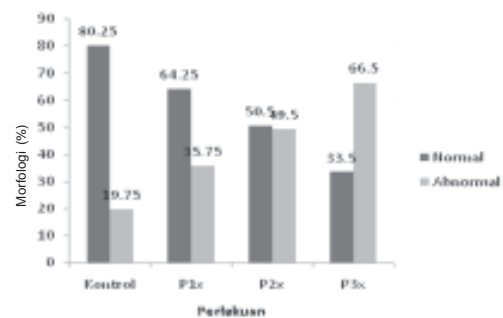
Berdasarkan jumlah spermatozoa yang didapatkan, bahwa pemaparan sinar-x dengan dosis 200 *rad* secara berulang memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap penurunan jumlah spermatozoa mencit. Hasil uji LSD dengan *Post Hoc test* terhadap perbedaan bermakna ($P < 0.05$) antara kontrol dan perlakuan menunjukkan bahwa pemaparan



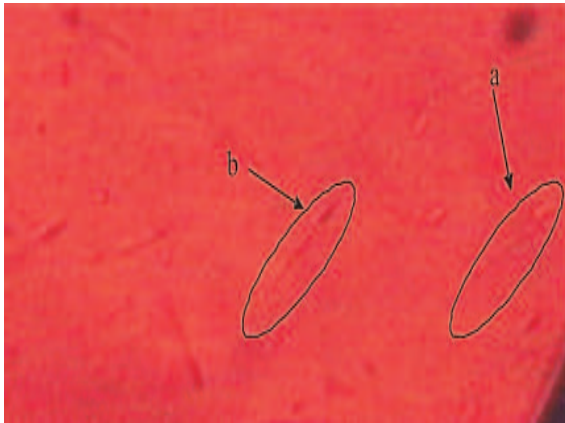
Gambar 1. Rataan jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diradiasi sinar x (P1= radiasi 200 *rad* satu kali, P2= radiasi 200 *rad* dua kali, P3= radiasi 200 *rad* tiga kali)



Gambar 3. Rataan viabilitas spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diradiasi sinar-x (P1= radiasi 200 *rad* satu kali, P2= radiasi 200 *rad* dua kali, P3= radiasi 200 *rad* tiga kali).



Gambar 5 : Rataan morfologi spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diradiasi sinar-x (P1= radiasi 200 *rad* satu kali, P2= radiasi 200 *rad* dua kali, P3= radiasi 200 *rad* tiga kali).



Gambar 2. Viabilitas spermatozoa; a=spermatozoa hidup dengan warna kepala bening
b= spermatozoa mati dengan warna kepala merah /terwarnai (pembesaran 400 kali)

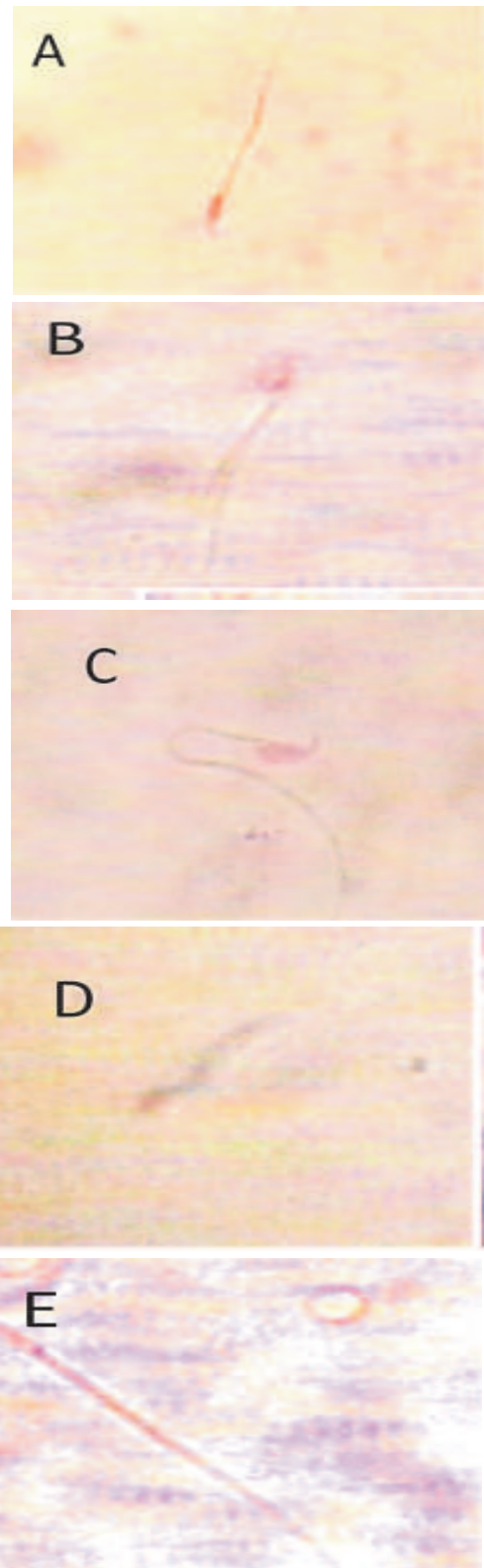
radiasi sinar-x satu kali, dua kali dan, tiga kali menurunkan jumlah spermatozoa yang dihasilkan dibandingkan dengan kontrol.

Viabilitas spermatozoa yang dipapar radiasi sinar-x dosis 200 rad, sebanyak dua kali dan tiga kali berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Pemaparan radiasi secara berulang menurunkan jumlah spermatozoa.

Jumlah morfologi normal spermatozoa kelompok kontrol berbeda nyata dengan jumlah morfologi normal kelompok perlakuan P2 dan P3. Jumlah morfologi normal spermatozoa P2 dan P3 lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol, sedangkan morfologi abnormal spermatozoa kebalikannya. Jumlah morfologi abnormal P2 dan P3 lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol.

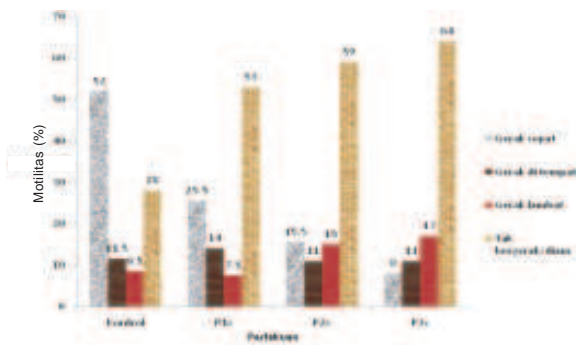
Motilitas sperma meliputi : jumlah spermatozoa yang bergerak cepat, gerak lambat, gerak di tempat, dan tidak bergerak/diam. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa jumlah spermatozoa yang bergerak cepat berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Jumlah spermatozoa yang bergerak cepat lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol pada semua perlakuan. Jumlah sperma yang gerak lambat dan gerak di tempat, menurut hasil uji statistika tidak berbeda secara nyata. Sebaliknya jumlah spermatozoa yang tidak bergerak/mati berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol pada semua perlakuan. Jumlah sperma yang tidak bergerak meningkat drastis pada semua perlakuan.

Pemaparan radiasi sinar-x dosis 200 rad memberikan pengaruh yang nyata pada hampir



Gambar 4. Morfologi Spermatozoa (pembesaran 400x)

Keterangan : A. Normal B. Ekor double C. Ekor lingkaran D. Ekor pendek E. Kepala kecil



Gambar 6 : Rataan motilitas spermatozoa mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diradiasi sinar-x (P1= radiasi 200 rad satu kali, P2= radiasi 200 rad dua kali, P3= radiasi 200 rad tiga kali).

semua parameter yang diamati, baik yang dilakukan sekali maupun yang dilakukan berulang kali. Hal ini karena sinar-x mempunyai energi tinggi sehingga mampu mengionkan materi yang dilaluinya termasuk materi biologi yaitu sel. Sel-sel yang terkena radiasi, mengalami kerusakan sehingga bisa mengganggu proses fisiologi sel tersebut. Radiasi dapat menyebabkan kematian sel, di samping itu sel-sel pembentuk sel-sel kelamin dan sel-sel yang sedang aktif membelah mempunyai kepekaan yang tinggi terhadap radiasi.

Terganggunya pembentuk sel-sel kelamin, dalam hal ini testis akan berakibat terhadap kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Hal ini terlihat sangat nyata pada jumlah spermatozoa yang dihasilkan pada setiap cauda epididimis. Jumlah spermatozoa pada kelompok yang dipapar radiasi sinar-x menurun drastis dibandingkan dengan kontrol. Penurunan jumlah spermatozoa berkaitan dengan pembelahan sel induk spermatogonium yang membelah menjadi spermatosit primer, sekunder dan akhirnya menjadi spermatozoa. Radiasi diketahui menjadi salah satu faktor yang meningkatkan terjadinya apoptosis/kematian pada sel (Zhao *et al.*, 2010; Furlong *et al.*, 2013). Radiasi yang mengenai sel-sel tubuh menyebabkan air yang ada di dalam sel berubah menjadi *aktivated water* atau ion-ion yang bersifat radikal bebas yang merusak sel. Kerusakan sel-sel pembentuk spermatozoa akibat radikal bebas berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa yang dihasilkan, begitu juga motilitas spermatozoa. Spermatozoa yang

terpapar radiasi sinar-x lebih banyak yang tidak bergerak/mati dan jumlah spermatozoa yang bergerak cepat lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol. Hal ini senada dengan laporan Fauziah dan Dwijayanti (2013), yang mengungkapkan bahwa peningkatan dosis paparan radiasi sinar-x yang diberikan pada mencit menurunkan motilitas spermatozoa. Begitu juga halnya dengan viabilitas spermatozoa, pada kelompok perlakuan radiasi, dilaporkan lebih banyak spermatozoa yang mati akibat radiasi dibandingkan dengan spermatozoa yang hidup.

Untuk morfologi spermatozoa, kelompok perlakuan radiasi lebih banyak spermatozoa yang mempunyai morfologi abnormal terutama perlakuan P3. Banyak spermatozoa kelompok perlakuan radiasi yang mempunyai ekor yang melingkar atau melengkung sehingga menyebabkan penurunan motilitas. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sailer *et al.*, (2006) yaitu melaporkan terjadinya peningkatan abnormalitas morfologi spermatozoa pada testis mencit yang diradiasi dengan dosis 400 rad.

Penurunan kualitas spermatozoa pada kelompok mencit jantan yang terpapar radiasi sinar-x, mengakibatkan penurunan fertilitas pada hewan tersebut. Efek radiasi pada manusia diperkirakan serupa dengan yang terjadi pada manusia, karena manusia memiliki kemiripan sistem fisiologi dengan hewan ini. Oleh karena itu penggunaan dosis radiasi sinar-x pada manusia, baik untuk diagnosis maupun untuk terapi harus lebih hati-hati, sehingga tidak mengakibatkan infertilitas.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa pemaparan radiasi sinar-x sangat berpengaruh terhadap penurunan kualitas spermatozoa mencit. Penurunan kualitas spermatozoa semakin meningkat pada hewan yang mendapat radiasi sinar-x yang dilakukan pemaparan secara berulang.

SARAN

Untuk mengetahui korelasi antara penurunan kualitas spermatozoa dan kerusakan sel-sel testis pada mencit jantan maka perlu dilakukan penelitiann lebih lanjut mengenai

dampak radiasi sinar-x secara berulang terhadap gambaran histologi testis mencit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM Unud yang telah mendanai penelitian ini melalui Dana PNBH Hibah Dosen Muda tahun anggaran 2013. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada saudara I Wayan Balik, SSi, staf Bagian Radiologi RSUP, Sanglah, Denpasar atas kerjasamanya dan bantuannya, sehingga perlakuan radiasi sinar-x pada penelitian bisa dilakukan sebagai mana mestinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alatas Z. 2006. Efek pewarisan akibat radiasi pengion. *Buletin Alara* 8(2):97-103
- Baker M. 2008. *Role of Epigenic Change in Direct and Indirect Radiation Effects*. Canada. Univercity of Lethbrigde. Pp. 144.
- Balentova S, Racecova E. 2007. Effects of low dose irradiation on proliferation dynamic rostral migration steam of adult rats. *Folia Biologica* 53(1): 74-75.
- Fauziah A, Dwijananti P. 2013. Pengaruh radiasi sinar-x terhadap motilitas sperma pada tikus mencit (*Mus mucus*). *Jurnal Pendidikan Fisika Indonesia* 9 (1) : 94-101
- Furlong H, Mothersill C, Fiona ML, Orla H. 2013. Apoptosis is signalled early by low doses of ionising radiation in a radiation-induced bystander effect. *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 741(2):35-43
- Lina P. 2013. Kualitas spermatozoa mencit jantan dewasa setelah diberikan monosodium glutamat. *Simbiosis* 1(1): 40-50.
- Meistrich ML. 2013. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertility and Sterility* 100 (5): 1180-1186
- Sailer BL, Josh LK, Erickson, Tajiran MA, Evenson DP. 2006. Effects of X-irradiation on mouse testicular cells and sperm chromatin structure. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2 (1): 23-30.
- Suharjo. 2002. Efek radiasi dosis tunggal pada sel spermatogenik mencit dewasa strain quacker bush (CSL). *Jurnal Bionatura* 4(2): 87-95.
- Sumardika IBA. 2009. Pengaruh radiasi gelombang elektromagnetik terhadap kesehatan manusia. *Jurnal Teknologi Elektro* 8 (1) : 106-109
- WHO. 1988. Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Semen Getah Serviks. Jakarta. Balai Penerbitan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Yamasaki H, Sandrof MA, Boekelheide K. 2010. Suppression of radiation-induced testicular germ cell apoptosis by 2,5-hexanedione pretreatment. i. histopathological analysis reveals stage dependence of attenuated apoptosis. *Toxicological Sciences* 117(2): 449-456
- Zhang H, Wei ZQ, Li WJ, Li Q, Dang BR, Chen WQ, Xie HM, Zhang SM, He J, Huang T, Zheng RL. 1999. Effects of 160+6 ion irradiation on human sperm spontaneous chemiluminescence, motility, acrosome reaction and viability in vitro. *Pubmed* 32(1): 1-6.
- Zhao H, Songbai Xu, Zhicheng Wang, Yanbo Li, Wei Guo, Chenghe Lin, Shouliang Gong, Cai Li, Guanjun Wang, Lu Cai. 2010. Repetitive exposures to low-dose X-rays attenuate testicular apoptotic cell death in streptozotocin-induced diabetes rats. *Toxicology Letter* 192(3): 560-364