**PERBEDAAN MORFOLOGI DAN FRAGMENTASI DNA PADA SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR PASCA INDUKSI BERBAGAI MODEL STRES *SLEEP DEPRIVATION***

**Norina Agatri1, Fitranto Arjadi2, Lantip Rujito3 , Yulia Sistina4, Eman Sutrisna5**

1. Pascasarjana Magister Ilmu Biomedis, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman
2. Departemen Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman
3. Departemen Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman
4. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman
5. Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman

Email : norina.agatri@yahoo.com

**ABSTRAK**

**Latar belakang**:*Sleep deprivation* dapat menimbulkan stres dan mempengaruhi kesehatan reproduksi. Pengurangan waktu tidur dapat berhubungan dengan mekanisme stres oksidatif akibat ketidakseimbangan antara pembentukan dan eliminasi *reactive oxygen species.* Kerusakan DNA, lipid, dan protein menyebabkan modifikasi ekspresi genetik yang menyebabkan kelainan morfologi dan Fragmentasi DNA yang diketahui sebagai parameter dan nilai diagnostik dalam uji infertilitas. Sleep deprivation dapat diperbaiki setelah dilakukan *sleep recovery.*

**Tujuan:** Mengetahui perbedaan morfologi dan fragmentasi DNA spermatozoa dengan berbagai metode stres *sleep deprivation* pada tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan.**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post-test only with control group design*. Sebanyak 30 ekor tikus putih galur wistar dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yaitu kontrol, PSD, TSD, PSD+SR, dan TSD+SR.**Hasil:** Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap morfologi abnormal spermatozoa (p<0,05). Rerata morfologi abnormal tertinggi ada pada kelompok TSD sebesar 89,5%. Pada Fragmentasi DNA spermatozoa juga menunjukkan terdapat perbedaan pada semua kelompok perlakuan. Rerata nilai fragmentasi DNA dengankriteria sedang ada pada kelompok kontrol, PSD+SR dan TSD+SR. Kriteria Indeks fragmentasi DNA buruk ada pada kelompok PSD dan TSD sebesar 30,16% dan 31,4%.**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan morfologi dan fragmentasi DNA spermatozoa pada tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan pasca induksi berbagai model stres *sleep deprivation*

**Kata kunci :** *sleep deprivation*, morfologi spermatozoa, Fragmentasi DNA, *paradoxical sleep deprivation*, *sleep recovery*

**PENDAHULUAN**

Tidur adalah proses pemulihan tubuh yang berperan penting dalam kesehatan fisik maupun psikologis. Kebutuhan tidur seseorang bervariasi dan dapat digolongkan menurut usia. Rata – rata kebutuhan tidur seseorang pada usia menengah berkisar antara 7-9 jam per hari dan 7-8 jam untuk seseorang pada usia 65 tahun ke atas. Namun, seiring bertambahnya usia, kebutuhan tidur seseorang menjadi berkurang dikarenakan berbagai macam aktivitas yang ditandai dengan berkurangnya durasi tidur saat malam hari. Jumlah waktu tidur yang hilang untuk periode tertentu dari waktu tidur optimal yang dibutuhkan dan menimbulkan gangguan siklus tidur disebut juga dengan *sleep deprivation* (SD).1

*Sleep deprivation* dapat menimbulkan stres dan mempengaruhi kesehatan tubuh. Pengurangan waktu tidur dapat berhubungan dengan mekanisme stres oksidatif akibat ketidakseimbangan antara pembentukan dan eliminasi *reactive oxygen species* (ROS). Seseorang yang terlalu sering terpapar stress oksidatif dapat menganggu kesuburan, terutama pada pria melalui jalur spermatogenesis dan fungsi ereksi. Di Indonesia terdapat 40% pasangan usia subur dan 10% diantaranya mengalami infertilitas. Faktor gangguan pada pria memiliki proporsi 40% dari penyebab infertilitas. Salah satu cara untuk menentukan nilai diagnostik infertilitas pria adalah dengan analisis spermatozoa. Sebesar 25 % hasil analisis spermatozoa menunjukkan hasil teratozoozpermia atau abnormalitas pada morfologi spermatozoa.2,3,4

*Sleep deprivation* dapat menyebabkan stres yang memengaruhi kualitas spermatozoa diketahui melalui jalur aktivasi aksis *hypothalamus pituitary adrenal* (HPA) dan berefek pada produksi glukokortikoid. Produksi glukokortikoid yang berlebihan menurunkan produksi *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) oleh hipotalamus yang selanjutnya menurunkan produksi *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH)5. Penurunan jumlah FSH dan LH menyebabkan penurunan sekresi testosteron Kadar testosteron yang menurun menyebabkan nutrisi untuk spermatogenesis akan terganggu. Peningkatan glukokortikoid juga menyebabkan stres oksidatif yang disebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Pengaruh dari penurunan testosteron dan peningkatan produksi ROS berperan terhadap gangguan spermatogenesis.6,7

Pria dengan fragmentasi DNA tinggi kemungkinan mengalami infertilitas semakin besar dan akan mempengaruhi kualitas sperma yang salah satunya adalah morfologi sperma.Morfologi spermatozoa dapat menunjukkan integritas DNA dan kualitas dari spermatozoa terutama pada bentuk kepala sperma.8 Ada korelasi positif antara fragmentasi DNA terhadap morfologi sperma9 dan saat ini telah dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan integritas DNA sebagai pelengkap dari pemeriksaan analisis sperma pada kasus infertilitas pria.

Stres karena *sleep deprivation* pada manusia dapat disamakan dengan berbagai model stres pada hewan coba yaitu *paradoxical sleep deprivation* (PSD) dan *total sleep deprivation* (TSD)10. Ada penurunan kualitas spermatozoa pada kelompok hewan coba yang diberi perlakuan berbagai model *sleep deprivation.*11Dampak dari *sleep deprivation* dapat diperbaiki dengan *sleep recovery* yaitu waktu tidur yang diberikan setelah dilakukan *sleep deprivation*.12*Sleep recovery* dapat mengembalikan produksi dan pematangan spermatozoa seperti semula.11 Penelitian yang mengetahui tentang perbedaan berbagai parameter uji fertilitas oleh karena stress belum pernah dilakukan sebelumnya, maka dari itu peneliti tertarik untuk meneliti lebih lanjut perbedaan morfologi dan fragmentasi DNA dalam hal itu sperma tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar pasca induksi melalui berbagai model stress sleep deprivation.

## METODE

Penelitian ini merupakan *trueexperimental* dengan *post-test only with control grup design* terhadap hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar usia 3-4 bulan dengan berat badan 200-300 gram yang diberikan induksi berbagai stres *sleep deprivation.*Induksi stres, antara lain dengan model *paradoxical sleep deprivation, total sleep deprivation, paradoxical sleep deprivation* dengan *sleep recovery*, dan *total sleep deprivation* dengan *sleep recovery*. Semua model stres tersebut menggunakan tangki *modified multiple platform method* (MMPM) berukuran 123 x 44 x 35 cmdan berisi air dilengkapi dengan 12 platform dengan ukuran 6,5 cm dan jarak antar platform 10 cm dimana terdapat 5 ekor hewan coba tikus pada 1 tangkiyang dilengkapi alat *muscle atonia* yang memberikan efek kejut secara otomatis setiap 10 menit pada hewan coba13.

Subjek penelitian ini berupa 30 ekor tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan umur 3-4 bulan dengan berat 200-300 gram yang diperoleh dari Bagian Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran UGM. Semua eksperimen yang dilakukan pada penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok yang sebelumnya dibagi secara acak dan diberi perlakuan selama 5 hari, kecuali pada kelompok yang ditambah dengan *sleep recovery* Kelompok penelitian ini antara lain,kelompok kontrol sehat (KI), kelompok*paradoxical sleep deprivation*(KII),kelompok*total sleep deprivation*(KIII),kelompok *paradoxical sleep deprivation*dilanjutkanpemberian *sleep recovery* selama 5 hari (KIV),kelompok *total sleep deprivation*dilanjutkan pemberian *sleep recovery* selama 5 hari (KV) yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih.

Semua sampelhewan cobadilakukan aklimatisasi selama 7 hari sebelum diinduksi berbagai meteode *sleep deprivation*. Setelah dilakukan aklimatisasi, kelompok I tidak diberi perlakuan stres, kelompok II dan IV diberi perlakuan stres PSD selama 120 jam, serta kelompok III dan V diberi perlakuan stres TSD selama 120 jam. Kelompok I, II, III kemudian dikembalikan kekeadaan semula sedangkan kelompok IV dan V akan dilanjutkan dengan *sleep recovery* selama 120 jam dan selanjutnya dikembalikan kekeadan semula.

**HASIL**

**Morfologi Spermatozoa**

Gambaran morfologi normal dan abnormal spermatozoa tikus putih jantan galur Wistar telah didapatkan dari semua sampel pada masing-masing kelompok perlakuan. Morfologi normal spermatozoa setelah pengecatan menggunakan eosin–nigrosin dengan pembesaran 100x, seperti terlihat dalam Gambar 1 dan gambaran abnormal dalam Gambar 2 :

**10 µm**

**Gambar 1**.Spermatozoa normal tikus putih jantan galur Wistar.Gambaran morfologi spermatozoa normal yang terdiri dari kepala (tanda panah), leher sebagai penghubung dan ekor yang berperan dalam pergerakan spermatozoa.



**Gambar 2**.Mikrograf Spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus Noorvegicus*) galur Wistar pada perlakuan *sleep deprivation* dengan pewarnaan eosin–nigrosin nampak spermatozoa abnormal antara lain (a) ekor melingkar (b) ekor menebal dan pendek (c) leher memanjang dan bagian tengah ekor tampak rusak (d) tampak cekungan di bagian leher (e) tidak memiliki kepala dan leher (tanda panah), hanya terdiri dari ekor, (f) penebalan dibagian tengah,ekor menggumpal dan pendek.

**10 µm**

Data analisa deskripsi rerata jumlah morfologi spermatozoa disajikan dalam Tabel 1, rerata morfologi normal hewan coba tertinggi terdapat pada kelompok PSD+SR (47,0 ± 15,58) dan rerata terendah terdapat pada kelompok TSD (21,0 ± 7,2). Rerata morfologi abnormal spermatozoa hewan coba tertinggi terdapat pada kelompok TSD (179,00 ± 7,21) sedangkan rerata terendah terdapat pada kelompok PSD+SR (153,00 ± 15,58).

**Tabel 1.**Rerata (**± SD)**  persentase Spermatozoa Cauda Epididimis Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus) galur Wistar* dengan morfologi normal dan abnormal pasca perlakuan induksi *sleep deprivation*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Kelompok** | **N** |  | **Morfologi normal** |  | **Morfologi abnormal** |
| **Rerata ± SD** | **%** | **Min** | **Max** | **Rerata ± SD** | **%** | **Min** | **Max** |
| Kontrol | 5 | 39,2 ± 5,40 | 19,6% | 34 | 48 | 160,80 ± 5,40 | 80,4% | 152 | 166 |
| PSD | 5 | 38,8 ± 5,58 | 19,4% | 34 | 48 | 159,20 ± 9,85 | 79,6% | 142 | 166 |
| TSD | 5 | 21,0 ± 7,21 | 10,5% | 10 | 30 | 179,00 ± 7,21 | 89,5% | 170 | 190 |
| PSD + SR | 5 | 47,0 ± 15,58 | 23,5% | 20 | 60 | 153,00 ± 15,58 | 76,5% | 140 | 180 |
| TSD + SR | 5 | 38,0 ± 1,67 | 19% | 36 | 40 | 161,40 ± 1,67 | 80,7% | 160 | 164 |

Hasil analisis statistik dilakukan normalitas data menggunakan *saphiro wilk*karena sampel ≤ 50 dengan nilai p>0,05 dan nilai uji varian p>0,005 menunjukkan data terdistribusi homogen Uji statistik dilanjutkan menggunakan uji parametrik *one-way* ANOVA dan didapatkan hasil p=0,002 (p<0,05) pada morfologi spermatozoa normal dan p=0,004 (p<0,05) pada morfologi spermatozoa abnormal. Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap morfologi spermatozoa normal dan abnormal.

Uji P*ost hoc* LSD dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antara masing- masing perlakuan pada kelompok sampel. Pada Tabel 2 menunjukkan hasil signifikan rerata morfologi spermatozoa normal terhadap perlakuan stress *sleep deprivation* pada semua kelompok. Kelompok dengan hasil yang signifikan p=0,000 (p<0.05) yaitu kelompok kontrol terhadap kelompok TSD, kelompok PSD terhadap kelompok TSD, kelompok PSD+SR terhadap TSD, kelompok PSD+SR dan TSD+SR dan kelompok TSD terhadap PSD+SR. Perbedaan bermakna terdapat pada kelompok TSD.

**Tabel 2.**Uji *Post hoc* Rerata Morfologi Normal Spermatozoa Spermatozoa Cauda Epididimis Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus)* galurWistar pada setiap kelompok Perlakuan *Sleep Deprivation*

|  |  |
| --- | --- |
| **Kelompok** | **Nilai P value** |
| **Kontrol** | **PSD** | **TSD** | **PSD+SR** | **TSD+SR** |
| **Kontrol** |  | 0.941 | 0.003\* | 0.161 | 0.912 |
| **PSD** | 0.941 |  | 0.003\* | 0.141 | 0.971 |
| **TSD** | 0.003\*  | 0.003\* |  | 0.000\*\* | 0.132 |
| **PSD+SR** | 0.161 | 0.141 | 0.000\*\* |  | 0.004\* |
| **TSD+SR** | 0.912 | 0.971 | 0.004\* | 0.132 |  |

Keterangan : \* p<0.05

 \*\* p<0.01

Uji *Post Hoc* rerata morfologi spermatozoa abnormal pada Tabel 3 menunjukkan ada perbedaan yang signifikan pada morfologi abnormal spermatozoa terhadap perlakuan stress *sleep deprivation* pada kelompok TSD, PSD dan PSD+SR.

**Tabel 3.**Uji *Post-hoc* Rerata Morfologi Abnormal Spermatozoa Cauda Epididimis Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus) galur Wistar* pada setiap kelompok Perlakuan *Sleep Deprivation***.**

|  |  |
| --- | --- |
| **Kelompok** | **Nilai P value** |
| **Kontrol** | **PSD** | **TSD** | **PSD+SR** | **TSD+SR** |
| **Kontrol** |  | 0.786 | 0.005 | 0.196 | 0.919 |
| **PSD** | 0.786 |  |  0.003\* | 0.300 | 0.710 |
| **TSD** | 0.005 |  0.003\* |  | 0.000\*\* | 0.007  |
| **PSD+SR** | 0.196 | 0.300 |  0.000\*\* |  | 0.165 |
| **TSD+SR** | 0.919 | 0.710 | 0.007 | 0.165 |  |

Keterangan : \* p<0.05

 \*\* p<0.01

Kelompok dengan hasil yang signifikan p=0,000 (p<0.05) yaitu kelompok PSD terhadap kelompok TSD dan kelompok PSD+SR terhadap kelompok TSD. Perbedaan bermakna terdapat pada kelompok TSD

**Fragmentasi DNA Spermatozoa**

Metode untuk melihat fragmentasi DNA Spermatozoa pada kelompok perlakuan adalah metode SCD (*Sperm Chromatin Dispersion*) menggunakan Halomax® Halotech kit. Dari semua sampel terdapat 4 kriteria yaitu halo besar, halo sedang, halo kecil dan tanpa halo, yang terdapat pada Gambar 3 :



**c**

**d**

**a**

**10 µm**

**b**

**Gambar 3**.Hasil fragmentasi DNA spermatozoayang dilihat menggunakan mikroskop elektron setelah pengecatan menggunakan giemsa dengan pembesaran 400x (a) halo dengan ukuran besar. (b) Halo dengan ukuran sedang, (c) halo dengan ukuran kecil dan (d) tidak tampak halo.

Hasil pemeriksaan fragmentasi DNA disebut indeks fragmentasi DNA (IFD) yang diperoleh dari presentase total spermatozoa dengan halo ukuran kecil ditambahkan dengan yang tidak tampak halo. IFD diklasifikasikan menjadi tiga yaitu baik, sedang, dan buruk.Pada Tabel 4 menunjukkan rerata kelompok dengan klasifikasi IFD.

**Tabel 4.**Rerata nilai fragmentasi DNA spermatozoa

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Kelompok** | **N** | **Rerata** | **IFD** | **P** |
| Kontrol | 5 | 15,8 % | Sedang |  |
| PSD | 5 | 30,16 % | Buruk |  |
| TSD | 5 | 31,4 % | Buruk | 0,023 |
| PSD+SR | 5 | 25,16 % | Sedang |  |
| TSD+SR | 5 | 23,48 % | Sedang |  |

Data persentase rerata fragmentasi DNA spermatozoa pada kelima kelompok perlakuan terdapat pada Tabel 4.Rerata nilai fragmentasi DNA dengan kriteria Indeks Fragmentasi DNA sedang ada pada kelompok kontrol, kelompok PSD+SR dan kelompok TSD+SR. Kriteria Indeks Fragmentasi DNA buruk ada pada kelompok PSD dan TSD sebesar 30,16% dan 31,4%.Dari persentase data tersebut dilakukan uji *Kruskall Wallis*.Uji *Kruskall Wallis* dilakukan karena merupakan uji nonparametrik dengan data kategorik.

**Tabel 5.**Uji *Kruskall Wallis* Fragmentasi DNA Spermatozoa pada setiap kelompok perlakuan Stress *Sleep Deprivation*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Kelompok** | **N** | **Rerata** | **Indeks Fragmentasi DNA** |
| Kontrol | 5 | 15,8 % | Sedang |
| PSD | 5 | 30,16 % | Buruk |
| TSD | 5 | 31,4 % | Buruk |
| PSD+SR | 5 | 25,16 % | Sedang |
| TSD+SR | 5 | 23,48 % | Sedang |

Tabel 5 menunjukkan hasil signifikan yaitu p=0,023 (p < 0,05) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada fragmentasi DNA spermatozoa terhadap perlakuan stress *sleep deprivation* pada semua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan maka dilakukan analisis *Post Hoc* dengan Uji *Mann-Whitney* yang terdapat pada Tabel 6.

**Tabel 6**. Uji *Mann-Whitney* Fragmentasi DNA Spermatozoa

|  |  |
| --- | --- |
| **Kelompok** | **Nilai P value** |
| **Kontrol** | **PSD** | **TSD** | **PSD+SR** | **TSD+SR** |
| **Kontrol** |  | 0.031\* | 0.020\* | 0.050 | 0,042\* |
| **PSD** | 0.031\* |  | 0.594 | 0.134 | 0.513 |
| **TSD** | 0.020\* |  0.020\* |  | 0.050 | 0.221 |
| **PSD+SR** | 0.050 | 0.134 | 0.050 |  | 0.317 |
| **TSD+SR** | 0.042\* | 0.513 | 0.221 | 0.317 |  |

Keterangan : \* p<0.05

 \*\* p<0.01

Terdapat perbedaan nilai fragmentasi DNA spermatozoa tikus putih jantan galur wistar yang signifikan (p<0.05) pada kelompok kontrol terhadap kelompok PSD, kelompok kontrol terhadap kelompok TSD, kelompok kontrol terhadap kelompok TSD+SR.

**PEMBAHASAN**

**Morfologi Spermatozoa**

Morfologi spermatozoa tikus pada kelompok perlakuan *sleep deprivation* ini rata – rata mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol hal ini disebabkan *sleep deprivation* yang menimbulkan stres dapat mengganggu sekresi hormon endokrin aksis pada manusia.14 Pada kelompok kontrol hasil morfologi abnormal banyak ditemukan spermatozoa tanpa kepala, spermatozoa tanpa ekor, spermatozoa dengan ekor patah, sehingga hasil yang didapat sebesar 80,4%, sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa morfologi abnormal spermatozoa didapatkan pada kelompok kontrol dengan kriteria sperma tanpa kepala, tanpa ekor, ekor patah, ekor melingkar dan ada kemungkinan kesalahan pada saat perlakuan setelah spermatozoa dikeluarkan dari epididimis.15

Abnormalitas morfologi spermatozoa juga dapat terjadi setelah proses spermiasi yaitu setelah spermatozoa diejakulasikan ke luar dari testis melewati saluran reproduksi atau kesalahan preparasi yang secara umum merupakan kelainan morfologi spermatozoa pada bagian ekor.16Faktor penyebab kejadian infertilitas juga tidak terlepas dari produksi spermatozoa, gangguan hormonal seperti hormon testosterone dan salah satu faktor risiko terjadinya infertilitas adalah kurangnya kualitas tidur atau gangguan tidur.17 Hasil penelitian ini, morfologi spermatozoa normal dengan rerata paling tinggi terdapat pada kelompok PSD+SR dengan pemulihan waktu tidur selama 5 hari, sedangkan rerata morfologi normal spermatozoa yang paling rendah terdapat pada kelompok TSD, kelompok yang mengalami gangguan tidur selama 24 jam. Stres akibat gangguan tidur sesuai dapat mengakibatkan penurunan aktivitas aksis HPG (*hypothalamic-pituitary-gonadal)*. Sekresi GnRH di hipotalamus mengawali aktivasi aksis HPG dan aktivitas aksis HPA, sehingga merangsang korteks adrenal untuk mengeluarkan kortisol.18

Penelitian ini terdapat perbedaan signifikan morfologi spermatozoa normal pada kelompok TSD terhadap hampir semua kelompok perlakuan, kurang tidur akan memicu kelainan hormonal, karena menyebabkan sindrom metabolik, yang dapat merubah seks pria, yang mana kurang tidur menunjukan pengurangan kadar testosterone sehingga mempengaruhi korteks adrenal untuk merangsang pengeluaran kortisol.19Gangguan tidur diketahui menyebabkan perubahan pada pola sekresi endokrin karena bersifat sebagai stresor.18 Kelompok yang melakukan *sleep recovery* mengalami perbaikan morfologi normal spermatozoa, pengukuran kadar hormon testoteron dan LH setelah diberi perlakuan *sleep deprivation* dan diberikan *sleep recovery* selama 5 hari akan mengalami peningkatan dibanding kelompok perlakuan *sleep deprivation* saja.20

Sesuai dengan penelitian ini, bahwa kelompok PSD+SR dan TSD+SR menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan kelompok TSD. Pada kelompok PSD meski tidak mendapatkan perlakuan *sleep recovery* namun diberikan waktu istirahat selama 4 jam, ada proses perbaikan homeostasis karena efek dari kompensasi gangguan tidur yang dialami selama 20 jam. Periode 5 hari pemulihan dipilih karenamenunjukkan bahwa 24 jam tidurcukup untuk sepenuhnya menormalkan parameter tidursetelah 5 hari perlakuan *sleep deprivation*, meskipun merekatidak cukup untuk sepenuhnya membalikkan jam tidur yang normal.21

**Fragmentasi DNA Spermatozoa**

Dalam studi ini terdapat perbedaan signifikan fragmentasi DNA spermatozoa setelah diinduksi model perlakuan stress *sleep deprivation* pada semua kelompok. Didapatkan p = 0,023 (p<0,05) yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna fragmentasi DNA spermatozoa pada tikus yang mengalami stress *sleep deprivation*. Peningkatan IFD terdapat pada pria dengan peningkatan ROS pada spermatozoa. Peningkataan ROS akan berperan pada replikasi DNA yang tidak tepat, kerusakan DNA dan kesalahan sintesis protein yang dapat berakibat pada infertilitas.5,7 Kelompok TSD dan PSD mendapatkan indeks fragmentasi DNA buruk, hal ini berarti *sleep deprivation* memiliki dampak langsung terhadap infertilitas pada priakarena fragmentasi DNA akan menentukan keberhasilan kehamilan.

DNA yang mengalami kerusakan akibat radikal bebas mengakibatkan terjadinya dekomposisi asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida yang sangat tidak stabil. Peroksidasi lipid juga dapat terdekomposisi oleh senyawa radikal bebas menjadi senyawa malondialdehyde (MDA).6,8 Peroksidasi lipid akan menyebabkan kerusakan struktur dan terganggunya metabolisme spermatozoa yang berakibat spermatozoa mati. Stress oksidatif dapat berasal dari kebocoran elektron mitokondria sperma.5,22 Stress oksidatif akan menyebabkan silang kromatin oksidasi basa DNA dan putusnya ikatan DNA.Spermatozoa matur hampir tidak memiliki sitoplasma sehingga DNA sperma lebih sensitif terhadap kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS.9

Stress oksidatif menginduksi perioksidasi lemak pada membran yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh sehingga mengurangi keencerannya dan menghasilkan kerusakan pada mitokondria dan DNA.22 Pada DNA spermatozoa terjadi oksidasi2-deoxsyguanosine menjadi 8-OH-2-deoxyguanosine yang menghasilkan kerusakan DNA dimana nukleotida yang sebelumnya berikatan dengan sitodin berpasangan dengan timin selama replikasi DNA.5Kelompok kontrol jika dibandingkan dengan kelompok PSD dan TSD terdapat perbedaan yang signifikan, bahwa kerusakan DNA karena stress oksidatif akan meningkat, pada kondisi *sleep deprivation* meskipun hanya berlangsung satu hari.23*Sleep deprivation* bertanggung jawab pada mekanisme neurobiologis yang terkait dengan stres serta proses oksidatif.kerusakan DNA karena stress oksidatif akan meningkat, pada kondisi *sleep deprivation* meskipun hanya berlangsung satu hari. *Sleep deprivation* bertanggung jawab pada mekanisme neurobiologis yang terkait dengan stres serta proses oksidatif.24*Sleep recovery* selama 4 jam tidak memberikan perbaikan bermakna pada fragmentasi DNA,25 hal ini sesuai dengan penelitian ini dimana fragmentasi DNA kelompok II (30,16 %) tidak berbeda bermakna dengan kelompok III (31,4%) dan keduanya masuk dalam kategori IFD yang buruk sekalipun diberikan waktu istirahat dengan *sleep recovery*. Hasil ini memperkuat hipotesis bahwa perilaku tidur dikaitkan dengan kualitas semen dan lebih lanjut menekankan perlunya untuk meneliti lebih lanjut secara komprehensif efek perilaku tidur pada kesehatan reproduksi pria.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini disimpulkan bahwa Secara keseluruhan perlakuan kelompok *total sleep deprivation* (TSD) adalah yang paling merusak morfologi normal menjadi abnormal spermatozoa dan indeks fragmentasi DNA dengan kriteria buruk pada cauda epididimis tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus)* galur Wistar. Perlakuan *parodoxycal sleep deprivation* (PSD) tidak merusak morfologi spermatozoa tetapi secara indeks fragmentasi DNA memiliki kriteria buruk. Perlakuan *sleep recovery* memperbaiki efek buruk dari *sleep deprivation* dari parameter morfologi spermatozoa dan indeks fragmentasi DNA. Model stres s*leep deprivation* dapat bersifat *irreversible* terhadap morfologi spermatozoa dan indeks fragmentasi DNA.

**KONFLIK KEPENTINGAN**

Tidak terdapat konflik kepentingan

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf laboratorium farmakologi, laboratorium anatomi dan laboratorium riset Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Orzel J, Gryglewska. 2009. Consequences of sleep deprivation. Review Papers : University of Gdansk Poland : 1-4.
2. Eacker,S. M.,Agrawal, N., Qian, K., Dichek, H. L., Gong, E. Y., Lee, K., Braun, R. E. 2008. Hormonal Regulation of Testicular Steroid and Cholesterol Homeostasis. *Molecular Endocrinology*. 22: 623-635.
3. Radstaak, M., Geurts SA., Beckers DG., Brosschot JF., Kompler MA. 2014. Work Stressors, perseverative cognition and objective study among Dutch helicopter Emegency Medical service (HEMS) Pilots. Journal of Occupational Health. 56(6): 469-77
4. Purwaningsing, Wahyu. Siswanto. 2013. Fragmentasi dna spermatozoa pada tikus jantan(rattus norvegicus) diabetes mellitus yang diinduksi streptozotocin dapat diturunkan dengan pemberian suspensi bubuk kedelai kuning. Prosiding Seminar Ilmiah Nasional Kesehatan : 171-178
5. Lestari, Silvia W, Triana Sari. 2015. Fragmentasi DNA Spermatozoa: Penyebab, Deteksi, dan Implikasinya pada Infertilitas Laki-Laki. Departemen Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 3(2): 152-160.
6. Alvarenga, Tathiana A., Hirotsu, Camila, Mazaro-Costa, Renata, Tufik, Sergio and Andersen, Monica L. 2015. Impairment of male reproductive function after sleep deprivation. Fertility and Sterility
7. Vidyawati, V.& Moeloek, N. 2000. Effectivity of Testosterone Contraception that caused Azoospermia and Oligospermia in Fertile Men. Majalah Kedokteran Indonesia. 50(8): 386-388.
8. Silva, P., & Gadella, B. 2006. Detection of Damage in Mammalian Sperm Cells. Theriogenology, 65: 958-978
9. Agarwal, A., Bragais, F., & Sabanegh, E. 2008. Assessing Sperm Function. Urologic Clinics of North America Journal., 35: 157-171
10. Arjadi, F., Partadireja, G., Maurits, L.S. and Pangestu, M., 2015. Paradoxical sleep deprivation changes testicular malondialdehyde and caspase-3 expression in male rats. Universa Medicina, 34(2) : 87-95
11. Alvarenga, Tathiana A., Hirotsu, Camila, Mazaro-Costa, Renata, Tufik, Sergio and Andersen, Monica L. 2015. Impairment of male reproductive function after sleep deprivation. Fertility and Sterility
12. Everson, C. A., Bergmann, B. M., & Rechtschaffen, A. 1989. Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. Sleep, 12(1):13-21
13. Zager, A., Andersen, M. L., Ruiz, F.S. Antunes, I.B. Taufik, S. 2007. Effect of Acute and Chronic Sleep Loss on Immune Modulation of Rats. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 293(1). 504-509.
14. Oh, M. M., J. W. Kim, M. H. Jin, J. J. Kim, D. G. Moon. 2012. Influence of Paradoxical Sleep Deprivation and Sleep Recovery on Testosterone Level in Rats of Different Ages. Asian Journal of Andrology. 14: 330-334
15. Dwijayanti, Fitria. A.A.S.A. Sukmaningsih. Suarni, Ni Made Rai. Sudirga, Sang Ketut. Parwanayoni, Ni Made Susun. 2017. Pemberian ekstrak buah juwet (syzygium cumini l.) Terhadap jumlah dan morfologi spermatozoa tikus putih (rattus sp.) Jantan yang terpapar asap rokok. Jurnal Simbiosis V (1): 20-24
16. Riyadhi, M., Arifiantini, R.I., Purwantara, B. 2010. Kajian Morfologi Spermatozoa Sapi Simmental di Beberapa Balai Inseminasi Buatan di Indonesia. Indonesian Journal of Veterinary Science & Medicine. Vol. 1(2): 1-6
17. Wahyuni, leni Tri, Adnil Edwin, Eliza Anas. 2015. Pengaruh Gangguan Tidur Terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Jumlah Spermatozoa pada Tikus Jantan Wistar. Jurnal Kesehatan Andalas. Vol 4 (3) :835-840
18. Nurdin, AE. 2013. Psikoneuroimunologi dasar. EGC: Padang: Edisi ke-5
19. Venancio DP, Andersen M, Santos FC. 2012. Sleep deprivation alters rat ventral prostate morphology leading to glandular atrophy: a microscopic study contrasted with the hormonal assays.
20. El-Aziz, E. A. A., Mostafa, D. G. 2012. Impact of Sleep Deprivation and Sleep Recovery on Reproductive Hormones and Testicular Oxidative Stress in Adult Male Rats. Al-Azhar Assiut Medical Journal. 10(3): 160-188
21. Hipolide, D. C. Suchecki, D. A. Pimentel de Carvalho Pinto, E. Chiconelli Faria, S. Tufik and J. Luz. 2006. Paradoxical Sleep Deprivation and Sleep Recovery: Effects on the Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis Activity, Energy Balance and Body Composition of Rats. Journal of Neuroendocrinology. Vol. 18, 231–238
22. Lewis SEM & Aitiken, 2005. DNA Damage To Spermatozoa Has Impacts On fertilization And Pregnancy. Cell Tissue Res 322 : 33-41
23. Villafuertee, Gabrielle., Adán Miguel-Puga, Eric Murillo Rodríguez, Sergio Machado, Elias Manjarrez, and Oscar Arias-Carrión. 2015. Sleep Deprivation and Oxidative Stress in Animal Models: A Systematic Review. Oxidative Medicine and Cellular Longevity.
24. Cheung, V., Yuen, V. M., Wong, G. T. C., & Choi, S. W. 2019. The effect of sleep deprivation and disruption on DNA damage and health of doctors. Anaesthesia
25. Jay, Sarah M. Nicole, Lamond. Fergusson, Sally A. Dorrian, Jillian. Jones. Christopher B. Dawson, Drew. 2007. The Characteristics Of Recovery Sleep When Recovery Opportunity Is Restricted. Sleep.Vol.30(3); 353-360

