

**EFEK EKSTRAK BUAH ROSELA (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.)
TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMA MENCIT
(*MUS MUSCULUS* L.) YANG DIINDUKSI NIKOTIN
DAN SUMBANGANNYA PADA PEMBELAJARAN BIOLOGI SMA**

Amanda Rahmaniah Putri

Alumni Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Unsri

Email: amandarp@gmail.com

Lucia Maria Santoso, Kodri Madang

Dosen Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Unsri

Abstract: *This research aimed to know the potential of ethanol extract of roselle fruits in improving the quantity and quality of sperm in mice induced nicotine. The method is implemented with the experimental method that uses a completely randomized design 30 male mice. This study consists of five treatments and six replications. Treatment for the provision of nicotine with a dose of 0,07mg / 10 g body weight and roselle fruit ethanol extract at a dose consisting of 0 mg / 10 g BB, 3 mg / 10 g BB, 6 mg / 10 g BB, and 9 mg / 10 g BB. Roselle fruit extract given by gavage and nicotine via subcutaneous injection for 35 days. Parameters measured were the number, viability, normal morphology, motility, and sperm plasma membrane integrity. The data were analyzed by analysis of variance and real distance difference test (BJND). The average number of sperm in mice P1, P2, P3, and P4 is 103.17 x 106 / ml, 153 x 106 / ml, 157 x 106 / ml, 146 x 106 / ml. The percentage of sperm viability in mice P1, P2, P3, and P4 is 47%, 60.67%, 70%, 68.67%. The percentage of normal sperm morphology P1, P2, P3, and P4 is 42.5%, 59.5%, 73.67%, 62.83%. The percentage of sperm motility in mice P1, P2, P3, and P4 is 41.3%, 61%, 63.7%, 59%. The percentage of plasma membrane integrity mice P1, P2, P3, and P4 is 42.4%, 70.4%, 71%, 62.9%. The results showed that ethanol extract of roselle fruits at a dose of 3 mg / 10 g BB maximal increase the number, the percentage of normal morphology, the percentage motility, sperm plasma membrane integrity mice and 6 mg / 10 g BB increased the percentage of sperm viability nicotine-induced mice. Results of this study are expected to be additional material on learning Biology Semester II Class X Basic Competencies 3.3 Describe the characteristics Divisio and its Role in the World of Plants for Survival on Earth.*

Keywords: *quantity and quality of mice sperm, roselle, nicotine*

Abstrak: *Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan potensi ekstrak etanol buah rosela dalam meningkatkan kuantitas dan kualitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Metode yang dilaksanakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap yang menggunakan 30 ekor mencit jantan. Penelitian ini terdiri dari lima perlakuan dan enam ulangan. Perlakuan berupa pemberian nikotin dengan dosis 0,07mg/ 10 g BB dan ekstrak etanol buah rosela dengan dosis yang terdiri dari 0 mg/10 g BB, 3 mg/ 10 g BB, 6 mg/ 10 g BB, dan 9 mg/ 10 g BB. Ekstrak buah rosela diberikan secara gavage dan nikotin melalui injeksi subkutan selama 35 hari. Parameter yang diamati adalah jumlah, viabilitas, morfologi normal, motilitas, dan integritas membran plasma sperma. Data hasil pengamatan di analisis*

dengan perhitungan analisis keragaman dan uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND). Rata-rata jumlah sperma mencit P1, P2, P3, dan P4 adalah 103,17 x 106/ml, 153 x 106/ml, 157 x 106/ml, 146 x 106/ml. Persentase viabilitas sperma mencit P1, P2, P3, dan P4 adalah 47%, 60,67%, 70%, 68,67%. Persentase morfologi sperma normal P1, P2, P3, dan P4 adalah 42,5%, 59,5%, 73,67%, 62,83%. Persentase motilitas sperma mencit P1, P2, P3, dan P4 adalah 41,3%, 61%, 63,7%, 59%. Persentase integritas membran plasma mencit P1, P2, P3, dan P4 adalah 42,4%, 70,4%, 71%, 62,9%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah rosela dengan dosis 3 mg/10 g BB maksimal meningkatkan jumlah, persentase morfologi normal, persentase motilitas, persentase integritas membran plasma sperma mencit dan 6 mg/10 g BB meningkatkan persentase viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan tambahan pada pembelajaran Biologi Kelas X Semester II pada Kompetensi Dasar 3.3 Mendeskripsikan ciri-ciri Divisio dalam Dunia Tumbuhan dan Perannya bagi Kelangsungan Hidup di Bumi.

Kata kunci: kuantitas dan kualitas sperma mencit, rosela, nikotin

PENDAHULUAN

Tingkat konsumsi rokok penduduk Indonesia terus meningkat dari tahun 1980 hingga 2012, saat ini sekitar 52 juta orang di Indonesia merokok. Jumlah perokok di Indonesia merupakan tertinggi kedua di dunia. Hal ini berbeda dengan Jepang dan AS yang mengalami penurunan konsumsi rokok. Jumlah perokok di AS sekitar 42,1 juta dan di Jepang sekitar 18,1 juta orang (Fajri, 2014). Tingkat konsumsi rokok yang tinggi akan menghasilkan produksi asap rokok yang tinggi pula.

Asap rokok merupakan hasil pembakaran rokok yang mengandung banyak senyawa berbahaya terutama tar, nikotin, dan karbonmonoksida (Sukmaningsih, 2009). Nikotin merupakan komponen utama rokok sebesar 50% (Hukkanen, dkk., 2005). Nikotin merupakan alkaloid yang dapat ditemukan dari daun tembakau (*Nicotinia tabacum*). Daun tembakau kering mengandung 2–8% nikotin. Nikotin adalah racun saraf yang bereaksi cepat (Novizan, 2002). Nikotin dapat menyebabkan gangguan kesehatan, terutama pada sistem reproduksi (Soares, 2009).

Beberapa penelitian sebelumnya telah menguraikan dampak merugikan nikotin. Oyeyipo, dkk. (2010) & Oguwike, dkk.

(2012) melaporkan bahwa nikotin dapat mengurangi kadar hormon testosteron. Nikotin juga dapat menurunkan motilitas, jumlah sperma, dan meningkatkan sperma abnormal (Storgaard, dkk., 2003 & Maartens, 2013). Selain itu, nikotin mempengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan cara menghambat kerja GnRH dan menghambat pembentukan FSH dan LH, sehingga proses spermatogenesis terganggu (Fowles, 2000 & Badr, dkk., 2013). Gangguan proses spermatogenesis dapat menyebabkan infertilitas (Benson & Pernoll, 2009). Infertilitas ditandai dengan menurunnya kualitas dan kuantitas sperma. Kualitas dan kuantitas sperma dapat ditingkatkan menggunakan obat tradisional.

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tumbuhan yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Rosela biasa digunakan untuk menurunkan tekanan darah tinggi (Mojiminiyi, 2007), penyembuhan demam (Ross, 2003), penyembuhan penyakit hati (Wang, dkk., 2000), dan meningkatkan kuantitas dan kualitas sperma (Destiansari, 2011).

Penelitian sebelumnya telah menguraikan kemampuan ekstrak kelopak bunga rosela dalam meningkatkan jumlah,

persentase viabilitas, dan persentase sperma normal mencit. Jumlah, persentase viabilitas, dan persentase sperma normal mencit meningkat karena kandungan senyawa antosianin dalam kelopak bunga rosela (Destiansari, 2011). Amin & Alaaeldin (2006) menyatakan bahwa antosianin rosela dapat memperbaiki motilitas sperma. meningkatkan jumlah, motilitas, dan viabilitas sperma mencit akibat radikal bebas. Hal ini dapat terjadi karena antosianin rosela diduga mampu mempengaruhi peningkatan kadar hormon testosteron jantan (Omotuyi, dkk., 2010). Selain antosianin, rosela juga mengandung vitamin C dan vitamin A yang berperan sebagai antioksidan (Obouayeba, 2014). Luangpirom & Nawaphat (2010) juga menyatakan bahwa antioksidan pada rosela memberikan perlindungan terhadap kerusakan testis.

Berdasarkan pertimbangan bahwa nikotin menyebabkan penurunan kualitas dan kuantitas sperma serta kemampuan tanaman rosela dalam meningkatkan hormon testosteron, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak etanol buah rosela terhadap kuantitas dan kualitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Hal ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah rosela terhadap jumlah, persentase viabilitas, persentase morfologi normal, persentase motilitas, dan persentase integritas membran plasma sperma mencit yang diinduksi nikotin.

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi bahwa ekstrak etanol buah rosela mengandung antosianin yang diduga berpengaruh terhadap kuantitas dan kualitas sperma mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi nikotin. Hal ini menunjukkan bahwa rosela sebagai tumbuhan berperan dalam kehidupan. Peran tumbuhan merupakan salah satu materi pembelajaran yang terdapat pada pelajaran biologi. Oleh sebab itu, hasil penelitian ini perlu disumbangkan pada pelajaran biologi SMA kelas X semester II

pada Kompetensi Dasar **3.3 Mendeskripsikan ciri-ciri Divisio dalam Dunia Tumbuhan dan peranannya bagi kelangsungan hidup di bumi.**

METODOLOGI

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Program Studi Pendidikan Biologi dan Kandang Mencit Kebun Botani Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sriwijaya. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 26 Januari 2014 s.d. 13 Maret 2015.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat bedah, gelas arlogi, gelas ukur, gelas kimia, batang pengaduk, hemasitometer (*Improved Neubauer Assistant*), kaca objek dan kaca penutup, kotak mencit, kawat kasa, botol minum mencit, mikroskop (Olympus CX 21), pipet tetes, pipet ukur 10 ml, *syringe* 1 ml, jarum gavage, *tally counter*, *rotary evaporator*, *blender*, timbangan analitik.

Bahan yang digunakan adalah *aquadest*, alkohol 70%, etanol 95%, Eosin Y 0,5%, fruktosa, natrium sitrat, ekstrak etanol kelopak rosela, nikotin, larutan pewarna *Giemsa stock* 3%, kertas saring, sarung tangan, masker, mencit, serbuk kayu, pakan mencit (Grobest No.5).

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan terdiri dari 1 tingkatan dosis nikotin, yaitu 0,07 mg/0,1 ml *aquadest*/10g BB (Mahanem, 2006) dan 3 tingkatan dosis rosela, yaitu 3mg/0,1 ml *aquadest*/10 gr BB; 6mg/0,1 ml *aquadest*/10 gr BB (Destiansari, 2011).

Prosedur Kerja

Tahap Persiapan

Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Rosela (EEBR)

Buah rosela yang dipilih berwarna merah tua. Selanjutnya buah rosela mengalami proses pemanasan (*blansir*), proses pelayuan menggunakan *roller* kemudian dikeringanginkan di rumah kaca dan di dalam *cabinet dryer*. Proses ini dilakukan oleh UPT Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor sehingga diperoleh buah rosela kering berwarna merah tua.

Tahap berikutnya adalah penggilingan dengan menggunakan *blender* sehingga diperoleh serbuk buah rosela. Serbuk buah rosela kemudian diayak agar diperoleh serbuk buah rosela yang lebih halus. Serbuk kelopak rosela tersebut kemudian diekstraksi dengan nisbah sampel pelarut etanol 95% 1 : 10 menggunakan metode maserasi selama 6 jam sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam. Serbuk rosela yang digunakan yaitu sebanyak 200 gram sehingga pelarut etanol yang digunakan adalah 2000 ml atau 2 liter. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental (KMKRI, 2009: 176). Ekstrak kental yang diperoleh berwarna merah pekat sebanyak 58,5 ml. Ekstrak ini dapat disimpan dalam botol pada suhu 40°C sampai digunakan.

Persiapan Mencit

Mencit

Mencit yang digunakan adalah mencit yang sehat dengan melihat tanda-tanda antara lain mata jernih, rambut yang tidak berdiri dan berat badan relatif stabil 35-40 gram. Mencit diletakkan di dalam kotak mencit dengan ukuran 20-40 cm yang ditutup dengan kawat kasa yang didesain sedemikian rupa. Kotak diberi alas serbuk kayu agar mencit merasa nyaman. Dua mencit dipelihara di dalam satu kotak. ITB (1986) menyatakan bahwa seluruh sistem perkandangan harus dirancang sehingga mudah dirawat dan diperbaiki demi kesehatan hewan. Mencit dapat dipelihara pada suhu berkisar 35-39°C (rata-rata 37,4°C).

Aklimatisasi

Mencit diaklimatisasi selama tujuh hari agar dapat disesuaikan diri dengan lingkungan baru. Makanan dan minuman diberikan teratur setiap hari. Mencit diberi makan berupa pellet dan air minum berupa air ledeng secara *ad libitum*. Setelah kotak diletakkan dalam rak-rak sesuai dengan pengelompokkan perlakuan.

Penyediaan Larutan

Larutan Dosis EEBR

Larutan dibuat dengan cara mengambil ekstrak sesuai dengan dosis yang ditetapkan lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia yang diberi akuades kemudian diaduk sampai kelarutannya homogen. Jumlah ekstrak dengan akuades ditentukan berdasarkan perhitungan dalam pembuatan larutan dosis.

Penyediaan larutan sesuai dosis yang diperlukan dibuat dengan rumus sebagai berikut, larutan dosis (D) = 0,1 ml akuades x Perbesaran (N) (Syamsuni, 2006). Ekstrak dibuat ke dalam larutan dosis 100 ml sehingga perbesarannya adalah 0,1 ml aquadest x N = 100. Maka N = 1000 kali. Jumlah EEBR yang dibutuhkan kemudian dilarutkan ke dalam 100 ml akuades lalu diaduk hingga kelarutannya homogen.

Nikotin

Dosis nikotin untuk tikus pada penelitian sebelumnya adalah 5 mg/kg BB (Mahanem, 2006) sehingga dikonversikan ke dosis nikotin untuk mencit menggunakan tabel konversi dosis hewan percobaan Laurence & Bacharach (1964) dikutip Anggara (2009) dan didapatkan dosis 0,07 mg/10 g BB.

Pemberian Perlakuan

EEBR diberikan secara oral/ *gavage* agar semua larutan dapat masuk ke lambung sesuai dosis yang diberikan. Volume larutan EEBR rosela yang diberikan adalah antara 0,35 – 0,4 ml karena berat badan mencit yang digunakan adalah 35 – 40 gram. Setelah diberi EEBR, mencit selanjutnya diberi nikotin. Nikotin diberikan melalui injeksi subkutan

pada bagian dorsal leher dengan sudut 45°. Injeksi subkutan dimaksudkan agar nikotin dapat masuk ke dalam tubuh mencit secara perlahan dan dalam jangka panjang. Injeksi nikotin secara subkutan diberikan sebanyak 0,35 – 0,4 ml karena berat badan mencit yang digunakan adalah 35–40 gram. Perlakuan diberikan selama 35 hari.

Pembedahan dan Pengamatan Berat Organ Mencit

Pada hari ke 36 setelah perlakuan, mencit didislokasi di bagian leher kemudian segera dibedah. Epididimis diambil, dibersihkan dari lemak dan darah dengan menggunakan larutan *saline* (NaCl fisiologis 0,9%). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dengan 6 ulangan, sehingga mencit yang dibedah berjumlah 24 ekor. Oleh karena itu, pembedahan dilakukan secara bertahap. Pada hari pertama pemberian perlakuan dimulai, mencit yang diberi perlakuan adalah sebanyak 4 ekor masing-masing 1 ekor dari setiap perlakuan (P0, P1, P2, dan P3) dan dilanjutkan pada hari ke-2, 3, 4, 5, dan 6 secara berturut-turut. Pembedahan dilakukan secara bertahap setelah masing-masing mencit mendapatkan perlakuan 35 hari.

Pengamatan Kondisi Sperma

Pembuatan Suspensi Sperma

Epididimis dimasukkan ke dalam gelas kimia dan diencerkan dengan larutan *saline* sebanyak 0,95 ml. Selanjutnya epididimis diacch dengan menggunakan gunting bedah sebanyak 20-30 kali. Suspensi tersebut kemudian diaduk menggunakan pipet tetes dengan cara menyedot dan menyemprotkan kembali berulang-ulang sebanyak 20-30 kali sehingga spermatozoa tersebar merata.

Perhitungan Viabilitas Sperma

Satu tetes (10-15 μ L) semen segar dicampur dengan satu tetes larutan eosin 0,5% (5 g/l) pada kaca objektif kemudian ditutup dengan kaca penutup. Setelah dikeringanginkan selama 1-2 menit, siapan diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan terhadap sperma

yang tidak terwarnai (hidup) dan yang terwarnai (mati) dalam 100 sperma (WHO, 1994).

Perhitungan Jumlah Sperma

Jumlah sperma dapat ditentukan dengan cara memakai metode hemasitometer. Perhitungan jumlah sperma dilakukan dengan cara suspensi sperma diambil kemudian diteteskan di atas hemasitometer dengan volume 0,1 menggunakan *syringe* 1 ml. Hemasitometer dibiarkan selama 5 menit dalam ruangan yang lembab untuk mengurangi pengeringan. Selama waktu itu, sel-sel mengendap dan selanjutnya dihitung lalu diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler Olympuss CX 21 dengan perbesaran 400x. Hanya sperma yang matang dan berbentuk normal yang dihitung dan dinyatakan dalam satuan juta/ml.

Segi empat utama dari kisi-kisi hemasitometer terdiri dari 25 segi empat besar. Jika siapan mengandung kurang dari 10 sperma setiap segi empat besar maka seluruh 25 segi empat besar harus dihitung. Jika siapan mengandung 10-40 sperma setiap segi empat besar maka harus dihitung 10 segi empat besar. Jika siapan mengandung lebih dari 40 sperma setiap segi empat besar maka 5 segi empat besar dihitung (WHO, 1994).

Pengamatan Morfologi Sperma Normal

Morfologi sperma normal diamati dari sediaan apusan. Pada kaca objek yang bersih diteteskan satu tetes suspensi sperma diratakan dengan bantuan kaca objek lain, lalu sediaan spusan dibiarkan kering dengan sendirinya. Setelah kering, sediaan difiksasi dengan methanol 40% selama 5-10 menit. Kemudian dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Setelah itu, kaca objek ditetesi dengan pewarna Giemsa 3% dan dibiarkan selama 20 menit, kemudian dibilas lagi dengan akuades dan dikeringkan pada suhu kamar. Pengamatan dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Setiap spermatozoa yang dijumpai dikelompokkan ke dalam bentuk normal dan

abnormal. Pengamatan ini dilakukan minimal terhadap 100 spermatozoa dan hasilnya dinyatakan dalam persen (%) (WHO, 1994).

Pemeriksaan Motilitas Sperma

Motilitas sperma ditentukan dengan mengukur kecepatan sperma dalam bilik hitung Neurbaure. Satu tetes suspensi sperma dalam larutan NaCl 0,9 % di teteskan pada bilik hitung kemudian diamati di bawah mikroskop perbesaran 400 kali. Jumlah sperma yang motil dengan cepat dihitung berdasarkan kriteria WHO (1994) yaitu: (a) gerakan cepat dan maju lurus, (b) gerakan lambat atau sulit maju lurus, (c) tidak bergerak maju, dan (d) tidak bergerak. Pengamatan dilakukan terhadap 100 sperma, motilitas sperma dinyatakan dalam persen sebagai berikut.

Pemeriksaan Integritas Membran Sperma (HOST TEST)

Sebanyak 0,5 ml semen dari tiap kelompok perlakuan ditambahkan pada 1 ml medium hipoosmotik (medium yang terdiri dari 2,7 g fruktosa, 1,47 g natrium sitrat dalam 200 ml akuades lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan terhadap 200 ekor sperma. Pemeriksaan integritas membran sperma dilihat dari sperma yang mengalami perubahan yakni pembengkakan pada bagian ekor dan jumlahnya dinyatakan dalam bentuk persen (WHO, 1994).

Pengolahan Data

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan ANAVA menggunakan uji F dengan taraf uji 5% dan 1% kemudian pengaruh antar perlakuan diuji dengan menggunakan uji BJND. Data jumlah sperma ditransformasikan dengan cara dikali 106 . Data viabilitas, morfologi sperma normal, motilitas, dan integritas membran sperma dihitung dalam bentuk persentase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

A.Kuantitas Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diberi Diinduksi Nikotin dan EEBR

Hasil pengujian kemampuan EEBR terhadap kuantitas (jumlah) sperma mencit yang diinduksi nikotin selama 35 hari secara gavage dan injeksi subkutan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah sperma mencit terhadap P1. Perbedaan tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Jumlah Sperma Mencit yang Diberi EEBR dan Diinduksi Nikotin Selama 35 Hari

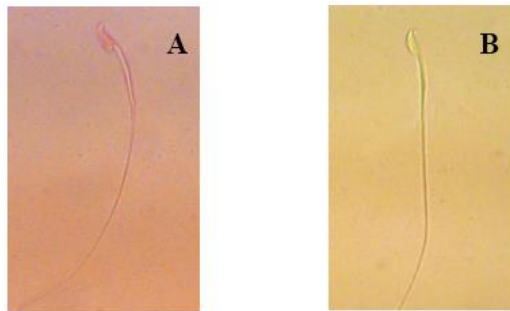
Perlakuan	Ulangan ke- ($\times 10^6$)						Σ	Rata-rata ($\times 10^6$)
	1	2	3	4	5	6		
P0	157	132	140	141	154	212	936	156
P1	106	102	98	96	109	108	619	103,167
P2	162	123	112	148	185	189	919	153,167
P3	186	119	138	203	152	144	942	157
P4	132	129	122	131	154	208	876	146
Jumlah							4292	715,333
Rata-rata							7648	1274,667

Tabel 5 menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata jumlah sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR pada setiap perlakuan. Rata-rata jumlah sperma mencit pada kelompok P2, P3, dan P4 lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EEBR pada dosis 3 mg/10 g BB (P2), 6 mg/10 g BB (P3), dan 9 mg/10 g BB (P4) meningkatkan rata-rata jumlah sperma mencit yang diinduksi nikotin. Peningkatan rata-rata jumlah sperma mencit terjadi dari P1 ke P2 maupun P2 ke P3. Namun, pada P4 terjadi penurunan rata-rata jumlah sperma mencit.

B.Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR

Viabilitas Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR

Viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR dapat dilihat dari perbedaan sperma hidup dan sperma mati. Sperma hidup adalah sperma yang tidak menyerap warna sedangkan sperma mati adalah sperma yang menyerap warna eosin 0,5%. Perbedaan sperma hidup dan mati disajikan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. (a) Sperma Mati (4,333.102 x), (b) Sperma Hidup (4,435.102 x); (Dokumentasi Pribadi)

Hasil pengujian viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR memperlihatkan adanya perbedaan rata-rata persentase viabilitas sperma mencit pada masing-masing dosis perlakuan. Data hasil penelitian rata-rata persentase viabilitas sperma mencit disajikan pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Persentase Viabilitas Sperma yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR Selama 35 Hari.

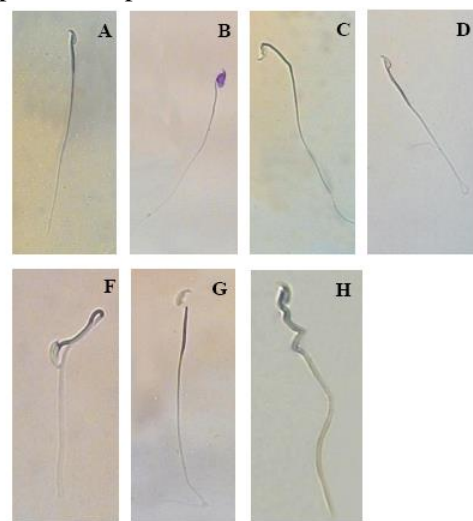
Perlakuan	Ulangan ke- (%)						Σ	Rata-rata (%)
	1	2	3	4	5	6		
P0	79	75	81	65	70	70	440	73,333
P1	37	51	48	41	67	43	287	47,833
P2	59	59	60	55	66	65	364	60,667
P3	68	66	68	67	73	78	420	70
P4	60	58	61	71	78	84	412	68,667
Jumlah							1923	320,5
Rata-rata							3406	567,667

Tabel 6 menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata persentase viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR pada setiap perlakuan. Rata-rata persentase viabilitas sperma mencit pada kelompok P2, P3, dan P4 lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1. Hal ini

menunjukkan bahwa pemberian EEBR pada dosis 3 mg/10 g BB (P2), 6 mg/10 g BB (P3), dan 9 mg/10 g BB (P4) meningkatkan rata-rata persentase viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Peningkatan rata-rata persentase viabilitas mencit terjadi dari P1 ke P2 maupun P2 ke P3. Namun, pada P4 terjadi penurunan rata-rata persentase viabilitas sperma mencit.

Morfologi Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR

Hasil pengujian morfologi sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR memperlihatkan bahwa terdapat sperma normal dan berbagai kelainan morfologi sperma. Kelainan morfologi sperma mencit yang ditemukan dalam pengamatan dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Sperma Mencit : A. Normal (4,267.102 X), B. Kepala Makro (3,913.102 X), C-D. Kelaianan Leher (4,444.102 X), F. Ekor Melipat (4,914.102 X), G. Kepala Terlepas (3,659.102 X), H. Bagian Tengah Abnormal (5,333.102 X); (Dokumentasi Pribadi)

Pengamatan kualitas sperma mencit secara morfologi dilakukan dengan cara menghitung sperma yang memiliki morfologi normal, hasil pengujian sperma normal mencit

yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR secara morfologi memperlihatkan adanya perbedaan rata-rata persentase sperma normal pada masing-masing dosis perlakuan. Data hasil penelitian rata-rata persentase sperma normal mencit disajikan pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Persentase Sperma Normal yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR Selama 35 Hari.

Perlakuan	Ulangan ke- (%)						Σ	Rata-rata (%)
	1	2	3	4	5	6		
P0	63	71	73	82	77	69	435	72,5
P1	41	40	48	42	39	45	255	42,5
P2	57	58	62	68	41	71	357	59,5
P3	64	67	78	86	78	69	442	73,667
P4	53	63	65	65	67	64	377	62,833
Jumlah							1866	311
Rata-rata							659,4	62,2

Tabel 7 menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata persentase sperma normal mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR pada setiap perlakuan. Rata-rata persentase sperma normal mencit pada kelompok P2, P3, dan P4 lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EEBR pada

dosis 3 mg/10 g BB (P2), 6 mg/10 g BB (P3), dan 9 mg/10 g BB (P4) meningkatkan rata-rata persentase sperma normal mencit yang diinduksi nikotin. Peningkatan rata-rata persentase sperma normal mencit terjadi dari P1 ke P2 maupun P2 ke P3. Namun, pada P4 terjadi penurunan rata- persentase sperma normal mencit.

Motilitas Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR

Pengamatan kualitas sperma mencit secara motilitas dapat dilakukan sebagai berikut: (a) gerakan cepat dan maju lurus, (b) gerakan lambat atau sulit maju lurus, (c) tidak bergerak maju, dan (d) tidak bergerak. Hanya sperma dengan kategori a dan b yang dihitung (WHO, 1994). Data hasil penelitian rata-rata persentase sperma normal mencit disajikan pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Persentase Motilitas Sperma yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR Selama 35 Hari.

Perlakuan	Ulangan ke %						Σ	Rata-rata %
	1	2	3	4	5	6		
P0	61	60	78	75	76	31	381	63,5
P1	45	41	42	39	38	43	248	41,3
P2	55	55	60	73	52	71	366	61
P3	58	57	64	67	67	69	382	63,7
P4	49	48	59	61	53	84	354	59
Jumlah							1731	288,5
Rata-rata							337,5	56,25

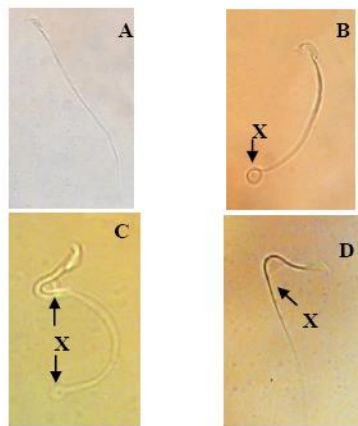
Tabel 8 menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata persentase motilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR pada setiap perlakuan. Rata-rata persentase motilitas sperma mencit pada

kelompok P2, P3, dan P4 lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EEBR pada dosis 3 mg/10 g BB (P2), 6 mg/10 g BB (P3), dan 9 mg/10 g BB (P4) meningkatkan rata-

rata persentase motilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Peningkatan rata-rata motilitas sperma mencit terjadi dari P1 ke P2 maupun P2 ke P3. Namun, pada P4 terjadi penurunan rata-rata motilitas sperma mencit.

Integritas Membran Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Nikotin dan Diberi EEBR

Pengamatan kualitas sperma mencit secara integritas membran dapat dilakukan melalui uji pembengkakan hipoosmotik (HOST), sperma dengan integritas membran plasma baik akan mengalami pembengkakan. Hasil pengujian integritas membran sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR memperlihatkan sperma tanpa pembengkakan dan berbagai sperma yang mengalami perubahan morfologi akibat pengaruh hipoosmotik. Berbagai integritas membran plasma sperma mencit yang ditemukan dalam pengamatan dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Morfologi Sperma Akibat Pengaruh Hipoosmotik : A. Tidak Berubah (4,068.102x), B-D (4,44.102x; 4,482.102x; 3,894.102x) Berbagai Macam Perubahan pada Bagian Ekor, X Menunjukkan Pembengkakan; (Dokumentasi Pribadi)

Pengamatan integritas membran plasma dilakukan dengan cara menghitung sperma yang mengalami pembengkakan. Hasil pengujian integritas membran sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR

memperlihatkan adanya perbedaan rata-rata persentase integritas membran plasma sperma pada masing-masing dosis perlakuan. Data hasil penelitian rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit disajikan pada **Tabel 9**.

Perlakuan	Ulangan ke- (%)						Σ	Rata-rata (%)
	1	2	3	4	5	6		
P0	78	75,5	80	67,5	77	78	456	76
P1	43	30,5	39	48,5	57,5	50	268,5	44,8
P2	59,5	60	62,5	69,5	76	68	395,5	65,9
P3	67	66	69,5	74	75	74,5	426	71
P4	61	55	65,5	61,5	70	64,5	377,5	62,9
Jumlah							1923,5	320,58
Rata-rata							366,875	569,2

Tabel 9. Persentase integritas membran plasma sperma yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR selama 35 hari

Tabel 9 menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR pada setiap perlakuan. Rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit pada kelompok P2, P3, dan P4 lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EEBR pada dosis 3 mg/10 g BB (P2), 6 mg/10 g BB (P3), dan 9 mg/10 g BB (P4) meningkatkan rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit yang diinduksi nikotin. Peningkatan rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit terjadi dari P1 ke P2 maupun P2 ke P3. Namun, pada P4 terjadi penurunan rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit.

Selanjutnya data jumlah sperma, persentase viabilitas sperma, persentase jumlah sperma normal, motilitas sperma, dan integritas membran plasma sperma mencit dianalisis dengan analisis sidik ragam (Uji F) untuk membandingkan nilai F tabel dengan F hitung. Hasil analisis keragaman ditampilkan pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Rekapitulasi Analisis Sidik Ragam dan Koefisien Keragaman Jumlah Sperma, Persentase Viabilitas Sperma, Persentase Jumlah Sperma Normal,

Motilitas Sperma, dan Integritas Membran Plasma Sperma Mencit

No.	Parameter	F Hitung	F Tabel		KK (%)
			5%	1%	
1	Jumlah Sperma	4,849*	3,10	4,94	19,781
2	Viabilitas Sperma	9,335**			13,205
3	Morfologi Normal	18,323**			12,399
4	Motilitas Sperma	8,518**			15,109
5	Integritas Membran Sperma	18,261**			10,713

Keterangan: * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji F pada **Tabel 10** memperlihatkan bahwa EEBR berpengaruh sangat nyata dalam meningkatkan kualitas (viabilitas, morfologi, motilitas, dan integritas membran plasma sperma) sperma mencit dan berpengaruh nyata dalam meningkatkan kuantitas (jumlah) sperma mencit. Berdasarkan hasil perhitungan, diketahui F hitung lebih besar dari F tabel maka H1 diterima dan H0 ditolak.

Uji lanjut dilakukan untuk mengetahui beda pengaruh antar perlakuan terhadap rata-rata jumlah sperma, persentase viabilitas sperma, persentase jumlah sperma normal, motilitas sperma, dan integritas membran plasma sperma mencit. Uji lanjut yang digunakan adalah uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND). Hasil uji BJND ditampilkan pada **Tabel 11, 12, 13, 14, dan 15**.

Tabel 11. Uji BJND Pengaruh Perlakuan terhadap Rata Rata Jumlah Sperma Mencit

Perlakuan	Rerata	BJND	
		5%	1%
P1	103,167	a	A
P4	146,000	b	AB
P2	153,167	bc	ABC
P3	157,000	bcd	ABCD

Hasil uji BJND terhadap rata-rata jumlah sperma mencit pada **Tabel 11** memperlihatkan bahwa taraf 5% kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan huruf yang berbeda terhadap P1. Hal ini menunjukkan bahwa P2, P3, dan P4 berbeda

nyata terhadap P1, namun perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 masing-masing menunjukkan huruf yang sama terhadap terhadap antar perlakuannya. Hal ini bermakna bahwa perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 memiliki pengaruh yang hampir sama dalam meningkatkan jumlah sperma mencit yang diinduksi nikotin. P2 merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah sperma mencit yang diinduksi nikotin karena dosis EEBR P2 merupakan dosis terendah dibandingkan perlakuan P3 dan P4.

Tabel 12. Uji BJND Pengaruh Perlakuan terhadap Rata-Rata Persentase Viabilitas Sperma Mencit

Perlakuan	Rerata	BJND	
		5%	1%
P1	47,83	a	A
P2	60,67	b	AB
P4	68,67	bc	BC
P3	70	bcd	BCD

Hasil uji BJND terhadap rata-rata persentase viabilitas sperma mencit pada **Tabel 12** memperlihatkan bahwa taraf 5% kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan huruf yang berbeda terhadap P1. Hal ini menunjukkan bahwa P2, P3, dan P4 berbeda nyata terhadap P1, namun perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 masing-masing menunjukkan huruf yang sama terhadap terhadap antar perlakuannya. Hal ini bermakna bahwa perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 memiliki pengaruh yang hampir sama dalam meningkatkan persentase viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Taraf 1% kelompok perlakuan P3 dan P4 menunjukkan huruf yang berbeda terhadap P1, sehingga P3 dan P4 berbeda sangat nyata terhadap P1. P3 dan P4 memiliki huruf yang sama, sehingga memiliki pengaruh yang sama dalam meningkatkan persentase viabilitas sperma

mencit. P3 merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan persentase viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin karena dosis EEER P2 merupakan dosis terendah dibandingkan perlakuan P4.

Tabel 13. Uji BJND Pengaruh Perlakuan terhadap Rata-Rata Persentase Sperma Normal Mencit

Perlakuan	Rerata	BJND	
		5%	1%
P1	42,500	a	A
P4	59,500	b	B
P2	62,833	bc	BC
P3	73,667	d	CD

Hasil uji BJND terhadap rata-rata persentase sperma normal mencit pada **Tabel 13** memperlihatkan bahwa taraf 5% dan 1% kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan huruf yang berbeda terhadap P1. Hal ini menunjukkan bahwa P2, P3, dan P4 berbeda sangat nyata terhadap P1, namun perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 menunjukkan huruf yang sama terhadap perlakuannya. Hal ini bermakna bahwa perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 memiliki pengaruh yang hampir sama dalam meningkatkan jumlah sperma normal mencit yang diinduksi nikotin. P2 merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan persentase sperma normal mencit yang diinduksi nikotin karena dosis EEER P2 merupakan dosis terendah dibandingkan perlakuan P3 dan P4.

Tabel 14. Uji BJND Pengaruh Perlakuan terhadap Rata-Rata Persentase Motilitas Sperma Mencit

Perlakuan	Rerata	BJND	
		5%	1%
P1	41,333	a	A
P4	59,000	b	B
P2	61,000	bc	BC
P3	63,667	bcd	BCD

Hasil uji BJND terhadap rata-rata persentase motilitas sperma mencit pada **Tabel 14** memperlihatkan bahwa taraf 5% dan 1% kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan huruf yang berbeda terhadap P1. Hal ini menunjukkan bahwa P2, P3, dan P4 berbeda sangat nyata terhadap P1, namun perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 menunjukkan huruf yang sama terhadap perlakuannya. Hal ini bermakna bahwa perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 memiliki pengaruh yang hampir sama dalam meningkatkan persentase motilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. P2 merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan persentase motilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin karena dosis EEER P2 merupakan dosis terendah dibandingkan perlakuan P3 dan P4.

Tabel 15. Uji BJND pengaruh perlakuan terhadap rata-rata persentase integritas membran plasma sperma

Perlakuan	Rerata	BJND	
		0,05	0,01
P1	44,750	a	A
P4	62,917	b	B
P2	65,017	bc	BC
P3	71,000	bcd	BCD

Hasil uji BJND terhadap rata-rata persentase integritas membran plasma sperma mencit pada **Tabel 15** memperlihatkan bahwa taraf 5% dan 1% kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan huruf yang berbeda terhadap P1. Hal ini menunjukkan bahwa P2, P3, dan P4 berbeda sangat nyata terhadap P1, namun perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 menunjukkan huruf yang sama terhadap perlakuannya. Hal ini bermakna bahwa perlakuan P4 terhadap P2 dan P2 terhadap P3 memiliki pengaruh yang hampir sama dalam meningkatkan persentase integritas membran plasma sperma mencit yang diinduksi nikotin. P2 merupakan dosis

yang paling efektif dalam meningkatkan persentase integritas membran sperma mencit yang diinduksi nikotin karena dosis EEBR P2 merupakan dosis terendah dibandingkan perlakuan P3 dan P4.

PEMBAHASAN

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa EEBR berpengaruh terhadap kuantitas dan kualitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Kuantitas merupakan jumlah sperma mencit dan kualitas meliputi viabilitas, morfologi normal, motilitas, dan integritas membran plasma sperma mencit. Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis sidik ragam (**Tabel 10**) menunjukkan bahwa kuantitas sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan P1 (nikotin tanpa EEBR) dan kualitas sperma mencit yang diinduksi nikotin dan diberi EEBR berbeda sangat nyata terhadap kelompok perlakuan P1. Nikotin dan EEBR diberikan kepada mencit secara subkutan dan gavage selama 35 hari.

Berdasarkan hasil pengamatan, kelompok perlakuan P1 dapat menurunkan kuantitas dan kualitas sperma mencit (**Tabel 1-5**). Hal ini dapat terjadi karena nikotin menurunkan kadar hormon testosteron (Oyeyipo, dkk., 2010 & Oguwike, dkk., 2012). Nikotin diberikan melalui injeksi subkutan sehingga masuk ke jaringan lemak dibawah dermis. Nikotin secara perlahan berdifusi ke darah melalui pembuluh darah pada dermis, kemudian nikotin dalam darah masuk ke dalam hepar melalui vena porta hepatica. Hasil metabolit nikotin dalam hepar adalah kotinin (Sarker, 2007). Kotinin bersama darah akan masuk ke jantung dan selanjutnya dialirkan ke seluruh tubuh. Salah satu alirannya adalah otak. Kotinin diduga dapat menembus sawar darah otak. Hal ini disebabkan karena molekul kotinin relatif kecil dan larut dalam lemak (Sarker, 2007). Kotinin mempunyai berat molekul 176,22 g/mol (NLM, 2005), sedangkan substansi

yang masih dapat melewati sawar otak memiliki berat molekul 500 g/mol (Ulfa, dkk., 2013). Salah satu aliran darah dalam otak adalah hipotalamus. Hipotalamus memiliki neuron-neuron yang mensekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH). Nikotin diduga menghambat produksi GnRH di hipotalamus (Fowles, 2000 & Badr O., dkk., 2013). GnRH kemudian diangkut ke kelenjar hipofisis anterior melalui sistem pembuluh porta hipotalamus-hipofisis. Adanya GnRH akan memicu hipofisis anterior untuk menghasilkan LH dan FSH (Karch, 2010: 1059). LH berfungsi merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron, testosteron berfungsi penting bagi pertumbuhan dan pembagian sel-sel germinativum dalam membentuk sperma. FSH berfungsi menstimulasi sel Sertoli untuk mengubah spermatid menjadi sperma pada tahap spermiogenesis dengan mensekresikan ABP (*Androgen Binding Protein*) melalui bantuan testosteron (Guyton & Hall, 1997: 1268). Penurunan produksi GnRH akibat nikotin menyebabkan sekresi LH menurun, sehingga kadar hormon testosteron yang dihasilkan menurun.

Berbeda dengan P1, kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 meningkatkan kuantitas dan kualitas sperma mencit (Tabel 1-5). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EEBR dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas sperma mencit yang diinduksi nikotin. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, EEBR mengandung senyawa flavonoid yaitu antosianin. Antosianin diduga mempengaruhi peningkatan kadar hormon testosteron (Omotuyi, dkk., 2010). EEBR yang diberikan secara gavage ke mencit menyebabkan semua larutan masuk ke lambung. Antosianin yang berada dalam lambung kemudian menuju ke usus halus untuk diserap oleh dinding-dinding usus halus. Zat tersebut kemudian berdifusi ke darah dan melalui vena porta hepatica masuk ke hepar. Darah tersebut kemudian akan

masuk ke jantung dan selanjutnya dialirkan ke seluruh tubuh. Salah satu alirannya adalah otak. Antosianin yang dibawa oleh darah diduga tidak dapat atau lambat menembus daerah sawar darah otak. Hal ini disebabkan karena antosianin tidak larut dalam lemak, meskipun berat molekulnya 207,08 g/mol (Fennema, 1996). Oleh sebab itu, antosianin diduga dapat masuk ke otak melalui organ sirkumventrikular yaitu ventrikel ketiga dan keempat (Destiansari, 2011). Salah satu alirannya adalah ke hipotalamus. Antosianin diduga mempengaruhi peningkatan sekresi GnRH oleh hipotalamus. Peningkatan GnRH menyebabkan sekresi LH dan FSH. LH akan meningkatkan produksi hormon testosteron oleh sel Leydig dan FSH akan menstimulasi sel Sertoli untuk memulai spermiogenesis dengan menghasilkan ABP melalui bantuan hormon testosteron. Oleh sebab itu, EEER dapat meningkatkan rata-rata jumlah, persentase viabilitas, persentase morfologi normal, persentase motilitas, dan persentase integritas membran plasma sperma mencit yang diinduksi nikotin.

EEER dapat meningkatkan jumlah sperma mencit yang diinduksi nikotin (**Gambar 1**). Hal ini dapat terjadi karena antosianin dalam EEER mampu meningkatkan produksi testosteron yang menurun akibat nikotin. Testosteron berpengaruh terhadap proses awal spermatogenesis yaitu tahap proliferasi sel spermatogonia. Jika tahap proliferasi sel spermatogonia berjalan baik, maka hal ini akan berpengaruh pada jumlah sperma (Guyton & Hall, 1997: 1270). Selain antosianin, EEER juga mengandung vitamin C dan antioksidan lainnya (Hussein, dkk., 2010). Antioksidan ini diduga mampu mengatasi radikal bebas yang dapat menghambat produksi testosteron dan mengurangi produksi sperma. Radikal bebas adalah suatu atom, gugus, atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan

molekul oksigen. Adanya elektron tidak berpasangan ini, menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif dan cenderung mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Stres dapat memicu radikal bebas (Halliwell & Gutteridge, 1999 dalam Maslachah, dkk., 2008). Perlakuan gavage dan injeksi subkutan diduga dapat memicu stres pada mencit, sehingga radikal bebas dapat meningkat. Radikal bebas dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada permukaan sel Leydig, sehingga sel Leydig tidak mampu menangkap LH untuk menghasilkan hormon testosteron (Mahanem, 2006) dan jumlah sperma menurun. Oleh karena itu, antioksidan EEER diduga dapat mencegah reaksi radikal bebas dengan mendonorkan satu elektronnya agar senyawa radikal bebas menjadi stabil dan mencegah peroksidasi lipid pada Sel Leydig.

Rata-rata persentase viabilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin meningkat melalui pemberian EEER (**Gambar 3**). Viabilitas sperma diamati melalui pewarnaan eosin pada sperma. Permukaan sperma dibungkus oleh membran lipoprotein. Apabila sel mati, maka permeabilitas membran selnya meningkat terutama di daerah pangkal kepala sehingga dapat menyerap zat pewarna dengan kuat dibandingkan sel yang hidup (Toelihere, 1985). Pemberian EEER mampu meningkatkan hormon testosteron yang dihambat oleh nikotin. Testosteron diperlukan dalam proses pematangan sperma di epididimis (Junquiera & Carneiro, 1995). Peningkatan testosteron di epididimis akan menstimulasi epitel-epitel epididimis mensekresikan *carnitin*, *gliserylphorylcholin* dan memodifikasi struktur glikoprotein pada permukaan sperma (Johnson & Everit, 1988), sehingga sperma dapat bertahan hidup selama beberapa waktu setelah dikeluarkan dari saluran reproduksi. Selain itu, penelitian sebelumnya menyatakan bahwa kandungan antioksidan rosela berperan dalam menjaga metabolisme yang dibutuhkan oleh sperma.

Antosianin merupakan bahan antioksidatif yang berpengaruh pada siklus pertumbuhan sel. Diduga antosianin menghambat enzim pemicu apoptosis. Penghambatan enzim ini meningkatkan rentang kelangsungan hidup sel terhadap berbagai tekanan (Joshi, dkk., 2001, dikutip Kowalczyk, dkk., 2003).

Pemberian EEBR dapat mengurangi sperma yang memiliki morfologi abnormal. Bentuk-bentuk abnormalitas sperma dapat disebabkan oleh kesalahan dalam spermiogenesis (Salisbury & Vandemark, 1985). Spermiogenesis adalah proses transformasi spermatid menjadi sperma. Spermiogenesis dapat terjadi melalui ABP yang dihasilkan oleh sel Sertoli, sel Sertoli menghasilkan ABP melalui rangsangan FSH yang dihasilkan oleh hipofisis anterior. EEBR diduga dapat meningkatkan produksi GnRH yang akan memicu hipofisis anterior untuk menghasilkan FSH (Guyton & Hall, 1997). Selain itu, sel Sertoli membentuk estrogen untuk membantu proses spermiogenesis. Estrogen dibentuk dengan mengubah testosteron menjadi estradiol (Karch, 2010). EEBR mampu meningkatkan kadar hormon testosteron yang menurun akibat pemberian nikotin, sehingga proses spermiogenesis berjalan dengan baik dan mengurangi sperma abnormal. Kelainan morfologi sperma yang ditemukan dalam penelitian ini yaitu sperma dengan kepala makro, kelainan leher, ekor berbentuk koil, ekor melipat, kepala terlepas dari ekor, dan bagian tengah abnormal (Gambar 4.4). Kelainan ini banyak ditemukan pada kelompok perlakuan P1. Namun, kelainan ini juga ditemukan pada kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 dengan jumlah yang lebih sedikit dibandingkan P1.

Rata-rata persentase motilitas sperma mencit yang diinduksi nikotin meningkat melalui pemberian EEBR. EEBR mampu meningkatkan kadar hormon testosteron yang dihambat oleh nikotin. Kemampuan gerak sperma dipengaruhi oleh kesempurnaan susunan mitokondria. Testosteron tersebut

akan membantu proses pematangan sperma di epididimis. Sperma yang matang memiliki susunan mitokondria yang sempurna sehingga dapat menghasilkan energi yang optimal untuk melakukan pergerakan (Salisbury & Van Denmark, 1985). Selain itu, testosteron juga berperan dalam proses pengambilan glukosa yang akan dimetabolisme dalam mitokondria untuk menghasilkan ATP yang merupakan sumber energi utama bagi sperma untuk melakukan gerakan (Asmirandah & Soeradi, 1994).

Rata-rata persentase integritas membran sperma mencit meningkat melalui pemberian EEBR. Integritas membran plasma berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas sperma karena permeabilitas membran sangat penting bagi transpor zat-zat nutrien yang diperlukan oleh sperma untuk pergerakan maupun daya tahan hidupnya (Stoogar, dkk., 2003 & Maartens, 2013). Pematangan sperma di epididimis berpengaruh terhadap integritas membran plasma sperma. Kadar testosteron yang meningkat karena pemberian EEBR akan membantu proses pematangan sperma di epididimis (Salisbury & Vandemark, 1985). Selain itu, antosianin diduga dapat menjaga kestabilan integrasi protein dan bilayer lipid membran plasma sperma, sehingga integritas membran plasma meningkat (Luangpirom & Nawaphat, 2010)

Berdasarkan hasil pengamatan, pemberian EEBR pada dosis 3mg/10 g BB (P2) dan 6mg/10 g BB (P3) meningkatkan kuantitas dan kualitas sperma mencit yang diinduksi nikotin, namun kuantitas dan kualitas sperma mencit menurun pada dosis 9mg/10 g BB (P4). Hal ini dapat karena dosis 9mg/10 g BB diduga dapat mensekresikan testosteron terlalu banyak, sehingga menimbulkan efek langsung testosteron terhadap hipotalamus dalam menurunkan sekresi GnRH. Penurunan sekresi GnRH menyebabkan produksi LH dan FSH menurun (Guyton & Hall, 1997). Hal ini akan menyebabkan produksi testosteron. Produksi

testosteron yang menurun akan menyebabkan jumlah, viabilitas, morfologi normal, motilitas, dan integritas membran plasma sperma menciit menurun.

Sumbangan Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi materi tambahan pada Pelajaran Biologi di Sekolah Menengah Atas Kelas X Semester II pada Materi Pokok Kingdom Plantae Kompetensi Dasar 3.3 Mendeskripsikan Ciri-Ciri Divisio dalam Dunia Tumbuhan dan Peranannya bagi Kelangsungan Hidup di Bumi pada Materi Pembelajaran Peran Kingdom Plantae bagi Kehidupan. Materi tambahan tersebut disampaikan berdasarkan Rencana Pelaksanaan Pembelajaran (RPP) dengan bahan ajar yaitu Lembar Kerja Siswa (LKS). Model pembelajaran yang digunakan yaitu *Numbered Heads Together* (NHT).

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A. dan Alaaedin A. Hamza. 2006. Effect of Roselle and Ginger on Cisplatin-Induced Reproductive Toxicity in Rats. *Asian Journal of Andrology*, 8: 607-612.
- Anggara. 2009. Pengaruh Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomea reptans* poir.) terhadap Efek Sedasi pada Mencit Balb/c. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Arsyad, K.M. 1986. Macam-macam Kontrasepsi Pria Masa Depan dalam Peranan Pria dalam Keluarga Berencana. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan PANDI*. Bandung: Penerbit Tarsito.
- Asmirandah dan Soeradi, O. 1994. Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya In Vitro terhadap Kualitas Spermatozoa Manusia. *Majalah Kedokteran Indonesia*, Vol. 114 No. 10.
- BPOM. 2010. Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat: Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). Jakarta: Direktorat OAI.
- Badr, Osama M., El-Masry, S., Mansor, M., dan and Ebead, H.. 2013. Biochemical Effects of Nicotine on the Testis of Adult Male Rats. *New York Science Journal* 2013;6(12).
- Ballenger, L. 1999. "*Mus musculus*" (Online), Animal Diversity Web. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Mus_musculus. Diakses 28 November 2014.
- Destiansari, Elvira. 2011. Kuantitas dan Kualitas Sperma Menciit (*Mus musculus*) yang Diberi Ekstrak Etanol Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Sumbangannya bagi Pelajaran Biologi SMA. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.
- Fajri. 2014. Jumlah Perokok Naik, Indonesia Butuh Langkah Nyata. *Kompas*. Jumat, 10 Januari 2014. <Http://health.kompas.com/read/2014/01/10/1700092/Jumlah.Perokok.Naik.Indonesia.Butuh.Langkah.Nyata>. Diakses 13 April 2014.
- Fennema, O.R.. 1996. *Food Chemistry Third Edition*. New York: M.Dekker Inc. https://books.google.co.id/books?id=1OhFPZ7tFz8C&printsec=frontcover&dq=food+chemistry+fennema&hl=id&sa=X&ei=kikjVb3_NoXZ8gXF0IHIBg&ved=0CBsQ6AEwAA#v=snippet&q=nicotine&f=false. Diakses 1 April 2015.
- Fowles, J., Bates, M.. 2000. The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarette Smoke: Priorities for Harm Reduction. New Zealand: *Kenepuru Science Centre, Epidemiology and Toxicology Group*.
- Guyton, A.C.1995. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Penerjemah: Petrus Andrianto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Hanafiah, Kemas Ali. 2012. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi Edisi Ketiga*. Jakarta: Rajagrafindo Persada.
- Heyne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Penerjemah: Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Departemen Kehutanan.
- Hukkanen, J., Peyton Jacob Iii, dan Neal L. 2005. Benowitz Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics Pharmacol Rev* 57 : 79–115.
- Hussein, Rafaei M., Yasser E. Shahein, Amr E.El Hakim, dan Hanem M. Awad. 2010. Biochemical and Molecular Characterization of Three Colored Types of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of America Science* 6 (11): 726-733.
- ITB, 1986. *Hewan Percobaan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Johnsons, M. dan B. Everitt. 1990. *Essential Reproduction. 3rd edition*. http://books.google.co.id/books?id=qXpBst5hJs0C&pg=PT406&dq=Essential+Reproduction.+3rd+edition.&hl=id&sa=X&ei=_UMiU7aMJajriAfkx4DAAw&ved=0CCkQ6AEwAA#v=onepage&q=Essential%20Reproduction.%203rd%20edition.&f=false. Diakses tanggal 22 februari 2014.
- Junqueiram, Luis C. dan Carneiro Jose. 1995. *Histologi Dasar*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Karch, Amy M.. 2003. *Buku Ajar Farmakologi Keperawatan* Ed.2. Lippincott Williams & Wilkins Inc.: USA.
- KMKRI. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama. Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009*.
- Kowalczyk, E., Pawel Krzensinski, Marcin Kura, Bartosz Szmigiel, dan Jan Blaszczyk. 2003. *Anthocyanins in Medicine*. Polish Journal of Pharmacology.
- Luangpirom, Ampa dan Nawaphat Taweebot. 2010. Protective Effect of *Hibiscus sabdariffa* Linn. Calyx Extract on Tetracycline Induced Testicular Toxicity in Mice. *International Journal of The Bioflux Society* 2 (1): 21-26.
- Maartens, Johann P.. 2013. *Investigating the effects of nicotine on the male reproductive system*. Stellenbosch University.
- Mahanem, M.N., Nor-asmaniza, A.B., Phang, H.T., Muhammad, H.R.. 2006. Effects of Nicotine and Co-Administration of Nicotine and Vitamin E on Testis and Sperm Quality of Adult Rats. *Malays. Appl.* 35(2): 47-52.
- Mardiah., Sawarni, H., R. W. Ashadi., A. Rahayu. 2009. *Budi Daya dan Pengolahan Rosela si Merah Segudang Manfaat*. Cetakan 1. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Maslachah, Lilik, Rahmi Sugihartuti, dan Rahma Kurniasanti. 2008. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O₂·-) oleh Antioksidan Vitamin E (α-tocopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media Kedokteran Hewan Vol. 24, No. 1*.
- NLM (National Library of Medicine). 2005. Cotinine. *PubChem CID: 408*. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/408#section=Top>. Diakses 2 April 2015.
- Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Depok: Agro Media Pustaka.
- Obouayeba A. P., D. Nazaire Bernard, DIABATE S., D. Allico Joseph, N. Jean David, Kone Mongomake, dan

- Kouakou Tanoh H.. 2014. Phytochemical and Antioxidant Activity of Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) Petal Extracts. *RJPBCS* 5(2) Page No. 1453 *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*.
- Oguwike, F. N., Nwozor, C. M., Adinnu, C. D., Adeleye, G. S.. Effects of Oral Administration of Nicotine on Sex Hormone Concentrations of Adult Albino Rats. *International Journal of Health and Medical Information*, Vol.1, No. 1-3.
- Omotuyi, I.O., A. Ologundudu1, V. O. Onwubiko, M. D. Wogu, dan F. O. Obi. 2010. *Hibiscus sabdariffa* Linn Anthocyanins Alter Circulating Reproductive Hormones in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Diabetes and Endocrinology* Vol. 1(3), pp. 36-45.
- Oyeyipo I.P., Raji Y., Emikpe B.O., dan Bolarinwa A.F.. 2010. Effects of Oral Administration of Nicotine on Organ Weight, Serum Testosterone Level and Testicular Histology in Adult Male Rats. *Nig. J. Physiol. Sci.* 25(2010) 81- 86.
- Pernoll, Martin dan Benson, Ralph. 2008. *Buku Saku Obstetri dan Ginekologi*. http://books.google.co.id/books?id=wIntk4OgUIUC&pg=PR4&dq=Buku+Saku+Obstetri+dan+Ginekologi&hl=id&sa=X&ei=v0UiUSSMciIiQe40YDACQ&redir_esc=y#v=onepage&q=Buku%20Saku%20Obstetri%20dan%20Ginekologi&f=false. Diakses 28 Februari 2014.
- Qi, Yadong, Kit L., Chin, Fatemah Malekian, Milla Berhane, dan Janet Gager. 2006. Biological Characteristic, Nutritional, and Medicine Value of Roselle, *Hibiscus sabdariffa*. *Urban Forestry Resources and Enviroment*, 604.
- Rugh, R.. 1968. *The Mouse, Its Reproduction and Development 1st Edition*. Minneapolis: Burges Publishing Co.
- Salisbury, G.W. dan Vandermark N.L.. 1988. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Penerjemah: Djanur. UGM Press: Yogyakarta.
- Sarker, S.D., & Nahar, L., 2007. *Chemistry for Pharmacy Students General, Organic and Natural Product Chemistry*. England: John Wiley & Sons Ltd. <http://books.google.co.id/books?id=XAgpYnuMUToC&pg=PA7&dq=Chemistry+for+Pharmacy+Students+General,+Organic+and+Natural+Product+Chemistry&hl=id&sa=X&ei=JtcaVJ2tO5GKuASH8oHgAQ&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false>. Diakses 21 September 2014.
- Soares, S.. 2009. Smoking and Fertility. *Reproductive Biology Insights* 2009:2, 39-46.
- Soeradi, O.. 1989. Uji Fungsi Spermatozoa. Pit Pandi VII. Palembang.
- Storgaard L., Bonde J., Ernst E., Spano M., Andersen C., Frydenberg M., dan Olsen J.. 2003. Does smoking during pregnancy affect son's sperm counts?. *Epidemiology* 14(3):278-86.
- Syamsuni. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sukmaningsih. 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis pada Mencit (*Mus Musculus*) yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Biologi XIII* (2) : 31 - 35.
- Toelihere, M.R.. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung: Bandung.

- Ulfa, A.S. Yuliana dan Tjok T.B.. 2013.
Sawar Darah Otak. Bali: Fakultas
Kedokteran Universitas Udayana.
- WHO. 1994. *Penuntun Laboratorium WHO
untuk Pemeriksaan Semen Manusia
dan Interaksi Sperma-Getah Servik.*
Penerjemah: K.M. Arsyad dan Lucia
Hayati. Palembang: FK Biomedik
Unsri.