

Pengaruh Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Dengan Paparan Asap Rokok

N Sa'adah¹, C Fauziah² dan Y Nugraha³

¹Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Jakarta

²Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Jakarta

³Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Jakarta

E-mail: snurus21@gmail.com

Abstract. Asap rokok mengandung gas dan partikulat yang berpotensi untuk membentuk radikal bebas. Radikal bebas yang berlebihan menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan penurunan kualitas sperma. Kelopak bunga rosella mengandung flavonoid dan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan, mampu melemahkan kelebihan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kelopak bunga rosella terhadap kualitas motilitas spermatozoa tikus jantan dengan paparan asap rokok. 28 ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok, tiap kelompok terdiri 7 ekor tikus, yaitu kontrol positif diberikan 5 cc CMC dan asap rokok 2 batang/hari, kontrol negatif diberi pakan standard 511 saja, perlakuan 1 dipaparkan asap rokok 2 batang/hari dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis 270 mg/kg/bb, dan perlakuan 2 dipaparkan asap rokok 2 batang/hari dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis 540 mg/kg/bb. Penelitian ini selama 52 hari dengan 7 hari aklimatisasi. Rata-rata presentase motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan 1, dan perlakuan 2 adalah 40,29%, 67,57%, 55,24%, 63,04%. Setelah dilakukan analisis stastistika dengan uji *One way Anova* dan *Post Hoc Benferonni* didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan bermakna antara kontrol positif dengan kelompok lainnya. Penelitian ini disimpulkan bahwa paparan asap rokok mampu menurunkan rata-rata presentase motilitas spermatozoa dan pemberian ekstrak kelopak bunga rosella dosis 270mg/kg/bb/hari dan 540 mg/kgbb/hari mampu memperbaiki motilitas spermatozoa yang dipaparkan asap rokok.

1. Latar Belakang

Indonesia menempati peringkat kelima terbesar di dunia sebagai konsumen rokok pada tahun 2013. Konsumsi tembakau di Indonesia meningkat pesat karena banyak faktor, salah satunya karena meningkatnya pendapatan rumah tangga, pertumbuhan penduduk dan rendahnya harga dan mekanisasi rokok.[1] Akibatnya, pada tahun 2018 Indonesia menduduki peringkat ketiga sebagai negara konsumsi rokok terbesar didunia setelah China dan India.[2]

Rokok dapat menyebabkan bahaya bagi siapa saja, baik perokok aktif maupun pasif. Perokok aktif adalah orang yang mengkonsumsi rokok dan mendapat paparan asap rokok secara langsung sedangkan perokok pasif adalah orang-orang yang tidak mengkonsumsi rokok, namun menjadi korban perokok karena turut menghirup asap dari perokok aktif.[3] Nikotin merupakan penyusun utama dari rokok

sebesar 50% yang bersifat adiktif dan mudah diabsorpsi oleh tubuh.[4] Anita menjelaskan bahwa nikotin dalam asap rokok dapat merangsang medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi sistem syaraf pusat, sehingga mekanisme feedback antara hipotalamus, hipofisis, dan testis menjadi terganggu yang mengakibatkan penurunan kadar hormon testosteron.[5]

Rokok merupakan salah satu penyebab kualitas spermatozoa menurun karena dalam rokok mengandung bahan yang dapat membentuk radikal bebas atau oksigen yang reaktif (*Reactive Oxygen Species*-ROS) dan menurunkan level antioksidan endogen testis.[6] ROS akan merusak tiga komponen molekul utama dari sel-sel tubuh yaitu lipid, protein dan DNA.[7] Spermatozoa kaya PUFA (*Polyunsaturated fatty acid*) menyebabkan spermatozoa rentan terhadap ROS. Sementara itu, menurut Somwanshi, dkk ROS yang diproduksi berlebihan dapat menyebabkan fragmentasi DNA dalam sel spermatozoa dan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang dapat merusak membran plasma spermatozoa sehingga mengganggu integritas sel spermatozoa dan menimbulkan kematian pada sel. [8]

Kelebihan ROS dapat dilemahkan dengan pemberian antioksidan. Stres oksidatif muncul ketika radikal bebas yang berlebih akan merusak system antioksidan.[9] Antioksidan mampu menetralkan ROS dengan cara menerima atau memberikan sebuah elektron supaya menghasilkan molekul yang lebih stabil.[10] Antioksidan yang sering digunakan adalah Vitamin C, Vitamin E, Selenium, CoQ10, Flavonoid, dan karoten.[11] Belakangan ini penggunaan obat herbal mengalami peningkatan, baik di negara berkembang maupun di negara maju. Indonesia termasuk negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayatinya sehingga bermacam-macam tanaman dapat tumbuh dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan ataupun bahan obat (herbal). Salah satu obat herbal yang kaya akan antioksidan adalah rosella. [12]

Mardiyah menjelaskan antioksidan yang tinggi dapat ditemukan pada kelopak bunga rosella yang mengandung pigmen antosianin yang membentuk warna ungu kemerahan dan termasuk kedalam golongan flavonoid. Flavonoid dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid dari asam lemak tak jenuh dalam membran plasma sel, sehingga tidak dapat berkembang menjadi radikal bebas yang baru. [13]

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti tertarik melakukan penelitian eksperimental untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap motilitas spermatozoa pada tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan paparan asap rokok.

2. Metode penelitian

2.1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian studi eksperimental dengan desain penelitian *true-experiment* untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan yang dilakukan. Rancangan yang digunakan adalah rancangan posttest dengan kelompok kontrol (*post-test only control group design*). Penelitian ini dilakukan pengelompokan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, kemudian dibandingkan hasil masing-masing kelompok tanpa melakukan pretest dahulu.

2.2. Subjek Penelitian

Populasi target penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang berusia 8-10 minggu dengan berat badan rata-rata 180-200 gram. Sampel pada penelitian ini diambil dengan metode *purposive/judgemental sampling*, sampel yang diambil sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan oleh peneliti. Kriteria inklusi penelitian ini adalah; tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar, kondisinya sehat (aktif, tidak ada kelainan anatomis, tidak botak atau rontok), mempunyai berat badan sekitar 180-200 gram, usia tikus 8-10 minggu, tidak cacat sebelum mendapat perlakuan. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah; Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang tampak sakit, kurang aktif atau mati sebelum mendapat perlakuan, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang tidak menghasilkan spermatozoa saat pengambilan sampel. Sedangkan untuk kriteria dropout penelitian ini; tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang mengalami perubahan perilaku (lemas, kurang aktif) dan tampak sakit selama perlakuan diberikan, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang mati selama perlakuan diberikan.

2.3. Besar Sampel

Peneliti menentukan besar sampel dengan menggunakan rumus Federer, yaitu $(n-1)(t-1) \geq 15$ dengan n adalah jumlah sampel setiap kelompok dan t adalah jumlah kelompok yang diuji. Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan jumlah sampel yang digunakan masing-masing kelompok adalah enam ekor tikus sehingga jumlah seluruh sampel yang dibutuhkan adalah 24 ekor tikus. Untuk menghindari dropout,

maka tiap kelompok diberi tambahan sampel dengan rumus $N = \frac{n}{1-f}$. Berdasarkan hasil perhitungan, jumlah sampel yang dibutuhkan setiap kelompok adalah 7 sampel. Karena terdapat empat kelompok perlakuan yang berbeda, sehingga total seluruh sampel yang dibutuhkan ada 28 sampel tikus putih jantan. Keempat kelompok perlakuan yang berbeda tersebut adalah kontrol negatif (normal) yang hanya diberi pakan standard, tidak diberi ekstrak rosella dan tidak diberi pajanan asap rokok, kelompok kontrol positif yang diberi pakan standard, diberi 5 cc larutan CMC, selanjutnya diberi pajanan asap rokok 2 batang/hari, kelompok perlakuan 1 yang diberi pakan standard, diberi pajanan asap rokok 2 batang/hari, selanjutnya diberi ekstrak kelopak rosella dosis 270 mg/kgbb *p.o* dan kelompok perlakuan 2 yang diberi pakan standard, diberi pajanan asap rokok 2 batang/hari, selanjutnya diberi ekstrak kelopak rosella dosis 540 mg/kgbb *p.o*.

2.4. Pengumpulan Data

Proses pengumpulan data dalam penelitian ini hanya dilakukan saat akhir penelitian setelah sampel diberi perlakuan dan membandingkan hasil antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan

2.5. Prosedur Penelitian

Semua sampel dikelompokkan menjadi 4 kelompok dengan perlakuan yang berbeda-beda dan tiap kelompok terdiri atas 7 ekor tikus. Tikus jantan galur Wistar dipaparkan asap rokok tiap pagi selama 52 hari sebanyak dua batang rokok pada masing-masing kelompok. Masing-masing kelompok secara bergantian dimasukkan ke dalam sebuah kotak kaca pengasapan yang terdapat lubang dibagian atasnya. Rokok dibakar dengan alat hisap rokok otomatis yang dihubungkan dengan selang yang menyatu pada pangkal rokok yang menyala. Diameter alat hisap rokok otomatis disesuaikan dengan diameter rokok agar selang bisa masuk kedalam pangkal rokok tersebut. Masing-masing kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol positif diberikan paparan asap rokok dalam kotak kaca pengasapan. Tikus yang telah selesai diberi pemaparan asap rokok diberikan jeda 10 menit setiap selesai pemaparan supaya tikus dapat menghirup asap rokok sebelum kotak kaca pengasapan dibuka. Pemaparan asap rokok selesai jika kedua rokok telah habis terbakar.

Pada hari ke-8 kelompok perlakuan selain kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif diberikan ekstrak kelopak bunga rosella menggunakan sonde lambung per oral selama 52 hari. Dosis ekstrak kelopak bunga rosella yang diberikan sesuai dengan yang ditetapkan yaitu 270 mg/KgBB/hari *p.o* untuk kelompok perlakuan III dan 540 mg/KgBB/hari *p.o* untuk kelompok perlakuan IV. Masing-masing dosis dilarutkan dalam 5 cc larutan CMC yang dibuat dari 5 gram CMC yang dilarutkan dalam 500 cc aquades yang mendidih lalu didinginkan selama dua sampai tiga jam.

2.6. Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis dengan terlebih dahulu diolah dengan One Way Anova karena variabel dependennya berupa numerik, dengan jumlah sampel >2 dan tidak berpasangan. Syarat melakukan uji ini adalah data harus berdistribusi normal dan varian datanya homogen. Untuk tau apakah data berdistribusi normal dilakukan uji normalitas Saphiro-Wilk karena sampel yang dipakai <50. Dikatakan datanya berdistribusi normal jika *p-value* >0,05 dan dikatakan datanya homogen jika *p-value* >0,05 dengan uji Levene. Namun, apabila syarat-syarat tersebut tidak terpenuhi, maka dapat dilakukan uji alternatifnya yaitu uji *Kruskall-Wallis*. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan dilakukan uji *Post Hoc* yaitu dengan menggunakan uji *Post Hoc Bonferonni*.

3. Hasil penelitian

3.1. Uji Fitokimia

Ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dibuat dengan metode maserasi dengan pelarutan metanol 96% ditambah asam format 3% dengan perbandingan 6:1. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) yang beralamat di Jalan Tentara Pelajar 3, Cimanggu, Bogor, Jawa Barat untuk mengetahui kandungan-kandungan yang terdapat pada ekstrak kelopak bunga rosella tersebut. Hasil dari uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Sampel	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil	Metode Pengujian
Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	Alkaloid	+	Kualitatif
	Saponin	+	
	Tanin	+	
	Fenolik	+	
	Flavonoid	+	
	Triterpenoid	+	
	Glikosida	+	
	Steroid	-	

Berdasarkan tabel diatas, dapat dilihat setelah dilakukan uji fitokimia menunjukkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak kelopak bunga rosella antara lain : alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida. Kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kelopak bunga rosella yaitu pigmen antosianin, bisa berperan sebagai antioksidan. Pigmen antosianin ini menyebabkan warna ungu kemerahan dikelopak bunga rosella. Flavonoid dalam kelopak bunga rosella mampu melindungi tubuh dari radikal bebas yang berlebihan dengan cara sebagai scavenger atau penangkap radikal bebas secara langsung dalam tubuh yang terbentuk akibat peroksidasi lipid membran plasma spermatozoa dari pemaparan asap rokok. Dengan kata lain, flavonoid mampu menurunkan jumlah radikal bebas dalam tubuh sehingga tidak melebihi kadar antioksidan tubuh dan tidak memicu terjadinya stress oksidatif.

3.2. Hasil Penelitian

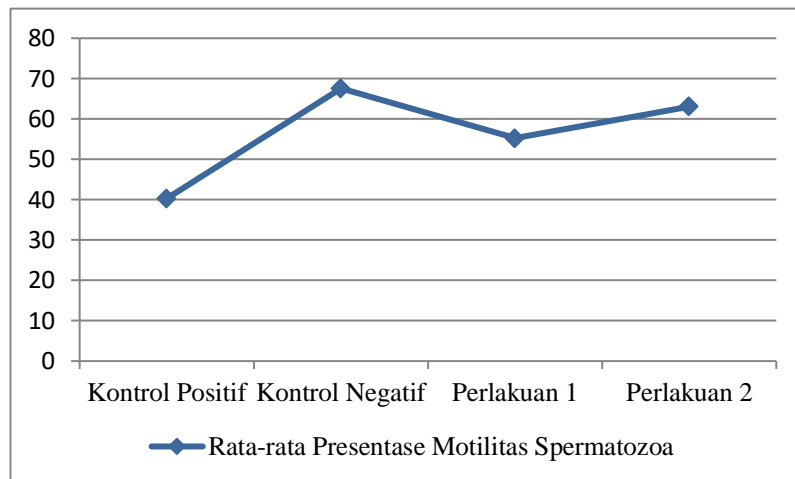
Sampel yang dipakai pada penelitian ini diperoleh dari Pusat Penelitian Antar Universitas Ilmu Hayati (PPAU-IH), Institut Teknologi Bandung (ITB) yang sudah bekerja sama dengan Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Semua sampel dibagi menjadi 4 kelompok dengan perlakuan yang berbeda-beda dan tiap kelompok terdiri atas 7 ekor tikus.

Kelompok pertama adalah kelompok kontrol negatif yang hanya diberi pakan standard saja, kelompok kedua kelompok kontrol positif yang diberi pakan standard, 5 cc larutan CMC dan pajanan asap rokok 2 batang/ harinya sedangkan untuk kelompok ketiga dan keempat diberi pakan standard, pajanan asap rokok 2 batang/harinya dan ekstrak kelopak rosella dosis 270 mg/kg bb p.o atau 540 mg/kg bb p.o. Tikus jantan galur Wistar dipaparkan asap rokok tiap pagi selama 52 hari yang sesuai dengan siklus spermatogenesis tikus jantan.

Pada hari ke-60, semua sampel diterminasi dengan menginjeksikan ketamin secara intramuskular di paha lateral tikus dan dilakukan pembedahan dengan mengambil kauda epididimis dan dipotong secara crossectional menjadi bagian-bagian kecil untuk diambil spermatozoanya dengan pipet. Sperma yang telah diambil dengan pipet dimasukkan ke tabung kecil yang sudah ditetesi dengan NaCl 0,9% sebanyak 2 tetes. Setelah itu, campuran ejakulat sperma tikus dan NaCl diaduk sampai homogen dan ditetaskan diatas object glas dan ditutup dengan *cover glass*. Batas waktu jeda antara pembedahan dan pemeriksaan motilitas sperma hanya 60 menit, jika pemeriksaan dilakukan lebih dari 60 menit dari waktu pembedahannya sperma akan berkurang jumlah dan pergerakannya (motilitasnya). Kemudian dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan ditentukan presentase motilitasnya. Hasil penelitian didapatkan perhtungan presentase motilitas spermatozoa setiap kelompok perlakuan seperti pada tabel 2 dibawah ini

Tabel 2. Hasil Rata-rata Motilitas Spermatozoa Tikus

Kelompok Perlakuan	Jumlah Sampel	Rata-Rata Presentase Motilitas Spermatozoa (%)
Kontrol Positif	7	40,29 ±9,34
Kontrol Negatif	7	67,57±8,76
Perlakuan 1	7	55,24±10,45
Perlakuan 2	7	63,04±5,68



Gambar 1. Rata-Rata Presentase Motilitas Spermatozoa Seluruh Kelompok

Berdasarkan tabel 2 dan gambar 1 di atas menunjukkan bahwa rata-rata presentase motilitas spermatozoa kelompok kontrol positif yang dipaparkan asap rokok mengalami penurunan dengan rata-rata presentase 40,29% dibandingkan dengan rerata presentase motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberi pakan standar 511 dan aquades yaitu 67,57%. Rata-rata presentase motilitas spermatozoa meningkat pada kelompok perlakuan (yang diberikan paparan asap rokok dan tambahan ekstrak kelopak bunga rosella) baik kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 mempunyai nilai rata-rata presentase motilitas spermatozoa lebih tinggi daripada kelompok kontrol positif yaitu 55,24% dan 63,04%.

3.3. Analisis Data

Dalam melakukan analisis data, langkah awal yang dikerjakan adalah uji normalitas. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *Saphiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* presentase motilitas spermatozoa pada penelitian ini terlihat dalam tabel 3 berikut ini :

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Data

Kelompok Perlakuan	Uji <i>Shapiro-Wilk</i>		
	Statistic	Df	Sig.
Kontrol Positif	.935	7	0,591
Kontrol Negatif	.907	7	0,378
Perlakuan 1	.906	7	0,372
Perlakuan 2	.919	7	0,459

Berdasarkan tabel 3 yang merupakan output SPSS “Test of Normality” diperoleh nilai signifikansi pada semua kelompok lebih dari 0,05 ($p\text{-value} > 0,05$) sehingga semua data berdistribusi normal. Dengan demikian, salah satu syarat *One Way Anova* terpenuhi.

Setelah dilakukan uji normalitas data maka dilakukan uji homogenitas varians data. Hasil uji homogenitas varians data dengan uji Levene dapat dilihat pada tabel 4 dibawah ini

Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas Levene

Uji Homogenitas	Motilitas spermatozoa tikus
<i>Asymp.Sig</i>	0.490

Dari tabel 4 di atas menunjukkan hasil uji homogenitas varians data motilitas spermatozoa tikus pada semua kelompok didapatkan 0,490 ($p\text{-value} > 0,05$) yang dapat disimpulkan varians data homogen. Karena data berdistribusi normal dan varians datanya homogen, syarat uji *One Way Anova* terpenuhi dan dapat dilanjutkan dengan uji hipotesis *One Way Anova*.

Tabel 5. Hasil Uji *One Way Anova*

Uji <i>One Way Anova</i>	Motilitas Spermatozoa pada Tikus yang Diberi Perlakuan
<i>Asymp.Sig</i>	0.000

Dari hasil uji *One Way Anova* diatas, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 dimana nilainya <0.05 ($p\text{-value} <0.05$) sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa H1 dapat diterima dan H0 ditolak yang berarti terdapat perbedaan bermakna rata-rata presentase motilitas spermatozoa tikus dalam semua kelompok. Untuk mengetahui perbedaan rerata dari masing-masing kelompok dapat dilihat dengan melakukan uji *Post Hoc Bonferonni*. Berikut hasil ringkasan dari uji *Post Hoc Bonferonni* dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji *Post Hoc Bonferonni*

Kelompok	Kelompok	<i>Sig.</i>	Keterangan
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	0.000	Bermakna
	Perlakuan 1	0.023	Bermakna
	Perlakuan 2	0.000	Bermakna
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	0.000	Bermakna
	Perlakuan 1	0.086	Tidak Bermakna
	Perlakuan 2	1.000	Tidak Bermakna
Perlakuan 1	Kontrol Positif	0.023	Bermakna
	Kontrol Negatif	0.086	Tidak Bermakna
	Perlakuan 2	0.647	Tidak Bermakna
Perlakuan 2	Kontrol Positif	0.000	Bermakna
	Kontrol Negatif	1.000	Tidak Bermakna
	Perlakuan 1	0.647	Tidak Bermakna

Tabel 6 diatas menunjukkan uji *Post Hoc Bonferonni* pada motilitas spermatozoa tikus tiap kelompok. Berdasarkan tabel diatas, didapatkan bahwa pada kelompok kontrol positif memiliki nilai signifikansi 0.000 ($p\text{-value} <0.05$) terhadap kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata presentase motilitas spermatozoa yang bermakna pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok kontrol positif mempunyai nilai signifikansi <0.05 terhadap semua kelompok (kontrol negatif, perlakuan 1, dan perlakuan 2) yang artinya terdapat perbedaan rata-rata presentase motilitas spermatozoa yang bermakna, sehingga dapat dikatakan pemaparan asap rokok saja berpengaruh terhadap penurunan rata-rata presentase motilitas spermatozoa walaupun ditambahkan pemberian ekstrak kelopak bunga rosella.

Pada kelompok perlakuan 1 (yang diberi paparan asap rokok 2 batang/hari dan ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 270 mg/kg/bb *p.o*) memiliki nilai signifikansi >0.05 terhadap kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 2 yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna, begitupun dengan kelompok perlakuan 2 (yang diberi paparan asap rokok 2 batang/hari dan ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 540 mg/kg/bb *p.o*) memiliki nilai signifikansi >0.05 terhadap kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna rata-rata presentase motilitas antara kontrol negatif, kelompok perlakuan satu dan kelompok perlakuan dua.

3.4. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa asap rokok dapat menurunkan motilitas spermatozoa pada tikus jantan galur Wistar. Hal ini bisa dilihat dari rata-rata presentase motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol positif (yang hanya dipaparkan asap rokok saja) paling rendah daripada rata-rata presentase motilitas spermatozoa kelompok lainnya (kontrol negatif, perlakuan 1, dan perlakuan 2).

Hal ini dikarenakan asap rokok mengandung beberapa komponen gas dan partikel yang berpotensi untuk pembentukan radikal bebas dan mampu menurunkan kadar antioksidan testis. Jika jumlah radikal bebas dalam tubuh meningkat melebihi sistem pertahanan antioksidan tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif. Radikal bebas yang berlebihan akan merusak tiga target utama sel-sel utama tubuh yaitu lipid, protein, dan DNA. Komponen utama sel-sel tubuh yang paling rentan terkena serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh. Radikal bebas yang berlebih mudah merusak sperma karena dalam membran plasma sperma terkandung lipid dalam bentuk asam lemak tak jenuh ganda yang rentan diserang oleh ROS. ROS akan bereaksi dengan PUFA (*Polyunsaturated fatty acid*) yang ada di membran plasma sperma menyebabkan reaksi peroksidasi lipid. Reaksi peroksidasi lipid dapat merusak

membran plasma spermatozoa sehingga mengganggu integritas sel spermatozoa, menyebabkan fleksibilitas spermatozoa menurun dan menghambat mekanisme motilitas spermatozoa.

Adanya peningkatan rata-rata presentase motilitas spermatozoa tikus pada kelompok perlakuan baik satu (55,24) ataupun perlakuan dua (63,04) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya dipaparkan asap rokok (40,29) menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) memiliki pengaruh dalam memperbaiki kualitas spermatozoa akibat paparan asap rokok. Hal ini dikarenakan kelopak bunga rosella mengandung antioksidan flavonoid dalam bentuk pigmen antosianin. Pigmen antosianin ini menyebabkan warna ungu kemerahan di kelopak bunga rosella. Antosianin yang terkandung dalam kelopak bunga rosella dalam bentuk glukosida yang tersusun atas *delphinidin-3-glucose*, *cyandin-3-sambubioside*, dan *delphinidin-3-sambubioside*. [12] Flavonoid bekerja sebagai zat pengkelat yang mengikat logam-logam Cu dan Fe sehingga tidak bisa berikatan dengan H_2O_2 dalam reaksi fenton yang bisa membentuk radikal bebas yang sangat reaktif salah satunya radikal hidroksil (OH^*). Selain itu, flavonoid mampu mendonorkan salah satu ion hidrogennya (H^+) kepada *lipid peroxy radical* (LOO^*) yang termasuk ROS hasil dari proses peroksidasi lipid pada membran plasma sperma yang tersusun atas PUFA (*Polyunsaturated fatty acid*) sehingga bisa memutus pembentukan radikal bebas. [13] Flavonoid juga mampu mencegah kerusakan DNA akibat reaksi radikal hidroksil (OH^*) dengan basa-basa nitrogen DNA dengan menginduksi terbentuknya antioksidan enzimatis primer seperti SOD (*superoxide dismutase*), GPx (*Gluthation peroxidase*), katalase yang mencegah pembentukan radikal bebas baru karena bersifat *chain breaking oxidant* (pemutus reaksi berantai) sehingga menghasilkan molekul yang lebih stabil. [13][14] Disisi lain, flavonoid juga berguna sebagai antiinflamasi karena mencegah terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β dan interferon- γ . [13]

Selain mengandung flavonoid, kelopak bunga rosella juga mengandung asam askorbat atau vitamin C. [15] Menurut Sayuti & Yenrina tahun 2015, Vitamin C merupakan antioksidan alami yang termasuk kedalam antioksidan yang larut air. Cara kerja vitamin C mirip dengan cara kerja vitamin E yaitu sebagai scavenger atau penangkap radikal bebas secara efektif yang terbentuk akibat paparan asap rokok yaitu anion superoksida (O_2^*) dan singlet oksigen (1O_2). Singlet oksigen lebih reaktif jika dibandingkan dengan oksigen bentuk "*ground state*" atau oksigen triplet. Selain itu, vitamin C juga mampu mendonorkan satu elektron ke reaksi biokimia intra ataupun ekstraseluler sehingga tidak terjadi *chain reaction* dalam pembentukan radikal bebas. [16]

Disisi lain, vitamin C juga bisa berifat sebagai prooksidan karena vitamin C dapat meningkatkan penyerapan zat besi di usus. Zat besi ini bisa direduksi secara in vitro dari Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang jika bergabung dengan H_2O_2 bisa memicu terjadinya reaksi fenton yang nantinya menghasilkan radikal bebas berupa radikal hidroksil (OH^*). Walaupun begitu, efek antioksidan pada kelopak bunga rosella lebih tinggi daripada prooksidannya karena mengandung berbagai macam zat antioksidan tidak hanya asam askorbat saja.

4. Kesimpulan

Dari penelitian ini didapatkan rata-rata motilitas spermatozoa kelompok perlakuan positif merupakan paling rendah dan terjadi kenaikan rata-rata presentase motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok mampu menurunkan rata-rata presentase motilitas spermatozoa tikus jantan galur Wistar dan pemberian ekstrak kelopak bunga rosella (baik dengan dosis 270 mg/Kgbb/hari dan dosis 540 mg/Kgbb/hari) mampu memperbaiki dan meningkatkan rata-rata presentase motilitas spermatozoa tikus jantan galur Wistar setelah dipaparkan asap rokok dengan rata-rata presentasinya lebih tinggi pada kelompok yang ditambah ekstrak kelopak rosella dosis 540 mg/KgBB/hari.

Referensi

- [1] Kosen S. Bunga Rampai Fakta Tembakau dan Permasalahannya di Indonesia 2014. Tobacco Control and Support Center. Available from : https://www.researchgate.net/publication/301197501_Bunga_Rampai_Fakta_Tembakau_dan_Permasalahannya_di_Indonesia_2014
- [2] InfoDATIN Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Situasi Umum Kondisi Tembakau di Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018. Available from : <https://pusdatin.kemkes.go.id/folder/view/01/structure-publikasi-pusdatin-info-datin.html>
- [3] Jhovfany M. Bahaya Merokok bagi Kesehatan. 2019. Available from :

- https://www.researchgate.net/publication/330737590_Bahaya_merokok
- [4] Rahmawati I. Pengaruh Nikotin Selama 1-2 Minggu terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatisit Primer, Spermatid pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Keperawatan Soedirman (the Soedirman Journal of Nursing)*. 2013; 8(3). Available from : <https://media.neliti.com/media/publications/108514-ID-pengaruh-nikotin-selama-1-2-minggu-terha.pdf>
- [5] Putra Y. Pengaruh Rokok Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* Strain Jepang). *Jurnal Saintek*. 2014; 6(1). p 30-42. Available from : <https://media.neliti.com/media/publications/129106-ID-pengaruh-rokok-terhadap-jumlah-sel-sperm.pdf>
- [6] Tri S. Pengaruh Likopen terhadap Gambaran Tubulus Seminiferus dan Kualitas Sperma Mencit (*Mus Musculus L*) yang Terpapar Asap Rokok. Available from : <https://docplayer.info/40209751-Pengaruh-likopen-terhadap-gambaran-tubulus-seminiferus-dan-kualitas-sperma-mencit-mus-musculus-l-yang-terpapar-asap-rokok-padjadjaran-bandung.html>
- [7] Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radicals, Other Reactive Spesies and Disease*. In *Free Radicals in Biology Medicine*. New York; 1999.
- [8] Sitohang AG, Wantouw B dan Queljoe ED. Perbedaan Antara Efek Pemberian Vitamin C dan Vitamin E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Setelah Diberi Paparan Asap Rokok. *Journal e-Biomedik (eBM)*. 2015; 3(1).
- [9] Agarwal A, Prabakaran SA dan Said Tamer M. Prevention of Oxidative Stress Injury to Sperm. *Journal of Andrology 2005*. 2013; 26(6).
- [10] Ulilalbab A, Wirjatmadi B dan Adriani M. Ekstrak Kelopak Bunga Rosella Merah Mencegah Kenaikan Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2015; 13(2).
- [11] Percival M. Antioxidant. *Clinical Nutrition Insight*. 1998; 1(96).
- [12] Dwiyantri G NH. *Aktivitas Antioksidan Teh Rosella (Hibiscus sabdariffa) selama Penyimpanan pada Suhu Ruang*. In *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IX* ; 2014; Fakultas Sains dan Matematika UKSW.
- [13] Parwata I. *Bahan Ajar Antioksidan: Program Pasca Sarjana Kimia Terapan Universitas Udayana Bukit Jimbaran*; 2016.
- [14] Sayuti K, Yennina R. *Antioksidan Alami dan Sintetik Cetakan 1: Andalas University Press, Padang*; 2015.
- [15] Ekanto B, Sugiarto. Kajian Teh Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam Meningkatkan Kemampuan Fisik Berenang (Penelitian Eksperimen Pada Mencit Jantan Remaja). *Jurnal Media Keolahragaan Indonesia*. 2011; 1(3). Available from : <https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/miki/article/view/2032/2146>
- [16] Winarsi H. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Cetakan I* Yogyakarta: Kanisius; 2007.