

**PENGARUH EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH  
(*Psidium guajava* L.) TERHADAP VIABILITAS  
SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*) YANG  
TERPAPAR ASAP ROKOK**

**SKRIPSI**



**OLEH:  
HINDUN  
NIM : H71214011**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN SAINS  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL**

**SURABAYA  
2018**

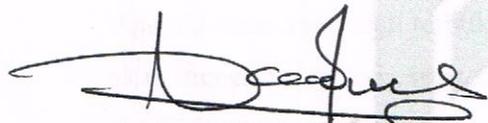
**PENGARUH EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH  
(*Psidium guajava* L.) TERHADAP VIABILITAS SPERMATOZOA  
MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERPAPAR ASAP ROKOK)**

Disusun oleh :  
Hindun  
H71214011

Telah dipertahakan di depan Dewan Penguji  
Pada tanggal 18 Juli 2018  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains (S.Si)

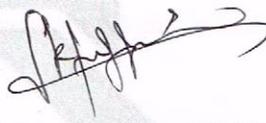
Susunan Dewan Penguji

Surabaya, 31 Juli.....2018  
Pembimbing (Penguji) I



Yuanita Rachmawati M.Sc  
NUP. 201603302

Surabaya, 26 Juli.....2018  
Pembimbing (Penguji) II



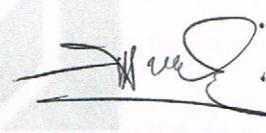
Saiku Rokhim M.KKK  
NIP. 19861221201403100

Surabaya, 30 Juli.....2018  
Penguji III



Mei Lina Fitri Kumalasari. M.Kes  
NIP. 198805182014032002

Surabaya, 26 Juli.....2018  
Penguji IV



Dr. Eni Purwanti. M.Ag  
NIP. 196512211990022001

Mengetahui  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Eni Purwanti. M.Ag.  
NIP. 196512211990022001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Hindun  
NIM : H71214011  
Program Studi : Biologi  
Angkatan : 2014

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.) terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Terpapar Asap Rokok.**

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya

Surabaya, 30 Juli 2018

Tanda tangan

  
Hindun

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

Setelah memeriksa dan memberikan arahan terhadap skripsi yang ditulis oleh:

Nama : Hindun

NIM : H71214008

Program Studi : Biologi

yang berjudul: **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH (*Psidium guajava* L.) TERHADAP VIABILITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) TERPAPAR ASAP ROKOK”**, tim pembimbing berpendapat bahwa skripsi tersebut dapat diajukan untuk disidangkan.

Surabaya, 5 juli 2017

Pembimbing I



Yuanita Rachmawati, M.Sc.  
NUP. 201603302

Pembimbing II



Saiku Rokhim, M. KKK  
NIP.198612212014031001



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA**  
**PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

---

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : HINDUN  
NIM : H71214011  
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI / BIOLOGI  
E-mail address : zitihindun321@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi     Tesis     Desertasi     Lain-lain (.....)  
yang berjudul :

PENGARUH EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH (*Psidium guajava* L.)

TERHADAP VIABILITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*)

YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 1 Agustus 2018

Penulis

(HINDUN)

















spermatogenesis, dan merusak morfologi spermatozoa sedangkan nikotin dapat menghambat sel Leydig sehingga menghambat sekresi hormon testosteron (Revel, 2011).

Paparan rokok merupakan faktor eksogen yang dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif baik pada proses spermatogenesis. Rokok menyebabkan stres oksidatif dengan meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menurunkan level antioksidan endogen testis, sehingga mengakibatkan membran sperma mengalami peroksidasi lipid, kerusakan DNA dan apoptosis yang menyebabkan penurunan kualitas, viabilitas dan motilitas spermatozoa (Durairajanayagam *et al.*, 2014).

Terdapat 4000 bahan beracun didalam asap rokok diantaranya yaitu alkaloid, nitrosamin dan molekul anorganik (Kurnia *et al.*, 2011). Asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal untuk melepaskan katekolamin, yang dapat mempengaruhi sistem syaraf pusat. Adanya gangguan sistem syaraf pusat akan mengganggu proses spermatogenesis dan sintesis hormon testosteron melalui mekanisme umpan balik antara hipotalamus hipofisis anterior dan testis (Sukmaningsih, 2003). Gangguan tersebut mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi spermatozoa pada saat terjadinya proses spermatogenesis. Perubahan morfologi akan menimbulkan peningkatan spermatozoa yang abnormal. Selain itu terjadi penurunan jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, spermatid dan lapisan sel spermatogenik yang ditandai dengan penurunan persentase spermatozoa normal, motilitas spermatozoa, dan viabilitas spermatozoa (Rike, 2012).

Evaluasi merokok terhadap sistem urogenital sangat penting terutama pada generasi muda, mengingat telah banyak penelitian yang menunjukkan efek merusak rokok terhadap tubuh dan sistem reproduksi baik pada hewan dan manusia (Sri Amin, 2010). Penelitian mengenai efek bahan kimia rokok terhadap sistem reproduksi yang dilakukan oleh Bizzaro *et al.*, 2003 membuktikan bahwa adanya gangguan spermatogenesis pada mencit meskipun telah diberikan nutrisi secara langsung ke lambung.

Penelitian pada mencit didapatkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan penurunan kualitas sperma, meliputi; penurunan jumlah dan motilitas sperma, dan peningkatan sperma abnormal, serta mempengaruhi gambaran histologis pada testis berupa penurunan jumlah sel germinal, dan lapisan epitel germinal, penurunan diameter tubulus seminiferus, serta apoptosis sel genital pada testis.

Penelitian pada manusia, didapatkan bahwa kebiasaan merokok berdampak pada kelainan morfologi dan motilitas spermatozoa. Mehrannia, (2008) dalam penelitiannya menemukan bahwa merokok secara signifikan menurunkan kualitas cairan ejakulat berupa penurunan pH, penurunan volume semen, jumlah, dan viabilitas spermatozoa. Sementara itu pada kelompok perokok ringan, sedang, dan berat tidak terdapat perbedaan bermakna pada kualitas semennya, namun perokok berat didapatkan memiliki perbedaan paling besar dibandingkan kelompok lainnya.

Menurut Kumalaningsih (2008), efek radikal bebas dari paparan asap rokok dapat dihambat oleh antioksidan yang akan memberikan elektronnya

kepada radikal bebas sehingga menjadi stabil. Asupan antioksidan sangat dibutuhkan untuk menghindari dampak buruk dari radikal bebas yang berlebih. Salah satu antioksidan yang dapat menghindari dampak buruk tersebut adalah vitamin C yang dapat berperan dan mampu mencapai cairan sperma delapan kali lebih efektif jika dibanding dengan aliran darah (Sunarmani dkk, 2008).

Paparan asap rokok dapat menimbulkan stress oksidatif sehingga menyebabkan kerugian pada sebagian fungsi testis. Perlawanan utama terhadap stres oksidatif ini dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian antioksidan berpotensi untuk memperbaiki gangguan reproduksi pria karena stres oksidatif. Antioksidan yang umum digunakan antara lain adalah vitamin C, vitamin E, Selenium, Q10, dan karoten.

Untuk mengurangi efek negatif dari asap rokok dibutuhkan Antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas di dalam tubuh, sehingga proses oksidasi pada sel-sel tubuh tidak berlanjut, untuk melindungi tubuh diperlukan bahan antioksidan yang dapat menetralkan dampak negatif radikal bebas. Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralkan oleh antioksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri maupun suplemen dari luar melalui makanan, minuman, dan obat-obatan, seperti vitamin C (Sukandar, 2006).

Vitamin C merupakan salah satu vitamin yang diperlukan oleh tubuh dan berfungsi untuk meningkatkan sistem imunitas tubuh. Bila dalam tubuh kebutuhan vitamin dan mineral mencukupi, maka segala jenis penyakit dapat dicegah. Mengonsumsi vitamin C yang juga berfungsi sebagai antioksidan













utama yang terdapat dalam asap rokok, yaitu karbonmonoksida, nikotin, dan tar (Kurnia *et al.*, 2013).

Menurut Aina (2005), Karbonmonoksida merupakan gas racun yang tidak berwarna dan tidak berbau. Karbonmonoksida dapat menyebabkan berkurangnya sirkulasi oksigen dalam tubuh. Nikotin merupakan senyawa yang diserap ke dalam sistem pembuluh darah melalui paru-paru, disirkulasikan ke otak dan dapat menyebabkan penurunan kadar hormon testosteron. Tar merupakan bahan karsinogenik campuran yang dapat menyebabkan berbagai penyakit diantaranya kanker, penyakit jantung, bronchitis, gangguan kehamilan, dan impotensi.

Kandungan senyawa penyusun rokok yang dapat mempengaruhi pemakai adalah golongan alkaloid yang bersifat perangsang (stimulant). Alkaloid yang terdapat dalam daun tembakau antara lain: nikotin, nikotirin, anabasin, myosmin, dan lain-lain. Nikotin adalah senyawa yang paling banyak ditemukan dalam rokok sehingga semua alkaloid dianggap sebagai bagian dari nikotin. Kandungan yang paling sering terdapat dalam satu batang rokok dapat dilihat pada gambar 2.1 dibawah ini.



Mekanisme addiksi nikotin terjadi karena adanya interaksi antara nikotin dengan *Nicotinic Acetylcholine Receptors* (nAChRs) pada otak di daerah mesolimbik dopamin system di Ventral Tegmental Area (VTA) neuron yang mengawali aktivasi Central Nervus System (CNS) termasuk *system Mesoaccumbens Dopamin*. Reseptor nikotin ini mengatur pelepasan dopamin. Nikotin mengubah aktivitas VTA untuk meningkatkan sekresi dopamine. Dopamin yang dilepaskan berperan dalam pengontrolan fungsi aktivitas lokomotorik kognisi, emosi, reinsformen positif, serta regulasi endokrin. Akibat dari pelepasan dopamin ini pun akan menimbulkan perasaan nyaman bagi perokok (Mu'nisa, 2012).

Penggunaan nikotin secara akut maupun kronik dapat menimbulkan toleransi. Toleransi akut terjadi akibat desensitasi reseptor, yaitu saat nikotin berikatan dengan reseptor nikotin akan terjadi perubahan alosterik dan reseptor nikotin menjadi tidak sensitif terhadap nikotin beberapa waktu. Penggunaan kronik akan meningkatkan jumlah reseptor nikotin yang mungkin merupakan akibat dari desensitasi reseptor.

Dalam keadaan tersebut jika nikotin tidak tersedia, maka pelepasan dopamine dan neurotransmitter lainnya akan menurun dibawah normal sehingga menimbulkan efek putus obat. Gejala yang timbul akibat putus obat tersebut antara lain rasa cemas, sulit berkonsentrasi, sulit istirahat, gangguan depresi, dan depresi.



Beberapa penelitian menunjukkan bahwa merokok dapat mengakibatkan kerusakan DNA melalui fragmentasi DNA seluler, meningkatkan radikal bebas, menurunkan antioksidan pada semen, gangguan spermatogenesis dan abnormalitas spermatozoa (Ayni, 2006). Menurut Rahmatullah (2009) Konsentrasi dan jumlah spermatozoa pada perokok aktif 23% lebih rendah dibandingkan dengan perokok pasif.

Zat adiktif dalam rokok terbagi menjadi dua reaksi, yaitu reaksi pembakaran dan reaksi pirolisa. Reaksi pembakaran, zat adiktif akan bereaksi dengan oksigen akan membentuk senyawa  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}$ . Reaksi pirolisa menyebabkan pemecahan struktur kimia rokok menjadi banyak senyawa kimia sederhana (Sukmaningsih, 2009).

Satu batang rokok yang dibakar, akan menghasilkan sekitar 4000 macam bahan kimia, diantaranya ada 400 macam bahan kimia tersebut bersifat toksik seperti, tar, nikotin, nitrosamin, karbonmonoksida, senyawa *Poly nuclear Aromatic Hydrogen* (PAH), fenol, karbonil, klorin dioksin dan furan (Aina, 2005).

## B. Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.)

### 1. Klasifikasi dan Deskripsi *Psidium guajava* L.

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Psidium</i>
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L. ( Parimin, 2005).

Jambu biji merah merupakan tanaman musiman yang banyak ditemukan di Indonesia. Umur tanaman ini dapat mencapai puluhan tahun dan pohonnya juga dapat tumbuh besar dan tinggi (5 meter – 10 meter). Buah jambu biji merah memiliki bentuk, ukuran dan rasa yang beragam. Bentuknya ada yang bulat, agak bulat dan bulat lonjong, ukurannya ada yang besar, sedang, dan kecil. Demikian pula rasanya, ada yang manis, agak manis, dan hambar (Cahyono, 2010 ).

Tanaman jambu biji berbentuk perdu atau pohon kecil, tinggi buah sampai 10 m dan bercabang banya. Batangnya berkayu, keras, kulit batang licin, mengelupas, berwarna coklat kehijauan. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, daun muda berambut halus, permukaan atas daun tua licin. Helaian daun berbentuk bulat telur agak jorong, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata agak melekok ke atas, pertulangan menyirip,



## 2. Kandungan dan Manfaat *Psidium guajava* L.

Jambu biji (*Psidium guajava* L.) sangat disukai banyak orang karena rasa buahnya yang manis dan menyegarkan serta kandungannya yang beragam (Ochtavia *et al.*, 2014). Tanaman ini memiliki kandungan yang hampir sama pada buah, daun, batang, dan akarnya. Buah jambu biji merah mengandung senyawa tanin, asam linolenik, asam linoleic, phenol triterpenes, flavanoids, asam guajavolik, asam guajavanoik, asam gitavacoumarik, asam galaturonik, asam asphaltic, benzaldehyde, carofenoid, essential oils, cecctin, serat, asam lemak,  $\beta$ -karoten, vitamin E, selenium, seng, kalium, besi, lutein (astaxantin), xantin, ellagic, acid, anthozyanidin, lignin, vitamin E dan A dan likopen.

Jambu biji juga mengandung likopen. Likopen adalah karotenoid (pigmen penting dalam tanaman) yang terdapat dalam darah serta memiliki aktivitas antioksidan (BPPHP, 2012). Buah jambu biji ini juga merupakan sumber zat besi yang baik dan sumber kalsium, fosfor dan vitamin A yang lebih tinggi untuk buah jambu berdaging merah. Kandungan vitamin C jenis berdaging merah juga lebih tinggi dari pada jenis berdaging putih (Coronel, 2012).

Kemampuan likopen dalam mengendalikan singlet oxygen (oksigen dalam bentuk radikal bebas) 100 kali lebih efisien daripada vitamin E atau 12500 kali dari pada glutathation. Singlet oxygen merupakan prooksidan yang terbentuk akibat radiasi sinar ultra violet dan dapat menyebabkan penuaan dan kerusakan kulit. Selain sebagai anti skin aging, likopen juga memiliki

manfaat untuk mencegah penyakit cardiovascular, kencing manis, osteoporosis, infertility, dan kanker (kanker kolon, payudara, endometrial, paru-paru, pankreas, dan terutama kanker prostat). Ini semua diakibatkan banyaknya ikatan rangkap dalam molekulnya (Di Mascio P., Kaiser., dan Sies.,2015). Sebagai antioksidan, likopen dapat melindungi DNA, di samping sel darah merah, sel tubuh, dan hati.

Konsumsi likopen dapat meningkatkan jumlah spermatozoa dan memperbaiki struktur membran sitoplasma di kepala spermatozoa (akrosom), sehingga akan mempertahankan gerakan spermatozoa untuk tetap progresif. Selain itu, juga dapat meningkatkan agresivitas spermatozoa setelah mengalami kerusakan dengan mencegah kerusakan kontraksi fibril-fibril yang berada pada ekor spermatozoa sehingga mampu bergerak normal kembali (Asrorudin, 2014).

Menurut Briggs (2014) likopen memperbaiki spermatogenesis dengan cara melindungi otak dan cairan otak untuk melawan radikal bebas dalam tubuh sehingga reaksi berantai akan terhenti dan sistem saraf pusat akan terlindungi dari kerusakan dan kelenjar hipofisis akan memproduksi hormon-hormon seperti FSH dan LH dengan normal. Secara umum, komposisi kimia dalam 100g buah jambu biji merah yaitu:



mamalia terbanyak kedua di dunia, setelah manusia. Mencit sangat mudah menyesuaikan diri dengan perubahan yang dibuat manusia, bahkan jumlahnya yang hidup liar di hutan barang kali lebih sedikit dari pada yang tinggal di perkotaan (Anonim 2013).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan mamalia hasil domestikasi dari mencit liar yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium, yaitu sekitar 40%-80%. Banyak keunggulan yang dimiliki oleh mencit sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganan (Moriwaki *et al.*, 2014). Smith dan Mangkowidjojo (2014) menyatakan bahwa mencit sebagai hewan percobaan sangat praktis untuk penelitian kuantitatif, karena sifatnya yang mudah berkembang biak, selain itu mencit juga dapat digunakan sebagai hewan model untuk mempelajari seleksi terhadap sifat-sifat kuantitatif.

Mencit merupakan hewan poliestrus, yaitu hewan yang mengalami estrus lebih daripada dua kali dalam setahun. Seekor mencit betina akan mengalami estrus setiap 4-5 hari sekali. Menurut Malole dan Pramono (2014) mencit betina memiliki lima pasang kelenjar susu, yaitu tiga pasang di bagian dada dan dua pasang di bagian inguinal.

Petter (2013) menjelaskan bahwa mencit (*Mus musculus*) dan tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan omnivora alami, sehat, kuat, prolifrik, kecil, dan jinak. Mencit laboratorium memiliki berat badan yang bervariasi antara







- b) Hilangnya ingatan (*amnesia*)
- c) Hilangnya respon terhadap rangsangan atau reflex
- d) Hilangnya gerak spontan (*immobility*)
- e) Hilangnya kesadaran (*unconsciousness*)

Sebelum tindakan anesthesia pada hewan, sangat penting dilakukan pemeriksaan kesehatan, dengan memperhatikan beberapa faktor :

- a) Tujuan percobaan
- b) Bentuk perlakuan
- c) Lama atau waktu perlakuan
- d) Jenis dan ukuran hewan
- e) Kondisi hewan

Metode umum yang digunakan dalam teknik pembiusan (anesthesia) hewan coba adalah melalui inhalasi dan melalui injeksi.

- a. Metode oral, dengan menggunakan sonde oral yang ditempelkan pada langit-langit mulut atas hewan coba, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai ke esophagus, lalu cairan obat (pentobarbital natrium dan heksobarbital natrium) dimasukkan.
- b. Metode inhalasi, dengan menggunakan kapas yang dibasahi chloroform yang dimasukkan dalam suatu tempat kedap udara yang sesuai ukuran hewan, kemudian kemudian hewan coba dimasukkan juga dalam tempat tersebut, ditunggu hingga pingsan. Bisa juga dengan menggunakan kapas yang telah diberi chloroform secukupnya,







tidak menghisap zat warna, sedangkan sel spermatozoa yang mati akan menghisap warna, sehingga dibawah mikroskop terlihat sangat kontras sesuai dengan zat warna yang diberikan (Partodiharjo, 2015). Viabilitas spermatozoa tidak dapat dilakukan atas dasar motil atau tidaknya. Hal ini karena sel spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati sehingga tidak menghisap zat warna. Spermatozoa yang hidup dan bergerak mungkin juga mempunyai cacat pada dinding selnya, sehingga dapat menghisap zat warna (Partodiharjo, 2015).

Teknik pewarnaan eosin-nigrosin dilakukan untuk penilaian viabilitas spermatozoa. Teknik ini memberikan hasil yang valid ketika dievaluasi dengan data motilitas spermatozoa yang diperoleh, sesuai dengan standar Organisasi Kesehatan Dunia (WHO). Teknik pewarnaan differensial eosin nigrosin merupakan teknik yang sederhana untuk pengujian viabilitas spermatozoa (Björndahl *et al.*, 2004). Zat warna eosin akan diserap oleh spermatozoa yang mati sehingga akan berwarna merah atau merah muda akibat permeabilitas dinding sel meninggi pada sel spermatozoa yang mati, sedangkan nigrosin akan mewarnai latar dari spermatozoa. Spermatozoa hidup kepala berwarna putih dan spermatozoa mati kepala berwarna merah dapat dilihat pada gambar 2.6.





Berdasarkan pada gambar 3.1 menunjukkan bahwa asap rokok mengandung radikal bebas diantaranya tar, nikotin, dan karbonmonoksida. Apabila radikal bebas yang terakumulasi di dalam sel tersebut diberi ekstrak buah jambu biji maka dapat menghambat radikal bebas sehingga sel spermatozoa resistan dan menyebabkan meningkatnya viabilitas spermatozoa. Sedangkan apabila radikal bebas tidak dihambat oleh ekstrak jambu biji merah maka radikal bebas dapat terakumulasi dalam sel yang dapat menyebabkan sel spermatozoa rusak sehingga menurunnya sel spermatozoa.

#### **B. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak buah jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) terhadap viabilitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok.









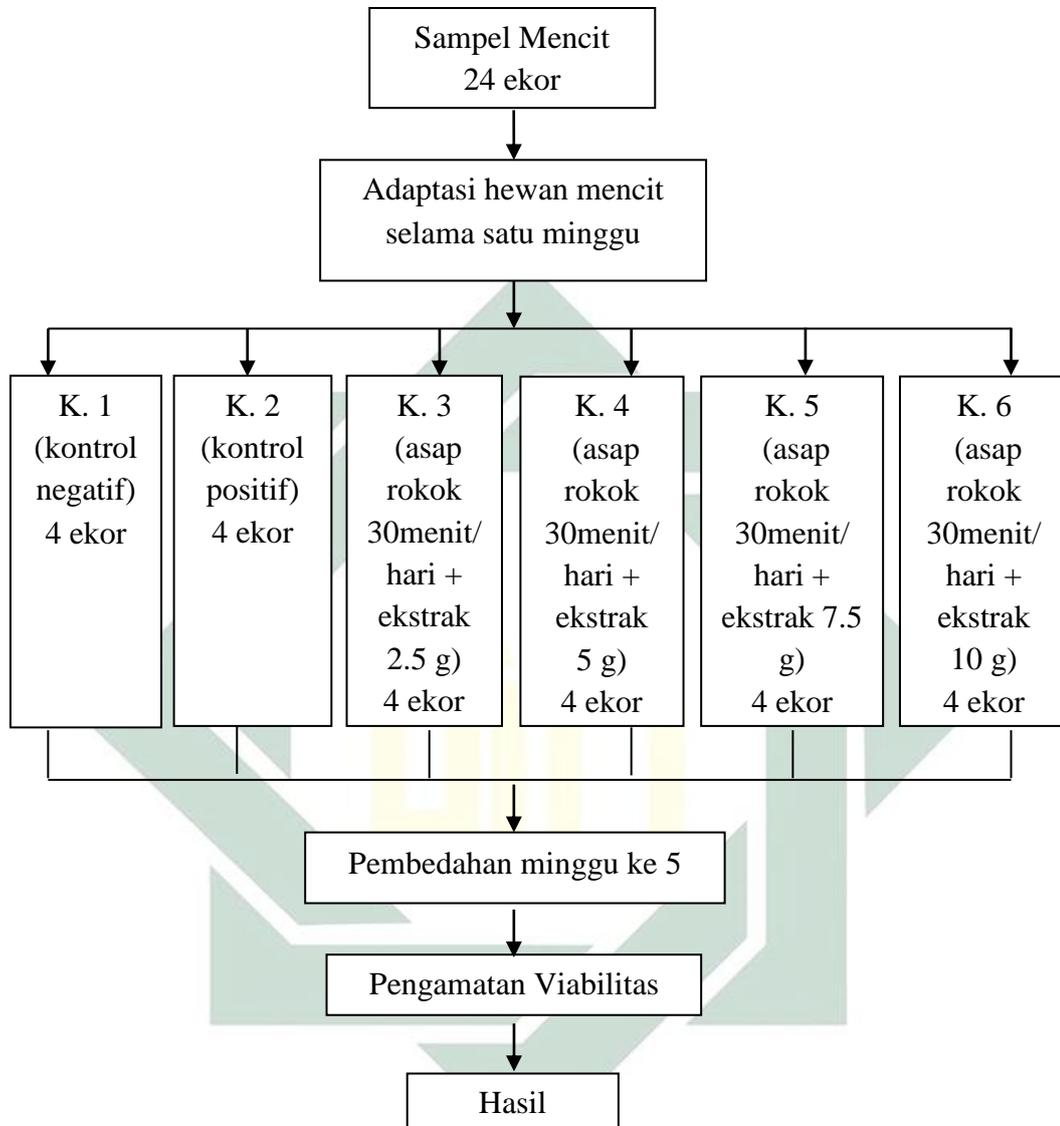


- d. Serbuk yang telah halus ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimaserasi dengan pelarut aseton 50% selama 72 jam sambil sesekali diaduk.
  - e. Serbuk yang telah dimaserasi disaring dengan corong buncher.
  - f. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator suhu 80°C sampai diperoleh ekstrak kental.
  - g. Ekstrak kental yang dihasilkan selanjutnya disimpan pada suhu 10-15 °C.
  - h. Ekstrak kental diencerkan dengan aquades 30 ml kemudian diujikan pada hewan coba.
4. Perlakuan pada hewan coba.
- a. Mencit dipindahkan ke dalam *Smoking chamber* dan diberi perlakuan paparan asap rokok pada mencit K2, K3, K4, K5, dan K6 selama 30 menit /hari secara bertahap.
  - b. Mencit dikeluarkan dari *Smoking chamber* dan dipindahkan kembali ke dalam kandang.
  - c. Mencit diberi perlakuan pemberian ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L) secara oral dengan menggunakan jarum sonde sesuai dosis yang ditentukan.
  - d. Perlakuan tersebut dilakukan berturut-turut selama satu bulan
5. Isolasi spermatozoa (Hayati dkk, 2005)
- a. Mencit (*Mus musculus*) dieutanasi dengan klorofom.
  - b. Kemudian dilakukan pembedahan.

- c. Satu pertiga terakhir dari cauda epididimis di potong.
  - d. Dipisahkan dari perlekatan lipid Spermatozoa dilakukan dengan cara flushing atau pencacahan.
  - e. Kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang mengandung 4 ml NaCl.
6. Pengamatan Viabilitas Spermatozoa
- a. Satu tetes semen diletakkan diatas gelas objek.
  - b. Ditambahkan 3-4 tetes pewarna eosin nigrosin.
  - c. Dihomogenkan kemudian dibuat preparat ulas kemudian dikeringkan.
  - d. Diamati jumlah spermatozoa tiap 5-10 lapang pandang.
  - e. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x.
  - f. Spermatozoa hidup tidak menyerap warna eosin.
  - g. Spermatozoa mati akan menyerap warna merah.
  - h. Persentase spermatozoa hidup dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase Spermatozoa hidup} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Jumlah total spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

## F. Prosedur Operasional



## G. Analisis Data

Data diolah dengan menggunakan *SPSS 16.00*. Tahap pertama dilakukan pengujian normalitas untuk mengetahui normal tidaknya suatu distribusi data. Uji normalitas dalam penelitian ini menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov*, kemudian dilanjutkan uji homogenitas untuk mengetahui varian sampel yang diteliti, apakah kedua sampel tersebut mempunyai varian yang sama (homogen) atau tidak. Hasil analisis menunjukkan bahwa data berdistribusi normal tetapi tidak homogen maka tidak memenuhi syarat untuk uji *One Way Anova*. Oleh karena itu analisis dilanjutkan uji *Kruskal Wallis*. Tahap selanjutnya adalah uji *Mann-Whitney* digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok dengan derajat kemaknaan  $P < \alpha$ .







Pada kelompok eksperimen K3, K4, K5 dan K6 mencit dipindahkan ke dalam *Smoking chamber* dan diberikan paparan asap rokok kemudian mencit dipindah kembali ke dalam kandang masing – masing. Mencit diberi perlakuan pemberian ekstrak buah jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) secara oral dengan menggunakan sonde dengan sesuai dosis yang ditentukan. Pada kelompok eksperimen K2 mencit hanya diberi perlakuan paparan asap rokok saja. Perlakuan tersebut dilakukan secara berturut-turut selama 35 hari. Selanjutnya pada hari ke 35 hari dilakukan proses pembedahan.

#### **B. Ekstraksi Buah Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.)**

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa aktif menggunakan pelarut tertentu. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi dengan menggunakan pelarut aseton yang akan menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman. Menurut Akowuah dkk (2008), maserasi merupakan suatu metode perendaman yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut dengan waktu yang ditentukan. Adapun tujuan menggunakan metode maserasi yaitu untuk menarik zat-zat yang tahan dalam pemanasan maupun yang tidak tahan dalam pemanasan dengan teknik perendaman (Yulianingtyas & Bambang, 2016). Aseton merupakan keton yang paling sederhana dan pelarut polar. Aseton juga disebut sebagai dimetil keton, 2-propanon. Aseton memiliki gugus karbonil yang mempunyai ikatan rangkap dua karbon-oksigen









Selanjutnya, dalam penelitian ini dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui varian sampel yang diteliti, apakah kedua kelompok tersebut mempunyai varian yang sama (homogen) atau tidak. Uji homogenitas data pada pengaruh pemberian ekstrak buah jambi biji merah *P. guajava* L terhadap viabilitas spermatozoa mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar asap rokok diperoleh hasil  $P < 0,01$ .

Berdasarkan hasil pengolahan data yang telah dilakukan uji *Homogeneity of Variance* diperoleh hasil  $P < 0,01$  jika data menunjukkan bahwa  $P < \alpha$  (0,05) maka data tidak homogen. Hasil analisis menunjukkan bahwa data berdistribusi normal tetapi tidak homogen maka tidak memenuhi syarat untuk uji *One Way Anova*. Oleh karena itu analisis data dilanjutkan Uji *Kruskal-Wallis H*.

Berdasarkan hasil pengolahan data yang telah dilakukan dengan menggunakan Uji *Kruskal Wallis H* diperoleh hasil  $P Value$   $0,003 < \alpha$  (0,05) data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada masing-masing perlakuan. Perbedaan bermakna menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak buah jambu biji merah *P. guajava* L. terhadap viabilitas spermatozoa mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar asap rokok. Hasil uji *Kruskal Wallis* dapat dilihat pada lampiran satu.

Tahap selanjutnya adalah uji *Mann-Whitney*. Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok dengan derajat kemaknaan  $P < \alpha$ . Hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 5.5.



Pada Gambar 5.7 diketahui bahwa pada dosis 2,5 mg/kg/bb menyebabkan persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Demikian pula pada pemberian ekstrak buah jambu biji merah pada dosis 5 mg/kg/bb. Pada pemberian ekstrak buah jambu biji merah dosis 7,5 mg/kg/bb menyebabkan meningkatnya persentase viabilitas spermatozoa secara nyata dibandingkan kontrol dan berbeda tidak nyata dibandingkan dosis 10 mg/kg/bb. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 7,5 mg/kg/bb merupakan dosis efektif yang memberikan pengaruh yang meningkat secara nyata dibandingkan kontrol.

Viabilitas spermatozoa pada semen mencit jantan adalah K5 82,75%. viabilitas semen tersebut termasuk kategori sangat baik karena persentase viabilitas di atas 70%, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Arifantini (2005), dengan pengaruh pemberian ekstrak kuda laut terhadap viabilitas spermatozoa bahwa persentase viabilitas spermatozoa pada semen segar yang diperoleh adalah 83,38-88,94%, ini artinya persentase viabilitas pada penelitian masih masuk golongan baik. Pada kelompok dosis K5 7,5 mg/BB/hari merupakan dosis yang optimal terhadap persentase viabilitas spermatozoa mencit jantan. Peningkatan viabilitas spermatozoa tersebut dikarenakan kandungan vitamin C sebanyak 87 mg/100 (Hadisaputra, 2012). Senyawa-senyawa yang terdapat dalam buah jambu biji merah dapat mencegah terbentuknya radikal bebas dalam tubuh atau sebagai antioksidan (Sutrisna, 2005). Sehingga kandungan-kandungan

senyawa tersebut dapat menghambat radikal bebas dari paparan asap rokok pada mencit jantan.

Perlakuan dengan pemaparan asap rokok kretek pada mencit jantan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa presentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak asap rokok yang dipaparkan maka konsentrasi spermatozoa semakin sedikit. Penurunan konsentrasi spermatozoa ini terjadi diakibatkan oleh kandungan zat kimia pada asap rokok seperti nikotin, tar, karbonmonoksida sehingga berpotensi untuk menimbulkan peningkatan produksi radikal bebas (Aina, 2005). Peningkatan radikal bebas ini akan merusak membran dari sel-sel spermatogenik, mengganggu transport ion-ion penting bagi proliferasi dan pertumbuhan sel-sel spermatogenik, merusak DNA spermatozoa dan meningkatkan terjadinya apoptosis spermatozoa. Selain itu kandungan zat kimia pada asap rokok juga dapat menyebabkan penurunan jumlah spermatosit dan spermatid karena dalam asap rokok masih banyak zat-zat kimia yang menghambat proses spermatogenesis sehingga mengakibatkan konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan lebih sedikit (Faranita, 2009).

Sedangkan pada perlakuan dosis 10 mg/kg/bb menunjukkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh absorpsi ekstrak jambu biji dengan dosis yang lebih tinggi lebih sulit karena kepekatan makin tinggi, sehingga onset ekstrak jambu





Untuk mengurangi efek negatif dari asap rokok dibutuhkan Antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas di dalam tubuh, sehingga proses oksidasi pada sel-sel tubuh tidak berlanjut, untuk melindungi tubuh diperlukan bahan antioksidan yang dapat menetralkan dampak negatif radikal bebas. Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralkan oleh antioksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri maupun suplemen dari luar melalui makanan, minuman, dan obat-obatan, seperti vitamin C (Sukandar, 2006). Jambu biji merah dapat dijadikan sebagai antioksidan atau obat karena memiliki potensi sebagai antioksidan alami dengan kandungan vitamin C yang tinggi mencapai 228 mg/100 gram dibandingkan dengan jeruk nipis. Sehingga dapat dibuktikan bahwa jambu biji merah dapat menghambat radikal bebas yang disebabkan oleh paparan asap rokok.

Menurut Abu Adib bahwasanya semua penyakit yang menimpa manusia maka Allah SWT menurunkan obatnya. Kadang ada orang yang menemukan obatnya, ada juga yang tidak menemukan obatnya. Oleh karena itu seseorang harus bersabar untuk selalu berobat dan terus berusaha untuk mencari obat ketika sakit, juga selalu berdoa kepada Allah SWT sehingga kita diberi kesembuhan.

Berdasarkan uraian di atas, maka dari penelitian ini dapat disajikan sintesa penelitian yang dapat dilihat pada tabel 5.4 berikut:









- Bizzaro, P., Acevedo, G., Nino-Cabrera, P., Mussali-Galante, F., Pasos, M.R., Avilacosta, T.I., Fortoul. 2003. Ultrastructural modification in the mitochondrion of mouse sertoli cells after inhalation of lead, cadmium or lead-cadmium mixture. *Reproductive Toxicology*, 17, 561-566.
- Björndahl, L., Söderlund, I., Johansson, S., Mohammadi, M., Pourian, M. R., & Kvist, U. 2004. Why the WHO recommendations for eosin-nigrosin staining techniques for human sperm vitality assessment must change. *Journal of andrology*, 25(5), 671-678.
- Champion for health.2012. What's in a cigarette?.diakses pada 10 november 2017.<<http://www.championsforhealth.wales.nhs.uk/>>.
- 
- Departemen Kesehatan. 2008. *Tatalaksana penanganan DBD*. Jakarta.
- Durairajanayagam, D., Agarwal, A., Ong, C., & Prashast, P. 2014. Lycopene and male infertility. *Asian journal of andrology*, 16(3), 420.
- Di Mascio, P., Kaiser, S., & Sies, H. 2015. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of biochemistry and biophysics*, 274(2), 532-538.
- Dohle, G. R., Weidner, W., Jungwirth, A., Colpi, G., Papp, G., Pomerol, J., & Hargreave, T. B. 2004. Guidelines on male infertility. *European Association of Urology*.
- Fowles, J., Bates, M., & Noiton, D. 2010. The chemical constituents in cigarettes and cigarette smoke: priorities for harm reduction. *A report to the New Zealand Ministry of Health*, 1-65.
- Ginting, R. Y. 2008. Pengaruh Pengolahan Terhadap Kadar Likopen Buah Tomat dan Pengaruh Penyimpanan pada Suhu Dingin (Refrigeration) Terhadap Mutu Produk Olahan Tomat.
- Guyton. 2013. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit* (3rd edition). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Guyton AC, Hall EJ. 1999. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Ed. 9, Editor : Setiawan I, EGC. Jakarta.
- Hadisaputra, 2017. Pengaruh Perbandingan Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Dengan Roslla (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dan Jenis Jambu Biji Terhadap Karakteristik Jus. *Skripsi*. Unpas.
- Hapsoh, H. Y. 2011. Budidaya tanaman obat dan rempah. *Medan: USU Press. Hal, 53*.

- Hawari, D. 2008. Integrasi agama dalam pelayanan medik. *Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.*
- Johnson Milton & Everitt B, 2015. Testicular Function in The Adult. Dalam *Essential Reproduction.Fifth*
- Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WMC, 2015. Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci* 62 : 143–172.
- Kumalaningsih, Sri. 2007. Antioksidan alami.Surabaya:TrubusAgrisarana.
- Kurnia, H., Permatasari, N., Subandi. 2013. Pengaruh ekstrak biji jantan hitam terhadap mda dan sel spermatogonium tikus yang dipapar asap rokok kretek subakut. Malang: Universitas Brawijaya.
- Kurniawan Ade Putra. 2011. Formalin dan Boraks pada Makanan. Bandung:Institut Teknologi Bandung.
- Kustanti, F., dan Ajianni, M. Y. 2000. *Ekstraksi Minyak Mentah Dari Kopra Dengan Solven Campuran Benzena Dan n – Heksane.* Universitas Diponegoro, Semarang.
- Maharani, N., Kuwabara, M., & Hisatome, I. 2016. Hyperuricemia and atrial fibrillation. *International heart journal*, 57 (4), 395-399.
- Martin, T. The Effect of Smoking on Human Health. document on the internet. Diunduh 13 April 2010. <<http://www.about.com>>.
- Maulidia, D & Zulkarnaen N. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton, Dan Etanol. *Skripsi.* Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang.
- Mu'nisa, A. 2012. Analisis Kadar Likopen Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Tomat Asal Sulawesi Selatan. *Jurnal Bionature. Prodi Biologi, FMIPA*, 13 (1).62-66.
- Mulyono, Subangkit. 2011. Teknik pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya : Jakarta
- Michele, K.,Sankako L., Patricia, C.G., Renata, C.P., Bruna, D., Débora, C.D., Oduvaldo C.M.P. 2012.Possible mechanism by which zinc protects the testicular function of rats exposed to cigarette smoke.*Pharmacological Reports*, 64 (6):1537-1546.

- Nahid, P., Dorman, S. E., Alipanah, N., Barry, P. M., Brozek, J. L., Cattamanchi, A. & Higashi, J. M. 2016. Official American thoracic society/centers for disease control and prevention/infectious diseases society of America clinical practice guidelines: treatment of drug-susceptible tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases*, 63(7), e147-e195.
- Nurlela, J. 2015. The effect of leaf green grass jelly extract (*Cyclea l. barbata* miers) to motility in mice balb/c male that exposed smoke. *Jurnal Majority*, 4(4).
- Ochtavia, sherly; Hamidah, & Junairiyah. 2014. Biosistematika varietas pada buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) melalui pendekatan morfologi di agrowisata bhakti alam nongkojajar, pasuruan. Departemen biologi, fakultas sains dan teknologi, universitas airlangga.
- Pacifici, R. I., Altieri, L. Gandini, A. Lenzi. Simena, P. Zuccaro. 2014. Nicotine, Cotinine and Trans-3-Hydroxycotinine Levels in Seminal Plasma of Smokers. Effect on Sperm Parameters. *Therapeutic Drug Monitoring* 15 : 358 – 363.
- Pribadi, Eko Teguh. 2017. *Penanganan Hewan Coba*. Uin Sunan Ampel. Surabaya
- Quaratul'ainy, S. 2006. Pengaruh vitamin e terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan starin balb/c yang diberi paparan asap rokok. *Skripsi*. 1-6
- Rahmatullah, P. 2009. *Pneumonitis dan penyakit paru lingkungan*. Buku ajar ilmu penyakit dalam III. Edisi kelima. Interna Publishing: Banjarsari Surakarta.
- Rahmawati, iis. 2013. Pengaruh Nikotin Selama 1-2 Minggu Terhadap Jumlah Sel-sel Spertosit Primer, Spermatid Pada Mencit. *Jurnal Keperawatan Soedirman (The Soedirman Journal of Nursing)*, 8 (3).
- Riani, intan. 2009. Spermatogenesis. diakses pada 10 november 2017 <<https://intanriani.wordpress.com/>>.
- 
- Rizal, M. 2002. Fertilitas Spermatozoa Ejakulat Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris Dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. *Disertasi Program Studi Pascasarjana Institut Pertanian Bogor*.
- Rismunandar. 2014. *Tanaman Jambu Biji Yang Serbaguna*. Sinar Baru. Bandung
- Revel, A. N. Raanani, E. Younglai, J. & Xu, R. Han. 2011. Resveratrol, a Natural Aryl Hydrocarbon Receptor Antagonist, Protect Sperm from DNA Damage &

- Apoptosis Caused by Benzo(a)Pyrene. *Reproductive Toxicology*. pp :15 : 479 – 486.
- Sukandar, E. 2006. *Stres oksidatif sebagai faktor resiko penyakit kardiovaskuler*. *Farmacia* 6:1
- Sukmaningsih, A. 2009. Penurunan jumlah spermatisit pakiten dan spermatid tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*) yang dipaparkan asap rokok. *Jurnal Biologi*.;12 (2) 12-15
- Sukmaningsih, A. 2003. Paparan asap rokok menghambat spermatogenesis dan perilaku seksual mencit jantan (*Mus musculus* Balb C) *Tesis*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Sunarmani dan Tanti, K., 2008. *Parameter Likopen Dalam Standarisasi Konsentrat Buah Tomat*. Penelitian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.
- Suciati, T., Samhana, A., Mauluddin, R., 2014, “Development of jacalin conjugated nanostructured lipid carriers formula for transcutaneous vaccine delivery”, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (6), 542-546.
- Sitepoe, M. 2015. *Kekhususan Rokok Indonesia*. Cetakan pertama. PT Grasindo Jakarta.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem* Edisi 2. EGC; Jakarta.
- Septiana, Rice. 2012. Hubungan Antara Viabilitas, Motilitas, Dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Semen Beku Sapi Limousin. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Smith, B. J. & Mangko ewidjojo, S. 2014. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Wade, L.G. 2006. *Organic Chemistry*. Sixth edition. New Jersey : Pearson Education International.
- Wulandari, Anggraeni Seprika. 2009. Pengaruh Tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa *Rattus norvegicus* L. Pasca Pemberian Nikotin. *Jurnal Biologi*.
- Yang, J. Liu, X. Bhalla, K. Kim, C.N. Ibrado, A.M. Cai, J. 1997. Prevention of Apoptosis By Bcl-2: Release Of Cytochrome C From Mitochondria Blocked. *Science*. pp ;275: 1129-1132.

- Yuliani. 2003. Kadar tanin dan kuersetin tiga tipe daun jambu biji (*Psidium guajava*). *Buletin TRO XIV*. 1: 17-24.
- Yulianingtyas, A & B. Kusmartono. 2016. Optimasi Pelarut dan Waktu Optimasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh. *Jurnal Teknik Kimia*. 10 (2), 58-64
- Zavos P.M., Correa J.R., Karagounis C.S., Ahparaki A., Phoroglou C., Hicks C.L. 1998. An Electron microscope study of the axonemal ultrastructure in human spermatozoa from male smokers and nonsmokers. *Fertility and Sterility*, 69, 430-434.

