JRBA, Vol 1, No 1, Februari 2018 1-….

**

Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya

https://journal.unesa.ac.id/index.php/risetbiologi

**Analisis Prevalensi Kejadian Aglutinasi Spermatozoa *Rattus norvegicus* Strain Wistar Albino yang Diberi Paparan Antibiotik Kanamycin (Aminoglikosida) Dosis Bertingkat**

*Analyze of Spermatozoid Agglutination Prevalence in Rattus norvegicus Using Kanamycin (Aminoglycoside) Multiple Dosing*

**Muhammad Saka Abeiasa\***

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Piala Sakti Pariaman

\* e-mail: 13abeiasa@gmail.com

**History Article**

Received June 2017

Approved Agustus 2017

Published Februari 2018

**Keywords**:

antibiotic; kanamycin; spermatozoid agglutination

**Abstrak**

Kelompok antibiotik dari golongan aminoglikosida seperti kanamycin dan gentamycin menyebabkan kesalahan penerjemahan dan efek inhibisi pada proses translokasi t-RNA dan m-RNA bakteri. Dilaporkan bahwa toksisitas kanamycin dapat meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diterima. Hal ini dapat berakibat penurunan jumlah dan kecacatan spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh antibiotik kanamycin terhadap prevalensi kejadian aglutinasi spermatozoa. Jumlah aglutinasi spermatozoa dihitung menggunakan *agglutination grade* WHO. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan model *post-test-only control group design* dengan variabel independen yaitu kanamycin dosis bertingkat dan variabel dependen yaitu jumlah aglutinasi spermatozoa. Data dianalisis menggunakan ANAVA lalu dilanjutkan uji lanjut Bonferroni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kanamycin dosis bertingkat berpengaruh terhadap prevalensi kejadian aglutinasi spermatozoa. Peningkatan jumlah aglutinasi seiring dengan peningkatan dosis yang diterima.

 ***Abstract***

*Aminoglycocide-group-antibiotics such as kanamicyn and gentamycin caused mistranslated and inhibition effect for t-RNA and m-RNA translocation of bacteria. Kanamycin toxicity can increased along with increasing in dose received. This can caused the disability and decreasing amount of spermatozoa. This study was aimed to examined the effect of kanamycin for spermatozoid agglutination prevalence. The amount of spermatozoid agglutination counted using agglutination grade WHO. This study was experimental research with post-test-only control group design. The data was analyzed using ANAVA then continued by post-hoc Bonferroni test. The result showed that kanamycin multilevel dosing taken effect for spermatozoid agglutination prevalence. Increasing the amount of agglutination along with the increase in the dose received*

Correspondence Author: M. S. Abeiasa p-ISSN 2085-191X

Jl. Ketintang, Surabaya 60231 e-ISSN 2338-7610

E-mail: 13abeiasa@gmail.com

**PENDAHULUAN**

Pembuktian tentang efek samping pengunaan antibiotik terhadap spermatogenesis telah banyak dilakukan pada hewan coba. Pada kasus infertilitas manusia diketahui masalah infertilitas merupakan kasus dengan banyak faktor etiologi sehingga dalam penetapan diagnosis perlu analisis yang tepat. Pengunaan antibiotik pada manusia baik dipergunakan untuk pengobatan agen infeksius maupun penyakit seksual yang menyebabkan infertilitas diketahui memberi efek samping yang merugikan, hal ini dapat dikarenakan oleh pengunaan janka panjang, peningkatan radikal bebas akibat metabolisme obat serta jenis antibiotik yang di pergunakan. Antibiotik dari golongan Aminoglikosida, Macrolida, Tetraxyclin dan obat golongan sulfat diketahui memiliki implikasi terhadap kejadian infertilitas pria.

Kelompok antibiotik dari golongan aminoglikosida seperti kanamycin dan gentamycin menyebabkan kesalahan penerjemahan dan efek inhibisi pada proses translokasi t-RNA dan m-RNA bakteri. Inti niamin pada antibiotik golongan aminoglikosida memediasi sequence spesifik yang berikatan pada situs-A ribosom (Salian *et al*, 2012). Kanamycin dipergunakan secara injeksi intra muskular pada areal gluteal dengan dosis yang disesuaikan berdasarkan berat badan resipien, pada kasus infeksi Ghonorhea kanamycin umum dipergunakan sebgai alternative pengobatan yang dipilih ketika terjadi resisitensi antibiotik lain (WHO, 2016). Penggunaan kanamycin sebagai antibiotik diketahui menginterfensi perkembangan ribosom sehingga mengakibatkan ribosom mensintesis polipeptida yang tidak lengkap, hal ini diketahui dapat bekerja baik terhadap bakteri namun memberikan efek samping berupa peninkatan translokasi pada membran sel yang dapat berakibat pada stress seluler (Liu & Imlay, 2013).

Dilaporkan bahwa toksisitas kanamycin dapat meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diterima. Tidak hanya itu dari beberapa penelitian diketahui bahwa kanamycin dapat meningkatkan reactive oxygen species (ROS) (Ye *et al*, 2018). beberapa laporan tentang peningkatan kadar ROS yang berujung pada kematian sel akibat pengunaan antibiotik golongan aminoglikosida (kanamycin dan gentamycin) masih di perdebatkan. Penelitian yang dilakukan oleh Keren *et al* (2013) mengemukakan bahwa peran antimikrobial tertentu dalam menekan proses infeksi tanpa menginduksi ROS, namun beberpa antimikrobial seperti ofloxacin bekerja dipengaruhi oleh kadar oksigen tubuh terutama keadaan anoksia dan secara luas menekan bakteri memalui jalur ROS bebas. Zhao et al (2014) menemukan bahwa aktifitas antibiotik dapat mengakibatkan dampak primer pada sel, kerusakan yang diterima sel dapat di tanggulangi dengan keberadaan antioksidan dan peningkat ion besi. Disamping itu dampak lanjut mengakibatkan akumulasi radikal bebas yang menyebabkan dampak sekunder yang berakhir pada kematian sel.

Radikal bebas berperan aktif dalam memicu terjadinya penurunan populasi sel didalam tubuh. Kematian sel melalui jalur apoptosis dan nekrosis menjadi dampak terburuk, hal ini pula dikaitkan sebagai faktor utama dalam kejadian oligozoospermia dan aglutinasi spermatozoa (Agarwal *et al*, 2008). Peingkatan ROS sebagai radikal bebas didalam spermatozoa mengakibatkan sel germinal mengalami stres oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan DNA sel spermatogenik. Perubahan pada gen yang di bawa spermatozoa dapat berakibat pada kesalahan pengkodean yang berujung pada penurunan populasi dan kecacatan spermatozoa, lebih lanjut transformasi pada proses spermiogenesis menimbulkan dampak tersendiri berupa perlekatan spermatozoa yang dikenal dengan aglutinasi sel sperma (Adewoyin *et al*, 2017). Peningkatan ROS pada sel spermatogenik juga diketahui dapat memicu agregasi leukosit yang selanjutnya menginterfensi fungsi spermatozoa dengan mengaktivasi jalur peroksidasi lipid membran, dengan demikian kapasitasi akrosomal akan terjadi didalam tubulus seminiferus. Namun secara garis besar hubungan langsung ROS terhadap kejadian aglutinasi spermatozoa masih sangat sedikit dan perlu dilakukan uji lanjut (AUA, 2010). Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh antibiotik kanamycin terhadap prevalensi kejadian aglutinasi spermatozoa.

**METODE**

 Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan desain peneltian *post test only control group design*. yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan perlakukan dengan kelompok kontrol. Populasi penelitian adalah tikus jantan Wistar yang berumur 2-3 bulan, dengan berat badan kira-kira 300 – 350 gr. Besar sampel dalam penelitian sebanyak 24 ekor. Untuk perlakuan hewan coba dan pemeriksaan Aglutinasi spematozoa dilakukan di Laboratorium Anatomi Fisiologi Stikes Piala Sakti Pariaman. Variabel independen adalah kanamycin dosis bertingkat dan variabel dependen adalah Aglutunasi spermatozoa.

Prosedur Kerja: Tikus dikelompokan empat kelompok: 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan perlakuan 5 hari, 10 hari dan 15 hari. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Tiap kelompok perlakuan di berikan kanamycin sulfat dengan dosis 10, 15 dan 20 mg/bb/hari (Susitijawati, 1996). Ruang uji di kontrol dengan siklus terang gelap. Diakhir masa penelitian tikus dikorbankan untuk nanti diambil cauda epididimis dengan jalan melakukan pembedahan pada testis tikus. Epididimis yang telah diambil disayat dan di letakkan ke dalam botol fial 10 ml dimana diisi dengan cairan fisiologi 0,9% sebanyak 5ml. Cauda epididmis di diamkan selama 15 menit agar spermatozoa keluar selanjutnya cairan diambil 0,5 ml dan ditambahkan larutan Gorge sebanyak 0,5ml daiduk agar homogen. 10μl cairan diambil menggunakan pipet tetes dan di letakkan ke dalam kotak hemositometer Improved Neubauer kemudian dihitung jumlah aglutinasi per lapang pandang dengan mengunakan drajat *agglutination grade WHO*.

Sebelum di lakukan uji statistik terhadap hubungan antar kelompok terlebih dahulu data diuji kenormalitasan data menggunakan uji Kolmogorov Smirnov. Kemudian data dianalisis menggunakan uji statistik parametrik *One Way Anova*, dilanjutkan dengan uji *Multiple Comparisons* (*post hoc test*) jenis Bonferroni.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Tabel 1**. Rata-rata jumlah aglutinasi spermatozoa hewan coba yang diberi kanamycin dosis bertingkat (n=24)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Kelompok** | **Rata-rata ± SD** | **P** |
| Kontrol | 6,50 ± 0,547 | 0,000 |
| P1 | 17,00 ± 3,687 |
| P2 | 29,33 ± 4,273 |
| P3 | 38,17 ± 1,834 |

Bedasarkan Tabel 1. diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dengan P value 0.00. hal ini membuktikan bahawa pemberian antibiotik kanamycin golongan aminoglikosida dengan dosis bertingkat pada hewan coba dapat mengakibatkan aglutinasi spermatozoa. Perlekatan spermatozoa dapat diakibatkan keslahan informasi yang terjadi pada proses spermatogenesisi ataupun spermiogenesis. Penelitian Khaki (2015) yang menilai efeksamping penggunaan antibiotik golongan aminoglikosida dan flouroquinolon terhadap sperma dan jaringan reproduksi hewan coba, menemukan bahwa beberapa antibiotik dari golongan aminoglikosida memiliki pengaruh yang signifikan terhadap jumlah spermatozoa dan jaringan reproduksi hewan coba. Dari penelitian ini juga diketahui bahwa beberapa antibiotik memeiliki efek yang berbeda terhadap kejadian apoptosis dan kusakan jaringan reproduksi.

Kanamycin diketahui memiliki efek meruksa pada sebagian besar spermatozoa mamalia (Hasan *et al*, 2001). Kerusakan yang terjadi pada spermatozoa di mungkinkan adanya mutasi pada DNA sel dan mitokondria yang terjadi akibat adanya induksi radikal bebas dan kerusakan pada membaran sel (Gao *et al*, 2017). Reactive Oxygen Species atau yang lebih dikenal dengan ROS merupakan hasil sampingan dari proses kerja aminoglikosida di dalam tubuh. ROS memiliki kemampuan mengurangi kemampuan sel dalam mengatur homeostasis yang berujung pada ketidak seimbangan secara fisiologis (Acharya *et al*, 2012). penelitian yang dilakukan Sha & Schacht (1999) menguatkan bahwa antibiotik kelompok aminoglikosida menginduksi peningkatan radikal bebas pada kelompok yang di berikan antibiotik. Gambaran aglutinasi kelompok perlakuan dan kontrol terlihat pada gambar 1.



b

a

**Gambar 1**. Perbandingan sglutinasi spermatozoa hewan coba (a) kondisi spermatozoa kelompok kontrol; (b) aglutinasi spermatozoa yang terjadi pada kelompok perlakuan.

Didalam tubuh reaksi radikal bebas terhadap struktur membran dapat mengakibatkan perubahan struktural sehingga permeabilitas membran semakin meningkat, hal ini dapat mengakibatkan lisis sel yang berujung pada kerusakan sel dalam skala yang besar. Aglutinasi merupakan kelainan umum yang terjadi dikarenakan adanya proses reaksi inflamsi yang terjadi di tubulus seminiferus (Agarwal *et al*, 2008). Perubahan morfologis pada spermatozoa tidak hanya dikarenakan kerusakan struktural membran namun juga diikuti oleh kerusakan DNA dan subunit ribosom yang mengakibatkan kesalahan translasi. Peningkatan kerusakan DNA memiliki korelasi yang kuat terhadap kerusakan struktur dan jumlah kejadian apoptosis pada soermatozoa (Khodair & Omran, 2013).

Dilaporkan bahwa toksisitas kanamycin dan peningkatan reactive oxygen species (ROS) dapat meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diterima (Ye *et al*, 2018). Hal yang sama juga ditemukan pada penelitian ini. Dari hasi uji lanjut diketahui bahwa kelompok kontrol memiliki perbedaan yang bermakna terhadap semua kelompok perlakuan. Kemudian kelompok P1 memiliki perbedaan bermakna kepada kelompok P2 dan P3, begitu pula pada kelompok P2 memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok P3 **(Gambar 2)**.



**Gambar 2**. Uji lanjut kemaknaan jumlah aglutinasi spermatozoa antar kelompok hewan coba yang diberi kanamycin dosis bertingkat (n=24)

**SIMPULAN**

Laporan WHO (2018) menemukan bahwa peningkatan dosis kanamycin memerikan efek yang signifikan terhadap perubahan fisiologis tubuh dan sistem keseimbangan. Penngunaan antibiotik dalam dalam pengobatan perlu dilakukan pengkajian terutama asupan dosis yang aman tidak hanya kepada efektifitas dalam menekan agen infeksius namun juga harus memenuhi standar aman untuk sel tubuh. Laporan penelitian Onyije (2011) yang melakukan studi literatur menemukan bahwa banyak laporan bahwa antibiotik menjadi faktor utama dalam kejadian infertilitas selain rokok, alkohol, dan zat adiktif lain. Tidak hanya itu kerusakan yang dapat di timbulkan dari konsumsi antibiotik juga di ketahui dapat menimbulkan kegagalan ereksi (impotensi), penurunan motilitas spermatozoa, penurunan jumlah sel sperma, imaturasi spermatozoa, gonadotoksik, dan sejumlah malfungsi lainnya.

**DAFTAR PUSTAKA**

Acharya, C., Thakar, H., Vajpeyee, SK. 2012. A Study of Oxidative Stress in Gentamicin Induced Nephrotoxicity and Effect of Antioxidant Vitamin C in Wistar Rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy & Pharmacology*, 3(1), 14-20

Adewoyin, M., Ibrahim, M., Roszaman, R., Isa, MLM., Alewi, NAM, Rafa, AAA., & Anuar, MNN. 2017. Male Infertility: The Effect of Natural Antioxidants and Phytocompounds on Seminal Oxidative Stress. *Diseases*, 5(9), 1-26

Agarwal, A., Bragais, FM., & Sabanegh, E. 2008. Assessing Sperm Function. *Urologic Clinics of North America*, 35, 157-171

American Urological Association. 2010. *The Optimal Evaluation of the Infertile Male: AUA Best Practice Statement*. USA: AUA Publisher

Gao, Z., Chen, Y., & Guan, M. 2017. Mitochondrial DNA mutations associated with aminoglycoside induced ototoxicity. *Journal of Otology*, 12, 1-8

Hasan, S., Andrabi, SMH., Muneer, R., Anzar, M., & Ahmad, N. 2001. Effects of A New Antibiotic Combination on Post-Thaw Motion Characteristics and Membrane Integrity of Buffalo and Sahiwal Bull Spermatozoa and On The Bacteriological Quality of Their Semen. *Pakistan Vet Journal*, 21(1), 6-11

Keren, I., Wu, Y., Inocencio, J., Mulcahy, LR., & Lewis, K. 2013. Killing by Bactericidal Antibiotics Does Not Depend on Reactive Oxygen Species. *Science*, 339, 1213-1216

Khaki, A. 2015. Assessment on the adverse effects of Aminoglycosides and Flouroquinolone on sperm parameters and male reproductive tissue: A systematic review. *Iran Journal Reproduction Medication*, 13(3), 125-134

Khodair, HA., & Omran, T. 2013. Evaluation of reactive oxygen species (ROS) and DNA integrity assessment in cases of idiopathic male infertility. *Egyptian Journal of Dermatology and Venereology*, 33, 51-55

Liu, Y., & Imlay, JA. 2013. Cell death from antibiotics without the involvement of reactive oxygen species. *Science*, 339(6124), 1210-1213

Onyije, FM. 2012. Drug: A Major Cause of Infertility in Male. *Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Research*, 2(2), 30-37

Salian, S., Matt, T., Akbergenov, R., Harish, S., Meyer, M., Duscha, S., Shcherbakov, D., Bernet, BB., Vasella, A., Westhof, E., & Bottger, EC. 2012. Structure-Activity Relationships Among The Kanamycin Aminoglycosides: Role of Ring I Hydroxyl and Amino Groups. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(12), 6104-6108

Schlegel, PN., Chang, TSK., Marshall, FF. 1991. Antibiotics: Potential Hazards to Male Fertility. *Fertility and Sterility*, 55(2), 235-245

Sha, S., & Schacht, J. 1999. Stimulation of Free Radical Formation by Aminoglycoside Antibiotics. *Hearing Research*, 128, 112-118

Susetijawati, E. 1996. Pengaruh Pemberian Kanamicyn Sulfat Terhadap Perubahan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus).

World Health Organization. 2016. *WHO Guidelines for The Treatment of Neisseria gonorrhoeae*. Switzerland: WHO Publication

World Health Organization. 2017. *WHO Laboratory Manual for The Examination and Processing of Human Semen: Fifth Edition*. Switzerland: WHO Publication

World Health Organization. 2018. *Kanamycin (as Acid Sulfate) Powder for Injection 500 mg*. Switzerland: WHO Publication

Ye, J., Su, Y., Lin, X., Lai, S., Li, W., Ali, F., Zheng, J., & Peng, B. 2018. Alanine Enhances Aminoglycosides-Induced ROS Production as Revealed by Proteomic Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 9(29), doi: 10.3389/fmicb.2018.00029