

## Pengaruh Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Paparan Asap Rokok

### *Effect Of Kemangi (Ocimum basilicum) Extract in Spermatozoa Quality of Mice (Mus musculus) Exhibited to Cigarette Smoke*

Ahnan Mahfudz Nur Sholihin\*, Nur Ducha

Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: [ahnan.18049@mhs.unesa.ac.id](mailto:ahnan.18049@mhs.unesa.ac.id)

**Abstrak.** Kebiasaan merokok dapat menyebabkan infertilitas akibat radikal bebas dari asap rokok. Daun kemangi mengandung antioksidan seperti tanin dan flavonoid untuk mencegah radikal bebas. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak daun kemangi terhadap kualitas spermatozoa yang terpapar asap rokok. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan mencit jantan berumur 2-2,5 bulan sebanyak 20 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu K1 (kontrol positif), K0 (kontrol negatif), P1 (dosis ekstrak 100mg/kgBB), P2 (dosis ekstrak 200mg/kgBB), P3 (dosis ekstrak 300mg/kgBB). Mencit tersebut dipapar asap rokok 2,5 batang/hari selama 14 hari, kemudian diuji kualitas spermatozoa meliputi motilitas, viabilitas, integritas membran, dan aGARabnormalitas. Data hasil spermatozoa dianalisis dengan uji *One-Way ANOVA*, untuk mengetahui perlakuan terbaik dilakukan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa ( $p>0,05$ ). Pengaruh paling baik ditunjukkan oleh dosis 300mg/kgBB (P3) dalam meningkatkan kualitas spermatozoa menit. Kesimpulannya, dosis ekstrak daun kemangi adalah dosis yang paling berpengaruh dalam meningkatkan motilitas, viabilitas, integritas membran, serta menurunkan abnormalitas pada spermatozoa mencit.

**Kata kunci:** motilitas; integritas membran; viabilitas; abnormalitas; kemangi; hidup sehat

**Abstract.** Smoking can cause infertility due to free radicals from cigarette smoke. Basil leaves contain antioxidants such as tannins and flavonoids to prevent free radicals. This study aims to determine the effect of basil leaf extract on the quality of spermatozoa exposed to cigarette smoke. This study was an experimental study with a completely randomized design (CRD), using 20 male mice aged 2-2.5 months were divided into five groups, namely K1 (positive control), K0 (negative control), P1 (100mg/kgBB extract dose), P2 (200mg/kgBB extract dose), P3 (300mg/kgBB extract dose). The mice exposed to cigarette smoke 2.5 cigarettes/day for 14 days, sperm quality calculated for motility, viability, membrane integrity, and abnormality. Data on spermatozoa analyzed by the *One Way ANOVA* test, and to determine the best treatment was performed by the Duncan test. The results showed that basil leaf extract affected the quality of spermatozoa ( $p>0.05$ ). The best effect showed by a dose of 300mg/kgBB (P3) in improving the quality of mice spermatozoa. In conclusion, the dose of basil leaf extract is the most influential in increasing motility, viability, membrane integrity, and reducing abnormalities in mice spermatozoa.

**Key words:** motility; membrane integrity; viability; abnormality; basil; healthy lives.

## PENDAHULUAN

Kasus infertilitas masih menjadi masalah kesehatan dunia termasuk Indonesia. Infertilitas merupakan kegagalan dalam mencapai kehamilan setelah 1 tahun atau lebih berhubungan suami istri tanpa menggunakan pelindung (Bayer *et al.*, 2018). Persentase kejadian infertilitas dunia pada masa subur diperkirakan 8-10% yaitu 48 juta pasangan dari 186 juta dan tiap tahunnya mengalami kenaikan 2 juta pasangan yang mengalami kemandulan (WHO, 2020). Kejadian infertilitas di Indonesia 15-20% yaitu sekitar 50 juta dari seluruh pasangan yang ada mengalami infertilitas (Trisnawati, 2015). Berdasarkan kasus infertilitas yang terjadi, pria menyumbang persentase cukup besar yaitu 40-50% (Agarwal *et al.*, 2015; Sansone *et al.*, 2018).

Salah satu faktor penyebab infertilitas bagi pria adalah kegiatan merokok. Kebiasaan ini menyebabkan sekitar 15% orang di dunia mengalami infertilitas yang mana laki-laki menyumbang persentase sekitar 50-60% (Sharma *et al.*, 2016). Negara Indonesia menduduki peringkat ketiga setelah Cina dan India sebagai negara dengan jumlah perokok terbanyak di dunia (Kemenkes RI, 2015).

Asap rokok tembakau mengandung lebih dari 4000 bahan kimia, 400 diantaranya bersifat toksik yang berasal dari rokok itu sendiri ataupun saat terjadinya pembakaran (Mauludin *et al.*, 2016), dan mempunyai komposisi utama seperti nikotin yang menyebabkan kecanduan (DiFranza, 2015) dan penurunan sekresi hormon testosteron (Rahmawati, 2015), tar beresiko besar menyebabkan kanker paru-paru, kanker mulut, diabetes, penyakit jantung dan infertilitas (Septiani, 2021), dan karbon monoksida (CO) yang dapat mengikat hemoglobin darah sehingga menyebabkan hipoksia yaitu terganggunya pengiriman oksigen ke jaringan tubuh. Rokok juga dikaitkan dengan agen penginduksi radikal bebas yang dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa (Said *et al.*, 2012).

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil karena kehilangan satu buah elektronnya sehingga mudah bereaksi dengan molekul lain untuk mencapai kestabilan. Radikal bebas dapat dihasilkan dari dalam tubuh melalui metabolisme maupun dari luar tubuh. Salah satu radikal bebas yang sering dijumpai di dalam tubuh adalah *Reactive Oksigen Spesies* (ROS) (Fakriah dan Adriana, 2019). ROS dalam kadar sedikit dibutuhkan oleh spermatozoa untuk reaksi akrosom, hiperaktivasi kemotaksis dan motilitas spermatozoa (Chen *et al.*, 2013). Namun jika kadar radikal bebas lebih tinggi dari pada antioksidan, hal ini dapat menyebabkan ketidakseimbangan yang berakibat stress oksidatif.

Kerusakan stress oksidatif sering ditemui pada asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang menjadi penyusun membran sel spermatozoa. Radikal bebas menarik satu atom H pada rantai samping PUFA, radikal karbon yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga menghasilkan radikal peroksil. Radikal peroksil akan menyerang kembali PUFA hingga menyebabkan reaksi berantai. Reaksi ini dapat mempengaruhi integritas membran, fluiditas, struktur, dan fungsi sel yang pada akhirnya dapat mematikan sel spermatozoa tersebut (Yuslianti, 2018).

Paparan asap rokok yang mengandung nikotin dapat menstimulasi medula adrenal mensekresikan katekolamin yang mempengaruhi hipotalamus dalam mensekresikan GnRH, hal tersebut mengganggu produksi FSH dan LH pada hipofisis anterior. FSH berfungsi menutrisi spermatozoa melalui sel Sertoli dan LH berfungsi melalui sel Leydig mensekresikan hormon testosteron (Sherwood, 2014). Terhambatnya FSH dan LH menyebabkan gangguan pada spermatogenesis (Musfiroh *et al.*, 2012). Gangguan pada spermatogenesis bisa menurunkan motilitas spermatozoa karena gangguan pada aktivitas enzim ATP-ase (Julia *et al.*, 2019). Daya hidup (viabilitas) berbanding lurus dengan motilitas karena terhambatnya testosteron mengakibatkan terganggunya transpor nutrisi (Tethool dan Purwaningsih, 2019). Selain itu gangguan testosteron juga menyebabkan abnormalitas primer karena terhambatnya proses spermatogenesis sehingga mengganggu pembentukan pada  $\alpha$ -tubulin yang menjadi komponen dasar mikrotubulus dan mikrofilamen. Sedangkan abnormalitas sekunder berakibat pada perubahan morfologi (bentuk, ukuran, DNA) dan fungsi spermatozoa (Indriyani *et al.*, 2019).

Upaya penangkalan radikal bebas untuk mencegah stress oksidatif dilakukan dengan penambahan antioksidan pada tubuh. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap radikal bebas (Rahmi, 2017). Antioksidan yang ditambahkan dari luar tubuh dapat dibedakan menjadi 2 yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Flavonoid merupakan antioksidan alami yang hampir ada disetiap tumbuhan hijau. Senyawa ini termasuk kelas polifenol yang mempunyai banyak gugus fenol dalam strukturnya, sehingga dapat menetralkan radikal bebas. Flavonoid secara langsung memiliki mekanisme sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas (*radical scavenging*) yang dilepaskan peroksida (Yuslianti, 2018). Selain itu beberapa flavonoid berperan mengikat ion logam seperti  $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$  yang bereaksi dengan  $H_2O_2$ . Reaksi ini menghasilkan  $OH^-$  yang merupakan kelompok radikal bebas (Winarsi, 2011). Kemampuan antioksidan yang dimiliki flavonoid pada akhirnya dapat mencegah stress oksidatif yang mendasari berbagai penyakit terkhusus pada fertilitas pria.

Salah satu tanaman obat yang sudah dikenal masyarakat adalah kemangi. Tanaman ini mengandung senyawa metabolit seperti flavonoid, tanin, steroid dan saponin (Nurmashita *et al.*, 2015), serta senyawa alami seperti monoterpen, seskuiterpen, phenylpropanoid, antosianin, dan asam fenolik (Szymanowska *et al.*, 2015). Penelitian Vinnata (2018) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan ekstrak kemangi (*Ocimum americanum*) pada dosis 10 mg/20gBB dapat meningkatkan konsentrasi sebesar 47,6 juta/ml; motilitas sebesar 59,20%; viabilitas sebesar 67,6%. Sedangkan pada penelitian Safwan *et al.* (2016) pada mencit (*Mus musculus*) menggunakan ekstrak kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dengan dosis 100 mg/BB dapat meningkatkan motilitas sebesar 119,66%.

Manfaat dari tanaman kemangi sebagai agen antioksidan yang dapat meningkatkan kualitas spermatozoa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Letak orisinalitas penelitian ini yaitu menggunakan spesies kemangi yang berbeda yaitu *Ocimum basilicum*, penggunaan paparan asap rokok, serta menggunakan uji motilitas, viabilitas integritas membran dan abnormalitas spermatozoa mencit.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dikaji dan dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipapar asap rokok.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang meliputi perbedaan dosis ekstrak kemangi (*Ocimum basilicum*), kelompok kontrol sebagai pembanding, pengulangan sampel dianggap homogen, dan subjek penelitian dipilih secara acak. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2023. Proses pengambilan tanaman kemangi dilakukan di Kab. Jombang. Kegiatan ekstraksi kemangi di Laboratorium Biologi Dasar C10 FMIPA UNESA. Hewan uji coba mencit (*Mus musculus*) didapatkan dari Pusvetma Ketintang, Surabaya. Kegiatan pemeliharaan dilakukan di Laboratorium Hewan Coba. Pembedahan dan pengamatan spermatozoa mencit dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan. Pengamatan dan pengujian spermatozoa dilakukan pada bulan April 2023.

Ekstraksi daun kemangi dilakukan dengan pengumpulan daun yang didapatkan dari penduduk lokal Kec. Wonosalam, Jombang. Pengeringan menggunakan sinar matahari selama 3 hari yang ditutupi kain hitam. Setelah simplisia jadi kemudian diblender hingga berbentuk serbuk. Hasil blender kemudian diayak menggunakan ayakan 22 mesh. Maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk halus kedalam botol maserator yang terbuat dari kaca dengan etanol 96% selama 3 hari. Wadah maserator diaduk selama 10 menit setiap harinya. Setelah 72 jam kemangi disaring dengan kertas saring sehingga menjadi ekstrak cair. Filtrat hasil maserasi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak yang kental.

Mencit yang digunakan berumur 8-10 minggu, berjenis kelamin jantan dengan berat badan 25-30 gram. Mencit dipelihara pada bak kontrol dengan tutup kawat dan alas menggunakan sekam secukupnya. Sekam diganti setiap 3 hari sekali untuk menjaga kebersihan. Pakan diberikan secara ad libitum dengan hanya menggunakan pellet dan air minum. Suhu di lingkungan hewan coba dijaga pada kisaran 26-28°C dengan kelembaban 85-88%.

Uji pengambilan data menggunakan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB dengan pengulangan 4 kali perlakuan, sehingga mencit yang digunakan 20 ekor. Perlakuan terhadap asap rokok dilakukan dalam kandang *smoking chamber*. Paparan asap rokok diberikan tiap kelompok perlakuan sebanyak 2 rokok. Setelah rokok habis dibakar, hewan coba dibiarkan selama 5 menit dengan asap rokok. Kemudian hewan coba dikeluarkan dan diberikan ekstrak daun kemangi untuk pengobatan. Pemaparan asap rokok dan pengobatan dilakukan selama 14 hari.

Larutan HOS dibuat menggunakan campuran Na Sitrat 0,735 g, fruktosa 1,351 g, dan aquadest 100ml. Larutan ini digunakan untuk menguji integritas membran. Pengambilan spermatozoa dilakukan setelah hewan dikorbankan, yaitu dengan cara membius mencit dengan menggunakan kloroform hingga mencit tersebut pingsan. Mencit ditelentangkan di papan bedah dan dibedah bagian abdomen, kemudian diambil epididimis bagian kauda dengan panjang 1/3 akhir dari panjang total epididimis (panjang epididimis kauda yang digunakan 0,5 cm). Epididimis bagian kauda dibersihkan dari lemak sampai bersih, kemudian dicacah menggunakan gunting dan *scalpel* dalam 1 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0,9 %) sampai terbentuk suspensi spermatozoa.

Pengujian terhadap motilitas individu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Suspensi antara NaCl 0,9% dan spermatozoa yang sudah diencerkan sebelumnya diambil menggunakan pipet. Sampel ditetaskan pada *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass*. Spermatozoa diamati pergerakannya. Pada penelitian Elmiranda *et al.* (2021) Motilitas spermatozoa dikelompokkan ke dalam 4 kategori yaitu: sel spermatozoa progresif cepat (A); progresif lambat (B); tidak progresif (C); tidak motil (D). Persentase motilitas adalah dihitung berdasarkan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Motilitas spermatozoa: } \frac{(\text{kel A} + \text{kel B})}{(\text{kel A} + \text{kel B} + \text{kel C} + \text{kel D})} \times 100\% \quad (1)$$

Pengamatan viabilitas spermatozoa, menggunakan apusan spermatozoa yang telah ditetesi oleh 5µl pewarna Eosin 1% dan Nigrosin 10%. Viabilitas spermatozoa diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Penghitungan persentase viabilitas spermatozoa dilakukan pada 100 sel spermatozoa mencit, dengan pengulangan sebanyak sepuluh kali untuk setiap mencit. Spermatozoa yang berwarna merah menunjukkan spermatozoa yang mati dan sebaliknya yang tidak berwarna adalah yang masih hidup. Menurut penelitian yang dilakukan Arundani *et al.*, (2021) perhitungan viabilitas spermatozoa yaitu:

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa progresif (hidup)}}{\text{Jumlah spermatozoa keseluruhan}} \times 100\% \quad (2)$$

Pengamatan integritas membran dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 µL suspensi spermatozoa dicampurkan dengan 0,3 ml larutan hiposmotik (HOS) dalam tabung eppendorf, lalu diinkubasi dalam suhu 37°C berdurasi setengah jam. Kemudian ditetaskan di atas gelas objek. Pemeriksaan sediaan dilakukan memakai mikroskop cahaya pada perbesaran 400x terhadap 100 spermatozoa. Perubahan yang khas yaitu adanya pembengkakan atau ekornya melingkar pada bagian ujung (Ionately *et al.*, 2015). Perhitungan integritas membran sel spermatozoa menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Integritas Membran (\%)} = \frac{\text{Total sel spermatozoa membran utuh}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\% \quad (3)$$

Pengamatan morfologi spermatozoa mencit dilakukan dengan cara membuat *smear* suspensi spermatozoa. Satu tetes spermatozoa mencit ditetaskan di satu ujung gelas objek, kemudian diberi 1 tetes eosin 1 % dan 1 tetes nigrosin 10 %. Gelas objek yang lain diletakkan di ujung yang lain dari gelas objek yang pertama dengan membentuk sudut 45°, kemudian digerakkan sampai menyentuh tetesan sperma. Jika sperma telah mengalir rata di tepi dari gelas objek kedua, gelas objek kedua digerakkan kembali ke arah semula sehingga terbentuk lapisan tipis apusan sperma di gelas objek pertama. Apusan sperma dikeringanginkan pada suhu kamar selama kurang lebih 5 menit.

Pengamatan morfologi spermatozoa mencit dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran mulai dari yang kecil yaitu 40 x dilanjutkan dengan perbesaran 100 x dan perbesaran 400 x. Pengamatan dilakukan pada 100 spermatozoa (%) dengan replikasi pengamatan sebanyak 10 kali untuk setiap mencit. Pengamatan morfologi spermatozoa dibedakan atas spermatozoa normal dan abnormal yang dinyatakan dalam persen (Puspita, 2012). Morfologi spermatozoa mencit normal apabila bagian kepala melengkung seperti kait, leher lurus dan ekor tunggal berujung bebas. Kriteria morfologi abnormal diantaranya:

- Kepala: kepala kecil, kepala besar, kepala tanpa ekor, kepala melebar, memiliki rangkap.
- Leher: Leher terlipat.
- Ekor: ekor melingkar, ekor patah, ekor rangkap, ekor membesar.
- Spermatozoa *immature*: sperma yang masih mengandung sisa-sisa sitoplasma yang mempunyai ukuran separuh dari ukuran kepala dan masih terikat, baik pada kepala, bagian tengah maupun pada ekor sperma.

Data pengamatan kualitas spermatozoa motilitas dan viabilitas berupa persentase perlu dilakukan transformasi ke *arcsin*, selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* Test untuk menguji distribusi datanya normal atau tidak. Apabila hasil data berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas. Data homogen dianalisis menggunakan Anova Satu Arah. Apabila data signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan*.

## HASIL

Hasil pengamatan motilitas spermatozoa pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Persentase motilitas ± standart deviasi spermatozoa mencit yang diberikan ekstrak daun kemangi setelah dipapar asap rokok

Perlakuan	Rerata Motilitas ± SD (%)
Kontrol Positif (K1)	63,40 ± 4,64 <sup>d</sup>
Kontrol Negatif (K0)	19,41 ± 4,76 <sup>a</sup>
Dosis 100 mg/kgBB (P1)	23,02 ± 3,74 <sup>ab</sup>
Dosis 200 mg/kgBB (P2)	29,41 ± 2,47 <sup>b</sup>
Dosis 300 mg/kgBB (P3)	42,32 ± 7,36 <sup>c</sup>

Keterangan: Notasi huruf subskrit yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata, sedangkan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh yang berbeda nyata. (a=notasi persentase terendah, d=notasi persentase tertinggi). K1 = Kontrol positif, K0 = Kontrol negatif, P1 = Dosis 100 mg/kgBB, P2 = Dosis 200 mg/kgBB, dan P3 = Dosis 300 mg/kgBB.

Berdasarkan Tabel 1 hasil dari penelitian menunjukkan pola naik pada setiap kelompok perlakuan. Namun data ini belum menyatakan hasil yang optimum dikarenakan pola pada setiap kelompok perlakuan adalah kenaikan dan tidak ada penurunan. Nilai rerata motilitas spermatozoa mencit jantan menunjukkan nilai tertinggi pada K1 dengan nilai sebesar  $63,40 \pm 4,64\%$ . Dalam kelompok perlakuan persentase tertinggi pada P3 dengan nilai sebesar  $42,32 \pm 7,36\%$ . Persentase motilitas spermatozoa dengan nilai terendah pada K0 dengan nilai sebesar  $19,41 \pm 4,76\%$ . Kelompok perlakuan yang memiliki motilitas dengan persentase terendah adalah P1 dengan nilai sebesar  $23,02 \pm 3,74\%$ .

Data penelitian pada Tabel 1 ditransformasikan ke *arcsin* terlebih dahulu dan dilanjutkan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal dengan  $p = 0,200$  ( $p > 0,05$ ). Setelah hasil berdistribusi normal dapat dilanjutkan dengan uji *Homogeneity of Variances* dan diperoleh hasil  $p = 0,620$  ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Berdasarkan data hasil uji anova satu arah untuk motilitas spermatozoa mencit menunjukkan nilai sig. 0,00. Nilai signifikansi data tersebut menunjukkan nilai kurang dari 0,05 ( $\text{Sig} < 0,05$ ) dan nilai F hitung  $>$  F tabel pada motilitas spermatozoa mencit yaitu  $53,76 > 3,24$ . Nilai signifikansi dan F menunjukkan data motilitas spermatozoa mencit memiliki perbedaan yang signifikan dan dapat dilanjutkan untuk uji Duncan.

Hasil uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ) pada Tabel 1 menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa dengan dosis 300mg/kgBB (P3) menunjukkan perbedaan secara signifikan dari pada kelompok perlakuan lain serta memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar  $42,32 \pm 7,36$ . Pada persentase motilitas kelompok kontrol negatif (K0) mendapatkan nilai  $19,41 \pm 4,76$  tidak berbeda secara signifikan dengan dosis 100mg/kgBB (P1) serta menjadi nilai persentase terendah yaitu sebesar  $23,02 \pm 3,74$ . Nilai persentase motilitas pada dosis 200mg/kgBB (P2) tidak berbeda secara signifikan dari pada kelompok perlakuan dosis 100mg/kgBB (P1) yaitu sebesar  $29,41 \pm 2,47$ . Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Persentase viabilitas  $\pm$  standart deviasi spermatozoa mencit yang diberikan ekstrak daun kemangi setelah dipapar asap rokok

Perlakuan	Rerata Viabilitas $\pm$ SD (%)
Kontrol Positif (K1)	$84,19 \pm 3,99^b$
Kontrol Negatif (K0)	$45,07 \pm 5,81^a$
Dosis 100 mg/kgBB (P1)	$59,92 \pm 5,65^{ab}$
Dosis 200 mg/kgBB (P2)	$66,45 \pm 5,78^b$
Dosis 300 mg/kgBB (P3)	$78,07 \pm 4,52^b$

Keterangan: Notasi huruf subskrit yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata, sedangkan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh yang berbeda nyata. (a=notasi persentase terendah, d=notasi persentase tertinggi). K1 = Kontrol positif, K0 = Kontrol negatif, P1 = Dosis 100 mg/kgBB, P2 = Dosis 200 mg/kgBB, dan P3 = Dosis 300 mg/kgBB.

Berdasarkan Tabel 2, hasil dari penelitian menunjukkan pola naik pada setiap kelompok perlakuan. Namun data ini belum menghasilkan dosis yang optimum dikarenakan pola pada setiap kelompok perlakuan memiliki tren naik. Data nilai rerata viabilitas spermatozoa mencit jantan menunjukkan nilai tertinggi pada K1 dengan nilai sebesar  $84,19 \pm 3,99\%$ . Dalam kelompok perlakuan persentase tertinggi pada P3 dengan nilai sebesar  $78,07 \pm 4,52\%$ . Persentase viabilitas spermatozoa dengan nilai terendah pada K0 dengan nilai sebesar  $45,07 \pm 5,81\%$  sedangkan pada kelompok perlakuan yang memiliki viabilitas dengan persentase terendah adalah P1 dengan nilai sebesar  $59,92 \pm 5,65\%$ .

Data penelitian pada Tabel 2 ditransformasikan ke *arcsin* terlebih dahulu dan dilanjutkan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal dengan  $p = 0,200$  ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Homogeneity of Variances* dan diperoleh hasil  $p = 0,344$  ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Berdasarkan data hasil uji anova satu arah untuk viabilitas spermatozoa mencit menunjukkan nilai sig. 0,00. Nilai signifikansi data tersebut menunjukkan nilai kurang dari 0,05 ( $\text{Sig} < 0,05$ ) dan nilai F hitung  $>$  F tabel pada viabilitas spermatozoa mencit yaitu  $4,89 > 3,24$ . Nilai signifikansi dan F menunjukkan data viabilitas spermatozoa mencit memiliki perbedaan yang signifikan dan dapat dilanjutkan untuk uji duncan.

Hasil uji duncan ( $\alpha=0,05$ ) pada Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa dengan dosis 300mg/kgBB (P3) memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar  $78,07 \pm 4,52$ , namun tidak ada perbedaan secara signifikan dari pada kelompok perlakuan yang lain. Pada persentase viabilitas

kelompok kontrol negatif (K0) mendapatkan nilai  $45,07 \pm 5,81$  tidak berbeda secara signifikan dengan dosis 100mg/kgBB (P1) serta menjadi nilai persentase terendah yaitu sebesar  $59,92 \pm 5,65$ . Nilai persentase viabilitas pada dosis 200mg/kgBB (P2) tidak berbeda secara signifikan dari pada kelompok perlakuan dosis 100mg/kgBB (P1) yaitu sebesar  $66,45 \pm 5,78$ . Hasil pengamatan integritas membrane sel spermatozoa pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Persentase integritas membran  $\pm$  standart deviasi spermatozoa mencit yang diberikan ekstrak daun kemangi setelah dipapar asap rokok

Perlakuan	Rerata Integritas Membran $\pm$ SD (%)
Kontrol Positif (K1)	$70,66 \pm 1,69^d$
Kontrol Negatif (K0)	$38,52 \pm 2,1^a$
Dosis 100 mg/kgBB (P1)	$46,76 \pm 3,42^b$
Dosis 200 mg/kgBB (P2)	$50,84 \pm 4,31^b$
Dosis 300 mg/kgBB (P3)	$63,54 \pm 4,33^c$

Keterangan: Notasi huruf subskrit yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata, sedangkan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh yang berbeda nyata. (a=notasi persentase terendah, d=notasi persentase tertinggi). K1 = Kontrol positif, K0 = Kontrol negatif, P1 = Dosis 100 mg/kgBB, P2 = Dosis 200 mg/kgBB, dan P3 = Dosis 300 mg/kgBB.

Berdasarkan Tabel 3, hasil dari penelitian menunjukkan pola naik pada setiap kelompok perlakuan. Namun data ini belum menyatakan hasil yang optimum dikarenakan pola pada setiap kelompok perlakuan adalah kenaikan dan tidak ada penurunan. Nilai rerata integritas membran sel spermatozoa mencit jantan menunjukkan nilai tertinggi pada K1 dengan nilai sebesar  $70,66 \pm 1,69\%$ . Dalam kelompok perlakuan persentase tertinggi pada P3 dengan nilai sebesar  $63,54 \pm 4,33\%$ . Persentase integritas membran sel spermatozoa dengan nilai terendah pada K0 dengan nilai sebesar  $38,52 \pm 2,1\%$  sedangkan pada kelompok perlakuan yang memiliki integritas membran sel spermatozoa dengan persentase terendah adalah P1 dengan nilai sebesar  $46,76 \pm 3,42\%$ .

Data penelitian pada Tabel 3 ditransformasikan ke *arcsin* terlebih dahulu dan dilanjutkan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal dengan  $p = 0,200$  ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Homogeneity of Variances* dan diperoleh hasil  $p = 0,344$  ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Berdasarkan data hasil uji anova satu arah untuk integritas spermatozoa mencit menunjukkan nilai sig. 0,00. Nilai signifikansi data tersebut menunjukkan nilai kurang dari 0,05 (Sig < 0,05) dan nilai F hitung > F tabel pada integritas spermatozoa mencit yaitu  $59,34 > 3,24$ . Nilai signifikansi dan F menunjukkan data integritas spermatozoa mencit memiliki perbedaan yang signifikan dan dapat dilanjutkan untuk uji Duncan.

Hasil uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ) pada Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase integritas membran spermatozoa dengan dosis 300mg/kgBB (P3) menunjukkan perbedaan secara signifikan dari pada kelompok perlakuan lain serta memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar  $63,54 \pm 4,33$ . Pada persentase integritas membran kelompok kontrol negatif (K0) mendapatkan nilai  $38,52 \pm 2,1$  berbeda secara signifikan dengan dosis 100mg/kgBB (P1) serta menjadi nilai persentase terendah yaitu sebesar  $46,76 \pm 3,42$ . Nilai persentase integritas membran pada dosis 200mg/kgBB (P2) tidak berbeda secara signifikan dari pada kelompok perlakuan dosis 100mg/kgBB (P1) yaitu sebesar  $50,84 \pm 4,31$ . Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Persentase abnormalitas  $\pm$  standart deviasi spermatozoa mencit yang diberikan ekstrak daun kemangi setelah dipapar asap rokok

Perlakuan	Rerata Abnormalitas $\pm$ SD (%)
Kontrol Positif (K1)	$5,07 \pm 0,44^a$
Kontrol Negatif (K0)	$12,61 \pm 1,06^c$
Dosis 100 mg/kgBB (P1)	$12,37 \pm 1,19^c$
Dosis 200 mg/kgBB (P2)	$8,51 \pm 1,93^b$
Dosis 300 mg/kgBB (P3)	$6,41 \pm 1,43^a$

Keterangan: Notasi huruf subskrit yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata, sedangkan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh yang berbeda nyata. (a=notasi persentase terendah, d=notasi persentase tertinggi). K1 = Kontrol positif, K0 = Kontrol negatif, P1 = Dosis 100 mg/kgBB, P2 = Dosis 200 mg/kgBB, dan P3 = Dosis 300 mg/kgBB.

Berdasarkan Tabel 4, nilai rerata abnormalitas spermatozoa mencit jantan menunjukkan nilai tertinggi pada K0 dengan nilai sebesar  $12,61 \pm 1,06\%$ . Perlakuan persentase tertinggi pada P1 dengan nilai sebesar  $12,37 \pm 1,19\%$ . Persentase abnormalitas spermatozoa dengan nilai terendah pada K1 dengan nilai sebesar  $5,07 \pm 0,44\%$  sedangkan pada kelompok perlakuan yang memiliki abnormalitas dengan persentase terendah adalah P3 dengan nilai sebesar  $6,41 \pm 1,43\%$ .

Data penelitian pada Tabel 4 ditransformasikan ke *arcsin* terlebih dahulu dan dilanjutkan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal dengan  $p = 0,183$  ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Homogeneity of Variances* dan diperoleh hasil  $p = 0,178$  ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Berdasarkan data hasil uji anova satu arah untuk abnormalitas spermatozoa mencit menunjukkan nilai sig. 0,00. Nilai signifikansi data tersebut menunjukkan nilai kurang dari 0,05 (Sig < 0,05) dan nilai F hitung > F tabel pada abnormalitas spermatozoa mencit yaitu  $27,27 > 3,24$ . Nilai signifikansi dan F menunjukkan data motilitas spermatozoa mencit memiliki perbedaan yang signifikan dan dapat dilanjutkan untuk uji Duncan.

Hasil uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ) pada Tabel 4 menunjukkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa dengan dosis 100mg/kgBB (P1) menunjukkan perbedaan secara signifikan dari pada kelompok perlakuan lain serta memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar  $12,37 \pm 1,19$ . Namun pada persentase abnormalitas kelompok kontrol negatif (K0) tidak berbeda secara signifikan yaitu sebesar  $12,61 \pm 1,06$ . Nilai persentase abnormalitas pada dosis 200mg/kgBB (P2) berbeda secara signifikan dari pada kelompok perlakuan dosis 100mg/kgBB (P1) yaitu sebesar  $8,51 \pm 1,93$ . Kelompok dosis 300mg/kgBB berbeda signifikan dari P1 dan P2 yang memiliki nilai terendah yaitu sebesar  $6,41 \pm 1,43$ .

## PEMBAHASAN

Pemeriksaan terhadap kualitas spermatozoa menurut WHO (2021) meliputi volume sperma, motilitas (sperma motil progresif, sperma motil tidak progresif dan sperma tidak motil), viabilitas dan bentuk morfologi normal. Pada penelitian ini menggunakan motilitas, viabilitas, integritas, dan abnormalitas morfologi. Berdasarkan analisis data dan hasil statistik dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak daun kemangi berpengaruh terhadap peningkatan kualitas spermatozoa mencit setelah dipapar asap rokok. Asap rokok masuk ke tubuh melalui saluran pernafasan, mukosa mulut dan kulit. Kemudian melalui saluran pernafasan menuju ke paru-paru dan akan diserap ke dalam sistem pembuluh darah. Dari sistem pembuluh darah akan menyebar ke seluruh tubuh termasuk ke organ genitalia dan akan menyebabkan penurunan jumlah sel spermatozoa.

Paparan asap rokok mengandung radikal bebas yang jauh lebih banyak dari pada radikal bebas yang dihasilkan metabolisme tubuh (Yuslianti, 2018). Saat kadar radikal bebas lebih banyak dari pada antioksidan dapat menyebabkan stress oksidatif. Senyawa karsinogen pada asap rokok dapat merusak DNA spermatozoa serta menurunkan kadar testosteron dan meningkatkan apoptosis pada tahap spermatogonia. Senyawa nikotin pada rokok dapat merangsang medula adrenal untuk memproduksi katekolamin. Produksi katekolamin yang berlebihan akan mempengaruhi sistem saraf pusat sehingga mekanisme umpan balik (*negative feedback*) antara hipotalamus, hipofisis anterior dan testis menjadi terganggu. Mekanisme umpan balik yang terganggu menyebabkan sintesis hormon testosteron juga terganggu (Putra, 2016).

Data hasil penelitian motilitas spermatozoa setelah perlakuan 14 hari menunjukkan adanya pengaruh zat toksik dari asap rokok. Pada kelompok yang dipapar asap rokok tanpa pemberian ekstrak daun kemangi (K0) menunjukkan rata-rata persentase motilitas paling rendah dibandingkan kelompok yang tanpa diberikan asap rokok dan ekstrak daun kemangi (K1), yaitu dari  $63,4 \pm 4,64\%$  menjadi  $19,4 \pm 4,76\%$ . Menurut WHO (2021), nilai persentase yang kurang dari 40% dapat diindikasikan sebagai gangguan infertilitas.

Penurunan persentase motilitas dapat disebabkan oleh kerusakan pada beberapa faktor yaitu pemenuhan energi untuk motilitas dan morfologi flagella (Freitas *et al.*, 2017). Pemenuhan energi berupa ATP didapatkan dari jalur glikolisis anaerob pada bagian utama flagella dan fosforilasi oksidatif pada mitokondria. Berbagai literatur memberikan bukti yang mendukung peran fosforilasi oksidatif sebagai penyedia ATP utama untuk motilitas sperma karena jalur ini menghasilkan ATP lebih banyak dari pada jalur glikolisis anaerob saat banyak oksigen (Tourmente *et al.*, 2015). Pada jalur fosforilasi oksidatif radikal bebas dari asap rokok dapat mengganggu proses respirasi. Selain itu ROS dapat menyebabkan kerusakan pemompaan proton secara langsung, penurunan potensi membran

mitokondria dan produksi ATP yang pada akhirnya menurunkan motilitas spermatozoa (Fetterman *et al.*, 2017).

Radikal bebas juga dapat merusak berbagai protein, salah satu yang terdampak adalah protein ATP-ase pada membran sel spermatozoa. Enzim ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion Na dan kalium. Jika aktivitas enzim ATP-ase terganggu, maka homeostasis ion natrium dan kalium akan terganggu sehingga konsentrasi Na intrasel meningkat, gradien Na<sup>+</sup> melintasi membran sel akan menurun sehingga pengeluaran Ca juga akan mengalami penurunan. Apabila ion Ca<sup>2+</sup> berkurang maka membran akan kehilangan kemampuannya untuk mengangkut bahan-bahan terlarut ke dalam sitoplasma. Terganggunya permeabilitas membran spermatozoa akan menyebabkan terganggunya transpor nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoa untuk pergerakannya (Julia *et al.*, 2019).

Faktor lain yang berpengaruh dalam motilitas adalah morfologi flagela. Abnormalitas morfologi spermatozoa dapat terjadi akibat terganggunya proses spermatogenesis. Zat nikotin pada rokok dapat menghambat sekresi testosteron (Devita dan Amran, 2019), serta kerusakan sel Leydig akibat radikal bebas. Hal ini menyebabkan spermatozoa dengan morfologi abnormal (Ningrum *et al.*, 2016). Bentuk ekor spermatozoa yang abnormal pada penelitian ini menunjukkan gerakan berputar-putar, bergetar lemah dan diam ditempat sehingga spermatozoa tidak bergerak progresif seperti pada umumnya.

Ekstrak kemangi yang mengandung flavonoid bertugas untuk melindungi spermatozoa dari radikal bebas (Da Silva, 2017). Daun kemangi memiliki senyawa polifenol seperti tanin 11,18% (Nadeem *et al.*, 2022) dan flavonoid sebesar 0,18% (Oonsivilai dan Prasongdee, 2013). Flavonoid bekerja dengan mendonorkan elektronnya ke radikal bebas, sehingga antioksidan menjadi tidak stabil (radikal). Namun radikal antioksidan ini tidak lebih berbahaya dari pada radikal bebas karena mempunyai sifat tidak reaktif. Radikal antioksidan dapat dinetralkan dengan antioksidan yang lain (Fuller, 2010). Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian dari Desi *et al.* (2018) yang membuktikan bahwa flavonoid dapat mencegah reaksi inisiasi oleh radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen. Selain itu flavonoid dapat mengkelat ion logam Fe<sup>2+</sup> dan Cu<sup>2+</sup>. Ion logam ini dapat bereaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang menghasilkan produk OH<sup>-</sup> (Radikal bebas) (Winarsi, 2011). Dengan adanya antioksidan dari ekstrak daun kemangi dapat mencegah stress oksidatif pada mitokondria yang menjadi suplai energi. Produksi energi yang baik dapat menciptakan kondisi motilitas progresif. Selain itu dengan terhambatnya pembentukan radikal bebas, menyebabkan pompa ion oleh enzim ATPase tidak terganggu sehingga dapat mentransport nutrisi dengan baik yang digunakan untuk motilitas spermatozoa.

Pengamatan terhadap spermatozoa dilakukan menggunakan perwarna eosin-nigrosin. Pewarna eosin dapat menembus membran sperma mati dengan penampakan berwarna merah muda, sedangkan saat sel sperma hidup eosin tidak dapat menembus membran sel karena sifat permeabilitas selektifnya sehingga tampak tidak berwarna. Nigrosin berfungsi latar belakang yang lebih gelap untuk memudahkan pembedaan spermatozoa yang hidup dan mati (Kumar *et al.*, 2017).

Hasil penelitian spermatozoa selama 14 hari menunjukkan adanya pengaruh dari paparan asap rokok pada viabilitas spermatozoa. Pada kelompok kontrol positif (K1) mengalami penurunan dari 84,19±3,99 % menjadi 45,07±5,81% pada kelompok kontrol negatif (K0). Nilai persentase yang kurang dari 54% dapat diindikasikan sebagai gangguan infertilitas (Boitrelle *et al.*, 2021).

Penurunan viabilitas spermatozoa dapat disebabkan oleh peningkatan radikal bebas akibat paparan asap rokok. Kelebihan radikal bebas dapat menyebabkan stress oksidatif pada membran lipid spermatozoa. Radikal bebas berupa ROS sangat reaktif dengan membran sel spermatozoa, hal ini dikarenakan membran sel tersusun atas asam lemak tak jenuh ganda (PUFA). Radikal bebas seperti OH<sup>-</sup> dapat menarik satu atom H pada rantai samping PUFA dengan produk H<sub>2</sub>O dan lipid radikal. Struktur lipid radikal bersifat tidak stabil sehingga mengikat O<sub>2</sub> menjadi lipid peroksil. Struktur lipid peroksil kembali beraksi dengan PUFA yang mengakibatkan reaksi berantai. Proses peroksidasi lipid dapat mempengaruhi integritas membran, fluiditas, struktur, dan fungsi sel yang pada akhirnya membuat sel spermatozoa mati (Yuslianti, 2018). Selain itu kerusakan pada membran lipid dapat menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran yang berakibat pada transport nutrisi yang terhambat, kekurangan nutrisi dapat mengurangi tingkat viabilitas spermatozoa (Julia *et al.*, 2019). Viabilitas spermatozoa sangat berkaitan erat dengan motilitas dan integritas membran. Kerusakan membran spermatozoa (integritas membran) dapat mengindikasikan terganggunya metabolisme sel. Hal tersebut menyebabkan penurunan energi dan nutrisi bagi spermatozoa yang berakibat menurunnya kemampuan motilitas dan kematian pada sel tersebut (viabilitas).

Sebagaimana seperti motilitas spermatozoa, sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan bahwa ekstrak daun kemangi memberikan pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa mencit yang terpapar asap rokok. Hal tersebut terbukti dari peningkatan persentase viabilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun kemangi setelah dilakukan pemaparan asap rokok. Pemberian ekstrak daun kemangi mampu meningkatkan viabilitas spermatozoa. Hal ini disebabkan karena kandungan flavonoid yang mampu mencegah rusaknya membran plasma pada spermatozoa dengan menangkap radikal bebas (*radical scavenging*) secara langsung yang dilepaskan peroksida. Flavonoid juga dapat mengkhelat logam karena mengandung satu gugus karboksil dan dua gugus hidroksil yang dapat bereaksi dengan logam sehingga membentuk kompleks yang stabil (Yuslianti, 2018). Dengan adanya antioksidan dari ekstrak daun kemangi dapat mencegah stress oksidatif pada lipid membran sel spermatozoa. Keutuhan membran lipid spermatozoa dapat mentransport energi dan nutrisi sehingga viabilitas spermatozoa meningkat.

Pengamatan integritas membran spermatozoa dilakukan menggunakan uji HOST (*Hypo-osmotic swelling test*). Spermatozoa dalam upaya mencapai keseimbangan osmotik dalam kondisi hipoosmotik, spermatozoa akan membiarkan molekul air melintasi membran plasma. Masuknya air meningkatkan volume sperma dan menyebabkan penonjolan membran plasma. Ketika sel sperma mengalami larutan hipoosmotik, karena masuknya cairan, ekor sperma mengembang dan menonjol secara khas, yang disebut sebagai respons HOS. Hal ini dapat mengukur respons sperma terhadap tekanan osmotik dan membran sperma yang utuh (Kumar *et al.*, 2017). Hasil penelitian spermatozoa selama 14 hari menunjukkan adanya pengaruh dari pemaparan asap rokok pada integritas membran spermatozoa. Pada kelompok kontrol positif (K1) mengalami penurunan dari  $70,66 \pm 1,69\%$  menjadi  $38,52 \pm 2,1\%$  pada kelompok kontrol negatif (K0).

Menurut Hine *et al.* (2020), penurunan kualitas spermatozoa dapat terjadi karena stres osmotik pada spermatozoa. Spermatozoa sangat sensitif terhadap peroksidasi lipid karena tingginya asam lemak tak jenuh dan fosfolipid pada membran plasma (Wahjuningsih dan Ihsan, 2018). Mitokondria berperan penting dalam homeostasis energi melalui fosforilasi oksidatif dan ATP sintase penurunan mulai terjadi akumulasi ROS menyebabkan terganggunya selektivitas membran, permeabilitas, dan perubahan membran, serta pengurangan aktivitas spermatozoa. Penurunan persentase integritas dapat diatasi dengan penambahan antioksidan agar dapat melindungi membran sel spermatozoa.

Penambahan ekstrak daun kemangi sebagai bahan yang mengandung antioksidan dan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Antioksidan dalam daun kemangi tersebut dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat didalam sel sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksida lipid yang dapat menyeimbangkan antioksidan endogen spermatozoa dengan radikal bebas.

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian ekstrak daun kemangi dapat mempengaruhi abnormalitas spermatozoa mencit (Tabel 4). Pada pengamatan abnormalitas didapatkan persentase abnormalitas terendah pada perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi dengan dosis 300 mg/kgBB (P3) sebesar  $6,41 \pm 1,43\%$  dan tertinggi pada dosis 100 mg/kgBB (P1) sebesar  $12,37 \pm 1,19\%$ . Pada hasil uji statistik dengan uji duncan menunjukkan bahwa tingkat abnormalitas paling rendah atau dianggap terbaik pada kelompok P3 (dosis 300 mg/kgBB). Berdasarkan hasil tersebut, nilai abnormalitas spermatozoa pada P3 tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal.

Penurunan abnormalitas dapat disebabkan oleh paparan asap rokok. Zat nikotin pada asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal mensekresikan katekolamin yang mempengaruhi hipotalamus dalam mensekresi GnRH. Hormon GnRH yang terhambat berpengaruh pada hipofisis anterior dalam sekresi FSH dan LH. Hormon FSH berfungsi menstimulasi sel Sertoli menutrisi spermatozoa dan LH dengan Sel Leydig berfungsi mensekresikan hormon testosteron. Hormon testosteron dibutuhkan oleh epididimis untuk transport elektrolit untuk kebutuhan spermatozoa (Mughniati *et al.*, 2018). Kadar testosteron yang menurun mengakibatkan abnormalitas primer karena terhambatnya proses spermatogenesis sehingga mengganggu pembentukan  $\alpha$ -tubulin yang mejadi komponen dasar mikrotubulus dan mikrofilamen. Sementara itu, abnormalitas sekunder berakibat pada perubahan morfologi (bentuk, ukuran, DNA) dan fungsi spermatozoa (Indriyani *et al.*, 2019)

Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kemangi dapat menyebabkan rendahnya nilai abnormalitas spermatozoa. Nilai abnormalitas spermatozoa yang diberi ekstrak daun kemangi dosis 300 mg/kgBB memiliki nilai paling rendah dibandingkan perlakuan daun kemangi yang lain. Kelompok negatif memiliki nilai abnormalitas paling tinggi yaitu  $12,61 \pm 1,06\%$  yang artinya paparan asap rokok selama 14 hari dapat mempengaruhi abnormalitas spermatozoa pada mencit.

Ekstrak daun kemangi diduga memiliki senyawa yang berperan melalui mekanisme antioksidan sehingga dapat mempengaruhi abnormalitas spermatozoa. Senyawa tersebut adalah

flavonoid, flavonoid mampu mengatasi kerusakan spermatozoa akibat radikal bebas yang ditimbulkan paparan asap rokok.

Nilai abnormalitas paling banyak ditemukan dari golongan abnormalitas sekunder. Abnormalitas sekunder memiliki ciri-ciri ekor yang melengkung atau membelok, ekor putus dan tanpa kepala. Abnormalitas spermatozoa dapat terjadi karena proses pembuatan prepatar apusan sehingga menyebabkan kerusakan, selain itu abnormalitas sekunder juga dapat terjadi karena ejakulasi yang kurang sempurna sehingga ekor spermatozoa menjadi terputus. Abnormalitas sekunder yang ditemukan pada penelitian ini berupa ekor putus, ekor melingkar dan *distal reflex midlepiece*. Selain abnormalitas sekunder juga terdapat abnormalitas primer berupa *double head* dan *proximal droplet*. *Distal feflex midlepiece* dapat dicirikan bagian ekor melengkung pada bagian distal seperti huruf “J”.

## SIMPULAN

Ekstrak daun kemangi berpengaruh terhadap peningkatan kualitas spermatozoa, mencakup motilitas, viabilitas, integritas membran, dan abnormalitas spermatozoa pada mencit yang diberi paparan asap rokok. Dosis ekstrak daun kemangi 300 mg/kgBB adalah dosis paling baik dalam meningkatkan kualitas spermatozoa mencit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, dan Chyatte MR, 2015. A Unique View on Male Infertility Around the Globe. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13 (1): 37.
- Arundani P, I'tishom R, dan Purwanto B, 2021. Pemberian Ekstrak Rumput Kebar (*Biophytum petersianum klotzsch*) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus Musculus*) Diabetes Melitus. *Oceana Biomedicina Journal*, 4 (1): 26- 37.
- Bayer SR, Michael MA, and Alan SP, 2018. *The Boston IVF Handbook of Infertility*. 4th Edition. Florida: CRC Press.
- Boitrelle F, Shah R, Saleh R, Henkel R, Kandil H, Chung E, Vogiatzi P, Zini A, Arafa M, and Agarwal A, 2021. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. *Life (Basel)*. 11 (12): 1368.
- Chen SJ, Allam JP, Duan YG, and Haidl G, 2013. Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches. *Arch Gynecol Obstet*. 288 (1): 191-199.
- Da Silva FM, 2017. Antioxidant Properties of Polyphenols and Their Potential Use in Improvement of Male Fertility. A Review. *Biomedical Journal of Scientific dan Technical Research*, 1 (3): 612–616.
- Desi NH, Kurniasari D, Romdhoni MF, dan Maulana AM, 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Putih Galur Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Monosodium Glutamate (MSG). *Saintika Medika*, 14 (1): 48-54.
- Devita H, dan Amran VYA, 2019. Efek Rokok terhadap Kadar Folicle Stimulating Hormone (FSH) pada Pria. *Indonesia Jurnal Kebidanan*, 3 (1): 11-17.
- DiFranza JRA, 2015. Update On the Natural History and Diagnosis of Nicotine Addiction. *Curr Pediatr Rev*. 11 (1): 43–55.
- Elmiranda N, Hiroyuki A, Sumirat VA, Anggraeni N, Lubis A, Widyastuti R, dan Syamsunarno MRAA, 2021. Hematology Profile and Sperm Quality in Mice (*Mus musculus*) Balb/C strain post vasectomy. *Adv. Anim. Vet. Sci*. 9 (12): 2258-2265.
- Fakriah KE, Adriana R, 2019. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. Politeknik Negeri Lhokseumawe. *Jurnal Vokasi*. 3 (1): 1-7.
- Fetterman JL, Sammy MJ, and Ballinger SW, 2017. Mitochondrial Toxicity of Tobacco Smoke and Air Pollution. *Toxicology*. 391: 18-33.
- Freitas MJ, Vijayaraghavan S, dan Fardilha M, 2017. Signaling mechanisms in mammalian sperm motility. *Biology of reproduction*, 96 (1): 2–12.
- Fuller BB, 2010. *Antioxidant and anti inflammatories*. In: *Draelos ZD ed. Cosmetic Dermatology Product and Prosedure*. Oxford: Willey Blackwell.
- Indriyani, Hendri B, dan Sutyarso S, 2019. Penurunan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4 (1): 85-95.
- Ionately T, N Solihati dan S Wahyuni, 2015. Pengaruh Jenis Pengencer terhadap Daya Hidup dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Itik Rambon. *E- Journals*, 4 (3), 1-15.
- Julia D, Salni S, dan Nita S, 2019. Pengaruh Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis Linn.*) Terhadap Jumlah, Motilitas, Morfologi, Viabilitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*). *Biomedical Journal of Indonesia: Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 5 (1): 34–42.
- Kemenkes RI, 2015. *Perilaku Merokok Masyarakat Indonesia Berdasarkan Riskesdas 2007 dan 2013*. 1– 11.
- Mauludin MS, Alfalah AF, dan Wibowo DD, 2016. *MQ 2 Sebagai Sensor Anti Asap Rokok Berbasis Arduino dan Bahasa C*. Prosiding SNST Fakultas Teknik. 1 (1).
- Kumar P, Srivastava N, Pande M, Prasad JK, and Sirohi AS, 2017. Evaluating Sperm Cell Viability and Membrane Integrity. *Protocols in Semen Biology (Comparing Assays)*, 57–71.

- Mughniati S, Sari DK, Rendrawan D, and Rahim L, 2018. Effects of Kapok Seed Extract (*Ceiba pentandra Gaertn*) as Contraceptive Agent to the Quality of the Spermatozoa in Domestic Cat (*Felis domestica*). *Jurnal Riset Veteriner Indonesia (Journal of The Indonesian Veterinary Research)*, 2 (1): 27–34.
- Musfiroh M, Rifki M dan Noor W, 2012. Pengaruh Minyak Nigella sativa Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar yang Terpapar Asap Rokok. *J Indon Med Assoc*. 62 (5): 178-182.
- Nadeem HR, Akhtar S, Sestili P, Ismail T, Neugart S, Qamar M, and Esatbeyoglu T, 2022. Toxicity, Antioxidant Activity, and Phytochemicals of Basil (*Ocimum basilicum L.*) Leaves Cultivated in Southern Punjab, Pakistan. *Foods*. 11 (9): 1–13.
- Ningrum MS, RA Nugroho, dan Sudiastuti, 2016. Pengaruh Semangka (*Citrullus vulgaris Schrad.*) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Dipaparkan Asap Rokok. Prosiding Seminar Sains dan Teknologi FMIPA Unmul. 394-398.
- Nurmashita D, Rijai L, dan Sulistiarini R, 2015. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Terhadap Aktivitas Antibakteri Basis Pasta Gigi. *J. Sains dan Kesehat*. 1: 159–167.
- Oonsivilai R, dan Prasongdee P, 2013. *Total phenolic contents, total flavonoids and antioxidant activity of Thai basil (Ocimum basilicum L.)*. 5th International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO 5), A-P- 062 (104-108).
- Putra Y, 2016. Pengaruh Rokok Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus, Strain Jepang*). *Sainstek: Jurnal Sains dan Teknologi*, 6(1): 30-42.
- Rahmawati I, 2015. Pengaruh Nikotin Terhadap Jumlah Sel Leydig Pada Mencit (*Mus musculus*). *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 10 (2): 82-85.
- Rahmi H, 2017. Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah- buahan di Indonesia. Universitas Singaperbangsa Karawang. *Jurnal Agrotek Indonesia* 2 (1): 34 – 38.
- Safwan S, Sugara T, dan Rohmi MK, 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Terhadap Motilitas Dan Konsentrasi Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). Universitas Muhammadiyah Mataram. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(2): 173-181.
- Sansone A, Di Dato C, de Angelis C, Menafrà D, Pozza C, Pivonello R, Isidori A, dan Gianfrilli D, 2018. Smoke, Alcohol and Drug Addiction and Male Fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16 (1), 3.
- Septiani CA, 2021. Penyakit yang ditimbulkan oleh Rokok. *IJK Strada Indonesia*.1 (1): 1-5.
- Sharma R, Harlev A, Agarwal A, and Esteves SC, 2016. Cigarette Smoking and Semen Quality: A New Meta-Analysis Examining the Effect of the 2010 World Health Organization Laboratory Methods for the Examination of Human Semen. *European Urology*, 70 (4): 635–645.
- Sherwood L, 2014. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem ed 8*. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Szymanowska U, Złotek U, Karas M, and Baraniak B, 2015. Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors. *Food Chem*. 172: 71–77.
- Tethool AN, dan Purwaningsih P, 2019. Efek Pemberian Ekstrak Kayu Akway (*Drymis Sp*) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*). *Jurnal Ilmu Peternakan Dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*, 9 (1): 24.
- Tourmente M, Villar-Moya P, Rial E, dan Roldan E R, 2015. Differences in ATP Generation Via Glycolysis and Oxidative Phosphorylation and Relationships with Sperm Motility in Mouse Species. *Journal of Biological Chemistry*, 290(33): 20613-20626.
- Trisnawati Y, 2015. Analisis Kesehatan Reproduksi Warna Ditinjau Dari Riwayat Kesehatan Reproduksi Terhadap Infertilitas Di RS Margono Soekardjo. *Jurnal Kedanan*, 7 (2): 98–106.
- Winarsi H, 2011. *Pembentukan Senyawa Oksigen Reaktif dan Radikal Bebas di: Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- WHO, 2020. *Infertility*. Diakses pada 20 Juni 2021. Dari <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/infertility>.
- WHO. 2021. *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*. WHO Press. 6th ed. Geneva, Switzerland: Diakses pada 25 Juli 2023 dari: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>
- Yuslianti ER, 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: Deepublish.

#### Article History:

Received: 2 Agustus 2023

Revised: 5 Mei 2024

Available online: 14 Mei 2024

Published: 31 Mei 2024

#### Authors:

Ahnan Mahfudz Nur Sholihin, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: ahnan.18049@mhs.unesa.ac.id  
Nur Ducha, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: nurducha@unesa.ac.id

#### How to cite this article:

Sholihin AMN, Ducha N, 2024. Pengaruh Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Paparan Asap Rokok. *LenteraBio*; 289-299.