

PENENTUAN WAKTU PERSETUBUHAN PADA *CANDIDIASIS VAGINALIS*: STUDI EKSPERIMENTAL PADA HEWAN MODEL

Raja Al Fath Widya Iswara^{1,2*}, Andon Hestiantoro³, Yuli Budiningsih³, Retno Asti Werdhani³, Ponco Birowo³,
Puspita Eka Wuyung³, Dedi Afandi⁴

¹Program Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, ²Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo, ³Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, ⁴Fakultas Kedokteran Universitas Riau
rajaalfath@uho.ac.id

ABSTRAK

Persetubuhan dapat terjadi pada berbagai usia dan kondisi baik fisiologis maupun patologis seperti infeksi vagina (*vaginitis*) dalam bentuk keputihan. Keputihan yang sering terjadi pada perempuan adalah *candidiasis*. Kondisi *candidiasis* akan menimbulkan perubahan pH dan jumlah neutrofil dalam vagina yang tentu saja akan mempengaruhi persistensi spermatozoa dalam vagina sehingga dapat mempengaruhi penentuan waktu terjadinya persetubuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penentuan waktu persetubuhan pada *candidiasis vaginalis*. Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dengan tikus jantan sebanyak 4 ekor untuk sampel spermatozoa dan tikus betina sebanyak 32 ekor untuk perlakuan. Tikus betina dibagi dalam dua kelompok yaitu kondisi normal dan model *candidiasis*. Pada kedua kelompok tikus betina diberikan perlakuan berupa inseminasi spermatozoa dalam vagina. Data dianalisa dengan uji *Mann Whitney*. Dari hasil penelitian didapatkan pada kondisi normal sperma masih dapat motil hingga menit ke-3 sedangkan pada model *candidiasis* hingga menit ke-2 setelah inseminasi sperma. Pada kondisi normal sperma masih persisten hingga hari ke-5 sedangkan pada model *candidiasis* hingga hari ke-3 setelah inseminasi sperma. Terdapat perbedaan motilitas maupun persistensi spermatozoa dalam vagina antara kondisi normal dan model *candidiasis* ($p = 0.001$).

Kata Kunci : *Candidiasis Vaginalis, Motilitas Spermatozoa, Persistensi Spermatozoa, Waktu Persetubuhan*

ABSTRACT

Sexual intercourse can occur at various ages and in both physiological and pathological conditions such as vaginal infections (vaginitis) in the form of vaginal discharge. Vaginal discharge that often occurs in women is candidiasis. The condition of candidiasis will cause changes in pH and the number of neutrophils in the vagina which of course will affect the motility and persistence of spermatozoa in the vagina so that it can influence the time since intercourse. This study aims to determine the time since intercourse in candidiasis vaginalis. This research was an experimental study using white rats (Rattus norvegicus) of the Wistar strain with 4 male rats for spermatozoa samples and 32 female rats for treatment. Female mice were divided into two groups, namely normal conditions and candidiasis models. In both groups, female mice were given treatment in the form of vaginal insemination of spermatozoa. Data were analyzed using the Mann Whitney test. From the study, it was found that under normal conditions sperm can still be motile up to the 3rd minute, whereas in the candidiasis model up to the 2nd minute after sperm insemination. Under normal conditions sperm is still persistent until the 5th day, whereas in the candidiasis model until

the 3rd day after sperm insemination. There were differences in motility and persistence of spermatozoa between normal conditions and the candidiasis model ($p = 0.001$).

Keywords: *Candidiasis Vaginalis, Motility Of Spermatozoa, Persistence Of Spermatozoa, Time Since Intercourse*

Pendahuluan

Kekerasan seksual merupakan segala bentuk tindakan seksual, yakni upaya untuk mendapatkan tindakan seksual, rayuan atau komentar seksual yang tidak diinginkan, atau tindakan yang mengarah pada seksualitas terhadap seseorang yang dilakukan dengan paksaan, oleh siapapun tanpa memandang hubungan dengan korban. Pemaksaan yang dimaksud dapat mencakup berbagai tingkat kekuatan, intimidasi psikologis, pemerasan, maupun ancaman [1,2].

Salah satu jenis kekerasan seksual yang banyak terjadi pada perempuan adalah persetubuhan. Hal terpenting dalam pembuktian persetubuhan ialah menemukan spermatozoa dan atau mani dalam vagina korban [3]. Dari spermatozoa dapat dinilai apakah masih motil atau tidak motil tetapi masih berada atau persisten dalam vagina sehingga dapat ditentukan waktu terjadinya persetubuhan [3,4]. Spermatozoa masih dapat motil hingga enam jam paska persetubuhan dan masih persisten dalam vagina dalam satu hingga dua hari paska persetubuhan pada perempuan usia subur kondisi normal [4].

Persetubuhan dapat terjadi pada berbagai usia dan kondisi baik fisiologis maupun patologis seperti infeksi vagina (vaginitis) dalam bentuk keputihan. Keputihan yang sering terjadi pada perempuan adalah *candidiasis*, dimana diperkirakan 75-80% dari semua perempuan menderita infeksi *candidiasis vulvovaginal* [5]. Kondisi *candidiasis* akan menimbulkan perubahan pH dan jumlah neutrofil dalam vagina [6] yang tentu saja akan mempengaruhi persistensi spermatozoa dalam vagina sehingga dapat mempengaruhi penentuan waktu terjadinya persetubuhan pada kasus kekerasan seksual [7].

Materi dan Metode

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan menggunakan hewan model sebagai subyek penelitian. Tempat penelitian di Laboratorium Hewan Coba ARF IMERI FKUI. Subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dan betina yang diperoleh dari PT. Biofarma. Biakan *Candida albicans* dari pasien *candidiasis vaginalis* diperoleh dari Laboratorium Parasitologi FKUI. Izin etik penelitian dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo Nomor KET-1147/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2023.

Kriteria inklusi tikus jantan dan betina antara lain : usia 8-10 minggu, berat 200-250 gram, sehat, tidak ada luka maupun kelainan anatomi dan telah diaklimatisasi. Kriteria inklusi sperma tikus jantan yang akan diinseminasikan ke dalam vagina tikus antara lain pH rentang 7.2-7.8, tidak mengalami astenozoospermia. Kriteria eksklusi tikus yang sakit atau mati saat adaptasi atau saat diberi perlakuan.

Terdapat dua kelompok percobaan yaitu kelompok tikus betina kondisi normal dan kelompok model *candidiasis*. Masing-masing kelompok terdiri atas 16 ekor tikus betina. Untuk inseminasi sperma digunakan 4 ekor tikus jantan (sampel sperma untuk 1 ekor tikus akan diinseminasikan ke dalam vagina 4 ekor tikus betina).

Kelompok tikus model *candidiasis* diberikan injeksi 0,5 mg estradiol valerat dalam 50 μ l minyak wijen secara subkutan di perut bagian bawah tikus putih betina setiap hari selama 5 hari sebelum inokulasi vagina. Inokulasi suspensi sel jamur atau PBS steril ke dalam vagina menggunakan mikropipet dan *yellow tip* steril. 4 hari pasca inokulasi lakukan swab vagina dan pengecatan sediaan dengan KOH 10% untuk memastikan sudah terjadi

infeksi *Candida albicans* ditandai munculnya hifa dan spora dari *Candida albicans*.

Sebelum inseminasi sperma dilakukan pengukuran pH vagina baik pada tikus kondisi normal maupun model *candidiasis*. Inseminasi spermatozoa dengan menggunakan mikropipet dalam posisi tikus terlentang. Masukkan 200 µl sperma dari 1,5 ml *Sperm Rinse* yang ada pada cawan petri ke dalam masing-masing vagina tikus putih betina sedalam 1,5 cm. Setelah inseminasi tikus tidak langsung dimasukkan ke dalam kandang tetapi tetap diposisikan terlentang hingga 1 menit.

Prosedur pengambilan swab vagina dengan menggunakan lidi kapas steril diameter 3 mm dan panjang 12 mm yang dibasahi terlebih dahulu dengan menggunakan *Sperm Rinse*. Lakukan swab secara rotasi searah jarum jam selama 20 detik dengan sudut 45°. Oleskan hasil swab ke kaca obyek yang sudah diberi label sebelumnya. Pengambilan swab vagina untuk melihat motilitas spermatozoa dilakukan pada hari yang sama setelah inseminasi yang diulangi mulai dari menit ke-1 hingga menit ke-6. Sedangkan untuk melihat persistensi spermatozoa dilakukan di hari berikutnya (H1) hingga hari ke-6 (H6) pasca inseminasi.

Pemeriksaan motilitas dengan pada kaca obyek yang sudah ditetaskan NaCl 0.9% dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100x. Penilaian dengan memperhatikan apakah masih didapatkan spermatozoa yang motil. Pemeriksaan persistensi pengecatan menggunakan Larutan *Diff Quick* yang terdiri atas larutan A dan B. Larutan A yang mengandung metanol dan eosin selama 30 detik. Kemudian sediaan apusan dicelupkan ke dalam larutan buffer fosfat untuk mencuci larutan A. Selanjutnya sediaan apusan direndam kembali dalam larutan B yang mengandung *methylene blue* selama 30 detik kemudian dicuci dengan air.

Hasil dan Pembahasan

Terdapat perbedaan pH vagina antara kelompok tikus kondisi normal dengan model *candidiasis*. Pada kelompok tikus kondisi normal pH vagina cenderung netral dengan

rata-rata 7,83. Namun pada vagina kelompok tikus model *candidiasis* didapatkan pH basa dibandingkan kelompok tikus kondisi normal dengan rata-rata 9,05.

Pada kondisi normal sperma masih dapat motil hingga menit ke-3 sedangkan pada model *candidiasis* hingga menit ke-2 setelah inseminasi sperma. Pada kondisi normal sperma masih persisten hingga hari ke-5 sedangkan pada model *candidiasis* hingga hari ke-3 setelah inseminasi sperma. Terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) motilitas dan persistensi spermatozoa antara kelompok kondisi normal dan *candidiasis* dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Perbedaan motilitas spermatozoa antara kelompok kondisi normal dan model *candidiasis*

Tikus	Motilitas Sperma (menit)		Nilai <i>p</i>
	Kondisi Normal	Model <i>Candidiasis</i>	
No. 1	2	2	0.000*
No. 2	3	2	
No. 3	2	1	
No. 4	2	1	
No. 5	2	2	
No. 6	3	1	
No. 7	3	1	
No. 8	3	1	
No. 9	3	2	
No. 10	2	2	
No. 11	2	1	
No. 12	3	2	
No. 13	3	2	
No. 14	3	1	
No. 15	2	1	
No. 16	3	1	

*signifikansi $p < 0.05$ (uji *Mann Whitney*)

Tabel 2. Perbedaan persistensi spermatozoa antara kelompok kondisi normal dan model *candidiasis*

Tikus	Persistensi Sperma (hari)		Nilai <i>p</i>
	Kondisi Normal	Model <i>Candidiasis</i>	
No. 1	4	3	0.000*
No. 2	5	3	
No. 3	4	3	
No. 4	4	2	
No. 5	5	1	
No. 6	5	2	

No. 7	5	2
No. 8	5	2
No. 9	4	2
No. 10	5	3
No. 11	4	2
No. 12	5	3
No. 13	5	2
No. 14	5	2
No. 15	4	1
No. 16	4	2

*signifikansi $p < 0.05$ (uji *Mann Whitney*)

Motilitas maupun persistensi spermatozoa lebih lama pada kondisi normal dibandingkan model *candidiasis*. Spermata adalah satu-satunya sel yang aktivitasnya berada di luar tubuh laki-laki atau tikus jantan, dan dalam lingkungan kimiawi spermata yang tidak konsisten, plasma seminalis mungkin mempunyai pengaruh besar terhadap kualitas spermata dan pH adalah salah satu faktor terpenting yang menentukan kualitas air mani [7,8]. Fungsi motilitas, viabilitas, kapasitas, dan reaksi akrosom spermatozoa sangat bergantung pada pH. Selama perjalanan di saluran genital laki-laki dan perempuan, sel spermata menunjukkan pengaturan gradien proton yang tepat dan dengan demikian mengatur pH intraseluler [8].

Pada kelompok tikus model *candidiasis* dengan pH basa menimbulkan penurunan motilitas maupun persistensi spermatozoa dalam vagina. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan fungsi spermata menyimpang/terganggu pada pH tinggi/rendah yang menunjukkan adanya sistem pengaturan pH dinamis pada spermatozoa [8,9]. Semakin asam dan semakin basa pH vagina maka motilitas maupun persistensi spermatozoa juga semakin menurun. Beberapa penelitian terkait pengaruh pH pada burung, dan mamalia hampir semua menunjukkan pengaruh pH yang sangat signifikan terhadap motilitas, viabilitas, kapasitas dan persistensi spermata [9,10].

Motilitas dan persistensi spermatozoa pada kondisi normal lebih lama 1,5 kali dibandingkan model *candidiasis*. Hal ini dapat diaplikasikan dalam penentuan waktu persetubuhan pada manusia. Motilitas spermatozoa normal hingga enam jam paska

persetubuhan [3,4], sehingga apabila didapatkan spermata motil pada kondisi *candidiasis* kemungkinan waktu persetubuhan kurang dari 4 jam. Persistensi spermatozoa normal satu hingga dua hari paska persetubuhan [3,4], sehingga apabila masih didapatkan spermata pada kondisi *candidiasis* kemungkinan waktu persetubuhan kurang dari 2 hari.

Kesimpulan

Dalam penentuan waktu persetubuhan pada kondisi *candidiasis vaginalis*, apabila didapatkan spermata motil dalam vagina maka waktu persetubuhan diperkirakan kurang dari 4 jam, dan apabila didapatkan spermata tidak motil atau masih persisten dalam vagina maka waktu persetubuhan diperkirakan kurang dari 2 hari.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Indonesia khususnya *Animal Research Facility (ARF)* IMERI dan Laboratorium Parasitologi FK UI untuk semua fasilitas yang digunakan dalam penelitian.

Daftar Pustaka

- [1] Gautam Biswas, "Forensic medicine and toxicology 3rd ed", Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, 2015.
- [2] WHO, "Guidelines for medico-legal care for victims of sexual violence Guidelines for medico-legal care for victims of sexual violence", World Health Organization, New Zealand, 2003.
- [3] Sofwan Dahlan, "Ilmu kedokteran forensik pedoman bagi dokter dan penegak hukum", Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Unissula, Semarang, 2019.
- [4] Amelia Kalangit, J. Mallo., dan D. Tomuka, "Peran ilmu kedokteran forensik dalam pembuktian tindak pidana pemerkosaan sebagai kejahatan kekerasan seksual", *J e-Clinic*, 5, 248–253 (2012).
- [5] M. Devi, H. Ismunandar, E Hadibrata., dkk., "Kandidiasis vulvovaginal", *Medula*, 12(1), 118-123 (2021)

- [6] P.O.A. Tania, “Mekanisme escape dan respon imun innate terhadap candida albicans”, *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 9(1), 60-76 (2020)
- [7] A.K. Mishra., A. Kumar, D.K. Swain., dkk, “Insights into pH regulatory mechanisms in mediating spermatozoa functions’, *Veterinary World*, 11(6), 852-858 (2018)
- [8] S Chakraborty, and S. Saha , “Understanding sperm motility mechanisms and the implication of sperm surface molecules in promoting motility”. *Middle East Fertil Soc J*, 27 (2022)
- [9] J. Zhou, L. Chen, J. Li, *et al*, “The semen pH affects sperm motility and capacitation’, *PLoS One*, 10(7), 1-15 (2015)
- [10] D. Ickowicz, M. Finkelstein, H. Breitbart, “Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: role of protein kinases”, *Asian J Androl*, 14, 816–821 (2012)