

**PENGARUH EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH
(*Psidium guajava*) TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA
MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERPAPAR ASAP ROKOK
(*Sidestreame Smoke*)**

SKRIPSI



**Oleh :
USTATIK
H91214032**

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

**SURABAYA
2018**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Ustatik
NIM : H91214032
Program Studi : Biologi
Angkatan : 2014 (Angkatan Pertama)

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

Pengaruh Ekstrak Buah Jambu Merah (*Psidium guajava*) terhadap Morfologi Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Asap Rokok (*Sidestream Smoke*).

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,

2018



Ustatik

PERSETUJUAN PEMBIMBING

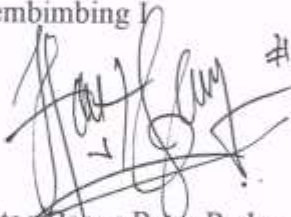
Setelah memeriksa dan memberikan arahan terhadap skripsi yang ditulis oleh:

Nama : Ustatik
NIM : H91214032
Program Studi : Biologi

Yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH (*Psidium guajava* L.) TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN YANG TERPAPAR ASAP ROKOK”**, saya berpendapat bahwa skripsi tersebut dapat diajukan untuk disidangkan.

Surabaya, 18 Juli 2018

Pembimbing I



Tatag Bagus Putra Prakarsa, M.Sc
NIP.201603303

Pembimbing II



Esti Tyastirin, M.KM
NIP.198706242014032001

**PENGARUH EKSTRAK BUAH JAMBU BIJI MERAH
(*Psidium guajava*) TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA
MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERPAPAR ASAP ROKOK
(*Sidestream Smoke*)**

Disusun oleh
USTATIK
H91214032

Telah dipertahankan 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,2018
Pembimbing (Penguji) I


Tatag Bagus Putra Prakarsa, M.Sc.
NIP.201603303

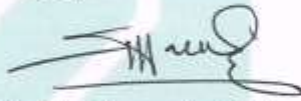
Surabaya,2018
Pembimbing (Penguji) II


Esti Tyastirin, M.KM.
NIP.198706242014032001

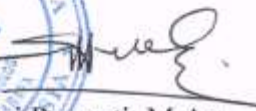
Surabaya,2018
Penguji III


Funsu Andiarna, M.Kes.
NIP.198710142014032002

Surabaya,2018
Penguji IV


Dr. Eni Purwati, M.Ag.
NIP.196512211990022001

Mengetahui
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya


Dr. Eni Purwati, M.Ag.
NIP.196512211990022001





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 : USTATIK
NIM : H91214032
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/SAINS/BIOLOGI
E-mail address : ustatik68@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*) TERHADAP

MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERPAPAR ASAP

ROKOK (*Sidestream Smoke*)

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, 2 Juli 2018

Penulis

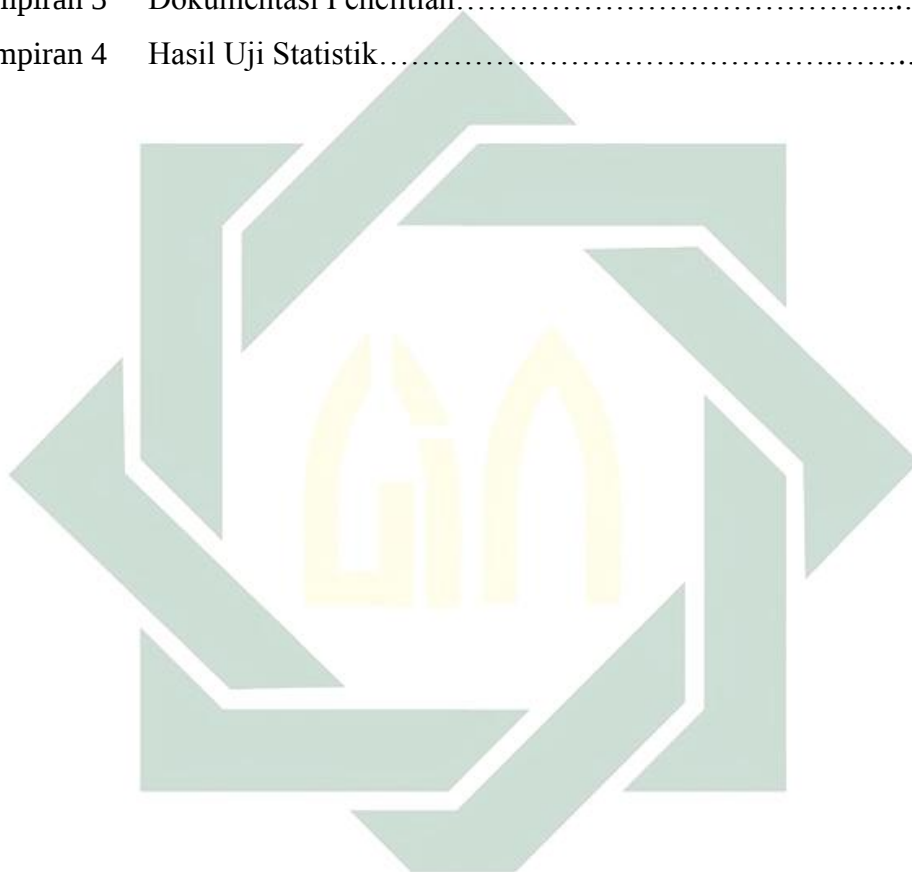
(Ustatik)

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN.....	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN PUBLIKASI.....	iv
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian.....	8
D. Batasan Penelitian	8
E. Manfaat Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Deskripsi Jambu Biji Merah (<i>Psidium guajava</i>).....	10
B. Kandungan Gizi Buah Jambu Biji Merah	12
C. Senyawa dan Zat Aditif pada Rokok	18
D. Aktivitas Antioksidan dan Radikal Bebas.....	23
E. Mekanisme Antioksidan Menangkal Radikal Bebas	28
F. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	31
G. Spermatogenesis.....	32
H. Morfologi Spermatozoa Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	37
I. Pengaruh Asap Rokok pada Morfologi Spermatozoa	41
BAB III KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS	
A. Kerangka Teori.....	45
B. Hipotesis.....	46
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	
A. Rancangan Penelitian	47
B. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	48
C. Bahan dan Alat Penelitian	49
D. Variabel Penelitian	51
E. Prosedur penelitian	51
F. Analisis Data	57
BAB V HASIL DAN PEMBAHAAN	
A. Hasil	58
1. Morfologi Spermatozoa Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	58
2. Jenis abnormalitas morfologi spermatozoa mencit	62
3. Presentase Morfologi Spermatozoa.....	63
B. Pembahasan.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kunci Identifikasi Tanaman Buah Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i>).....	100
Lampiran 2	Tabel Konversi Perhitungan Dosis Mencit.....	102
Lampiran 3	Dokumentasi Penelitian.....	103
Lampiran 4	Hasil Uji Statistik.....	105



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Asap rokok merupakan masalah yang dapat mengakibatkan gangguan kesehatan. Asap rokok memiliki faktor resiko yang sangat besar dalam menimbulkan beberapa penyakit, termasuk dapat menyebabkan infertilitas (Kurnia *et al*, 2011). Infertilitas merupakan salah satu gangguan dalam kesehatan reproduksi. Infertilitas terjadi ketika adanya ketidakmampuan untuk menghasilkan konsepsi (pembuahan) setelah melakukan hubungan teratur, tanpa menggunakan alat kontrasepsi setelah satu tahun (Rowe *et al.*, 2000).

Penyebab infertilitas pada pria dengan faktor menurunnya kualitas spermatozoa termasuk abnormalitas spermatozoa atau teratozoospermia sebesar 30% (Johnson dalam Ferial, 2013). Sedangkan presentase resiko terjadinya infertilitas pada seorang perokok adalah 19% yang ditandai dengan menurunnya konsentrasi spermatozoa, jumlah sperma motil dan peningkatan morfologi abnormal dibandingkan dengan yang bukan perokok (Benowitz *et al.*, 2006).

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) (2002), 30% dari usia 15 tahun ke atas adalah perokok (Saleh *et al.*, 2002). Pria pada usia subur (berkisar 20-39 tahun) merupakan perokok aktif dengan presentase 46% (Trummer *et al.*, 2002). Berdasarkan data *The Asean Tobacco Control Report Card* tahun 2008, sebanyak 30.1% penduduk Asia Tenggara adalah

Menurut *Global Adult Tobacco Survey* (GATS) Indonesia (2011), tingkat prevalensi perokok di Indonesia pada tahun 2011 adalah 34.8% dengan proporsi perokok pada laki-laki lebih tinggi 30 kali dibandingkan dengan perempuan yaitu 67.0% dan 2.7%. Sedangkan prevalensi perokok pasif dari total populasi di Indonesia yaitu 40.5% dengan laki-laki sebesar 26% dan perempuan 54.5% (Riskesdas, 2007). Tempat paparan asap rokok menurut GATS (2011), yaitu 51.3% terpapar asap rokok di lingkungan kerja, 78.4 terpapar asap rokok di rumah, dan 85.4% terpapar asap rokok di tempat makan umum. Surabaya sebagai ibu kota dari propinsi Jawa Timur, dan sekaligus sebagai kota terbesar kedua setelah Jakarta pada tahun 2013 memiliki proporsi perokok sebesar 26.35% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI, 2014).

[illegible]

عَنْ أَبِي سَعِيدٍ سَعْدُ بْنُ سَنَانٍ الْخُدْرِيِّ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ :
لَا ضَرَرَ وَلَا ضِرَارَ

Berdasarkan tafsir An-Nawawi pada hadits di atas, menjelaskan bahwa adanya larangan untuk melakukan sesuatu yang berbahaya pada dirinya maupun orang lain. Termasuk sesuatu yang diharamkan adalah

sesuatu yang berbahaya seperti merokok, yang dapat berakibat atau membahayakan dirinya maupun orang disekitarnya (perokok pasif).

Asap rokok samping (*sidestream smoke*) yang dihasilkan dari perokok aktif dapat menyebabkan gangguan kesehatan, salah satunya yaitu infertilitas dengan adanya zat karsinogen dan radikal bebas yang dikandungnya. Namun, aktivitas radikal bebas di dalam tubuh diimbangi dengan mekanisme pertahanan endogen, yaitu tubuh akan memproduksi antioksidan yang mempunyai pengaruh sebagai anti radikal bebas sebagai proteksi garis pertama dalam menetralkan radikal bebas. Antioksidan endogen berupa enzim seperti superoxide dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GPX) (Agarwal *et al.*, 2005). Namun, jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar (antioksidan eksogen) untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk (Reynertson, 2007).

Pada masa ini banyak pengobatan yang menggunakan antioksidan eksogen sintetis, seperti *butylatedhydroxytoluene* (BHT), *butylated-hydroxyanysole* (BHA), propilgalat, *tert-butyl hydroxy quinon* (TBHQ), *propylgallate* (PG), *nordihidroquairetic acid* (NDGA) dan α -tokoferol. Namun antioksidan tersebut bersifat karsinogen pada sistem reproduksi (Hernani dan Rahardjo, 2005). Oleh sebab itu, buah jambu biji merah dapat dijadikan alternatif antioksidan alami yang dapat meredam aktivitas radikal

bebas yang merusak sel spermatozoa, sebagaimana firman Allah yang tercantum dalam (QS. Asyu'araa / 26 : 7), dibawah ini :

أَوْ مَ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَنَّا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapa banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. As-Syu’araa:7).

Berdasarkan tafsir Al-Misbah oleh Quraisy Shihab, menjelaskan bahwa apakah mereka akan terus mempertahankan kekufuran dan pendustaan serta tidak merenungi dan mengamati sebagian ciptaan Allah di bumi ini?. Sebenarnya jika mereka bersedia merenungi dan mengamati hal itu, niscaya mereka akan mendapatkan petunjuk. Kamilah (Allah) yang mengeluarkan dari bumi itu beraneka ragam tumbuh-tumbuhan yang mendatangkan manfaat.

Berdasarkan Firman Allah dan tafsir di atas, menunjukkan bahwa sebenarnya di bumi ini terdapat banyak tanaman yang memiliki manfaat besar kepada kehidupan manusia. Salah satunya adalah jambu biji merah (*Psidium guajava*). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *National Institute of Nutrition* di Hyderabad (2011), buah jambu biji merah merupakan sumber antioksidan tertinggi yaitu sebesar 496 mg/100 gram, dibandingkan berbagai jenis buah lainnya, seperti apel, pisang, anggur, dan lain-lain sesuai tabel dibawah ini :

Antioksidan			
Jenis Buah	(mg/100 gram)	Jenis buah	Antioksidan (mg/100 gram)
Jambu biji merah	496	Papaya	50
Plum	330	Pisang	30
Mangga	170	Lemon	26
Delima	135	Jeruk	24
Apel	123	Semangka	23
Anggur	85	Nanas	22

Dengan adanya antioksidan yang tinggi pada buah jambu biji merah, maka buah tersebut dapat dijadikan sebagai alternatif antioksidan alami. Antioksidan dapat meredam atau menetralkan adanya radikal bebas dan mampu mengurangi timbulnya stres oksidatif sehingga kerusakan morfologi spermatozoa dapat ditekan (Durairajanayagam *et al.*, 2014).

[illegible]

D. Batasan penelitian

[illegible]

E. Manfaat penelitian

1. Diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat bahwa asap rokok merupakan sumber yang dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh yang bersifat toksik terhadap spermatozoa maupun dapat mengganggu proses spermatogenesis, sehingga dapat memicu terjadinya infertilitas pada pria.
2. Memberikan masukan pada perokok pasif untuk sering mengonsumsi sumber antioksidan alami, terutama dari buah jambu biji merah (*Psidium guajava*) yang mengandung antioksidan yang cukup tinggi untuk menurunkan efek yang ditimbulkan dari asap rokok.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Jambu Biji Merah

Tanaman jambu biji merah (*Psidium guajava*) merupakan tumbuhan tropis yang ditemukan pertama kali di Brasil, Amerika Tengah oleh Nikolai Ivanovich Vavilov. Pada saat melakukan ekspedisi di beberapa Negara di Asia, Afrika, Eropa, Amerika Selatan, dan Uni Soviet antara tahun 1887-1942. Nikolai Ivanovich Vavilov membawa dan menyebarkan tumbuhan tersebut di beberapa negara, termasuk Indonesia. (Afani, 2016; Parimin, 2005). Adapun taksonomi tanaman jambu biji diklasifikasikan sebagai berikut (Parimin, 2005):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Psidium</i>
Spesies	: <i>Psidium quajava</i> Linnaeus.

Tanaman jambu biji merah merupakan tanaman dengan perawakan perdu atau pohon kecil. Tingginya dapat mencapai 2-10 m dan memiliki percabangan banyak (Hapsoh, 2011). Batang pada tanaman ini berkayu, mengelupas, bercabang, berwarna coklat, dan kulit batang bertekstur licin.

Jambu biji merah merupakan tanaman tropis yang sangat kaya akan vitamin C, likopen, dan serat pangan (Padula dan Rodriguez-Amaya, 1986; Rodriguez-Amaya, 1999; Al-Jedah dan Robinson, 2002; Sidhu, 2006). Kandungan gizi pada buah jambu biji merah per 100 gram sebagaimana pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.1. Kandungan Gizi Buah Jambu Biji Merah Per 100 gram

Kandungan Gizi	Jumlah
Air	80.8 gram
Kalori	68 kcal
Serat pangan	5.4 gram
Protein	2.55 gram
Lemak	0.95 gram
Karbohidrat	14.32 gram
Abu (K)	1.39 gram
Kalsium (Ca)	18 mg
Magnesium (Mg)	22 mg
Mangan (Mn)	0.15 mg
Fosfat (P)	40 mg
Besi (Fe)	0.26 mg
Sodium (S)	2 mg
Tembaga (Cu)	0.23 mg
Zink (Zn)	0.23 mg
Beta-Caroten (Vitamin A)	374 µg
Asam askorbat (Vitamin C)	228.3 mg
Thiamin (Vitamin B1)	0.07 mg
Riboflavin (Vitamin B2)	0.04 mg
Niacin (Vitamin B3)	374 mg
Likopen	5214 µg

(Sumber: USDA, 2009; TACO, 2006; Soares *et al.*, 2007; Shidhu, 2006., dalam Vieira, *et al.*, 2012)

Buah jambu biji merah diketahui memiliki kandungan vitamin C dan beta karoten sehingga dapat berkhasiat sebagai antioksidan dan meningkatkan daya tahan tubuh (Fonnie, 2007). Buah jambu biji juga mengandung senyawa flavonoid, seperti quersetin, myrisetin, epigenin, dan

cahaya, suhu tinggi, teknik pengeringan, proses pengelupasan, penyimpanan dan asam (Shi and Maguer, 2000). Likopen bertanggung jawab terhadap warna ungu, merah, oranye, dan kuning pada buah dan sayur (Paiva, 1999). Senyawa likopen menyebabkan warna merah pada jambu biji. Semakin tua atau matang buah jambu biji menyebabkan warna merah yang semakin pekat, dan kandungan likopen akan semakin banyak. Hal tersebut disebabkan akibat adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada senyawa likopen. Semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi dalam molekul, pita serapan utama makin bergeser ke daerah panjang gelombang yang lebih tinggi, dan akibatnya warna buah jambu biji menjadi semakin merah (DeMan, 1997).

Proses penyerapan likopen dalam tubuh terjadi bersamaan dengan lemak. Setelah dicerna oleh lipase pankreas di dalam duodenum dan di emulsi garam empedu, likopen kemudian dibawa ke dalam aliran darah melalui sistem limfatik (Nugrohadhi, 2008). Sebagian besar karotenoid yang terdapat dalam tubuh dan jaringan tubuh manusia adalah jenis likopen (Rao, 2007). Tetapi penyebarannya tidak merata. Likopen didistribusikan terutama pada jaringan lemak, dan organ seperti kelenjar adrenal, hati dan testis (Tabel 2.2). Meskipun demikian, kadar likopen dalam tubuh sangat dipengaruhi dari bahan makanan sumber likopen yang dikonsumsi dan sejumlah variabel gaya hidup seperti merokok (Rao, 2007). Distribusi likopen pada jaringan tubuh manusia sesuai tabel 2.3 dibawah ini:

Tabel 2.3. Distribusi Likopen pada Jaringan Tubuh Manusia

Distribusi Likopen	
Jaringan	Nmol/g berat basah
Adiposa	0.2 – 1.3
Adrenal	1.9 – 21.6
Ginjal	0.15 – 0.62
Hati	1.28 – 5.72
Indung telur	0.25 – 0.28
Kulit	0.42
Lemak	0.2 – 1.3
Paru-paru	0.22 – 0.57
Payudara	0.78
Perut	0.2
Prostat	0.8
Testis	4.34 – 21.4
Usus besar	0.31

(Sumber: Rao and Rao, 2007)

Dalam studi, likopen mempunyai aktivitas antioksidan, yang dapat mencegah rusaknya se-sel akibat radikal bebas, pencegahan stres oksidatif dan penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas, seperti kanker, kardiovaskular, esteroklerosis, maupun infertilitas (Astawan and Kasih, 2008; Rissanen *et al.*, 2002; Rao *et al.*, 2006; Riccioni *et al.*, 2008; Kong *et al.*, 2010; dan Haila, 1999). Likopen juga dapat bersinergi dengan antioksidan lain yaitu vitamin C dan Vitamin E (beta karoten) (Astawan and Kasih, 2008).

C. Senyawa dan Zat Aditif pada Rokok

Menurut Peraturan Pemerintah RI Nomor 109 Tahun 2012 tentang pengamanan rokok bagi kesehatan, rokok merupakan salah satu zat adiktif yang dapat mengakibatkan adiksi atau ketergantungan yang membahayakan bagi kesehatan.

1. Nikotin

Kandungan nikotin pada tembakau berkisar dari 0,6% – 3% dari berat tembakau (Padmaningrum, 2007). Sedangkan pada asap rokok

Menurut Anita (2004), Nikotin yang terkandung pada asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat, sehingga dapat mengganggu proses spermatogenesis dan sintesis hormon testosteron melalui mekanisme umpan balik antara hipotalamus-hipofisis anterior-testis. Sedangkan menurut Nugraheni (2003), mengatakan bahwa nikotin mempengaruhi kerja sistem saraf pusat yang mengakibatkan terhambatnya kerja GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormon*). GnRH merupakan hormon yang dihasilkan dari Kelenjar hipotalamus, yang apabila disekresikan akan menstimulasi kelenjar hipofisis untuk mensekresikan FSH (*Folikel Stimulating Hormon*) dan LH (*Lutealizing Hormon*). Terhambatnya kerja GnRH mengakibatkan terganggunya sekresi FSH dan LH, FSH bekerja memacu sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) dan LH menstimulasi sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron. FSH mengawali proses proliferasi spermatogenesis dan testosteron yang berdifusi dari sel interstitial yang diperlukan untuk

3. Karbon monoksida (CO)

[illegible]

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya (Valko *et al.*, 2007). Di dalam sel hidup, radikal bebas terbentuk pada membran plasma, mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma dan sitosol melalui reaksi-reaksi enzimatik yang berlangsung dalam proses metabolisme (Winarsi, 2007).

Tubuh memiliki mekanisme proteksi yang menetralkan radikal bebas yang terbentuk, antara lain dengan adanya enzim-enzim *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), dan *glutathion peroksidase* (GPX) (Winarsi, 2007). Namun dalam kondisi tertentu, radikal bebas dapat melebihi sistem pertahanan tubuh, kondisi ini disebut sebagai stress oksidatif (Agarwal *et al.*, 2005). Pada kondisi ini, keseimbangan antara radikal bebas dengan kemampuan antioksidan

Secara endogen, radikal bebas didapat dari polusi yang berasal dari luar, bereaksi di dalam tubuh dengan jalan inhalasi, digesti (makanan), injeksi, atau melalui penyerapan kulit. Sumber dari luar tubuh terbentuk dari asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, pestisida, anestetik, limbah industri, ozon, serta sinar ultraviolet (Langseth, 1995). Proses tahapan reaksi pembentukan radikal bebas adalah sebagai berikut (Abate, 1990 & Allen, 2000):

Peroksidasi lipid adalah proses radikal bebas yang bereaksi langsung dengan biomolekul sehingga meningkatkan lesi biokimia. Peroksidasi lipid terjadi pada *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang terletak pada membran sel dan selanjutnya berlanjut dengan reaksi berantai radikal. Radikal hidroksil diperkirakan akan memulai ROS dan menghilangkan atom hidrogen, sehingga menghasilkan radikal lipid dan selanjutnya diubah menjadi konjugasi diena. Selanjutnya, dengan penambahan oksigen konjugasi diena membentuk radikal peroksil; Radikal radikal yang sangat reaktif ini menyerang asam lemak lain yang membentuk lipid hydroperoxide (LOOH) dan radikal baru. Dengan demikian peroksidasi lipid disebar. Karena peroksidasi lipid, sejumlah

Peroksidasi lipid adalah proses radikal bebas yang bereaksi langsung dengan biomolekul sehingga meningkatkan lesi biokimia. Peroksidasi lipid terjadi pada *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang terletak pada membran sel dan selanjutnya berlanjut dengan reaksi berantai radikal. Radikal hidroksil diperkirakan akan memulai ROS dan menghilangkan atom hidrogen, sehingga menghasilkan radikal lipid dan selanjutnya diubah menjadi konjugasi diena. Selanjutnya, dengan penambahan oksigen konjugasi diena membentuk radikal peroksil; Radikal radikal yang sangat reaktif ini menyerang asam lemak lain yang membentuk lipid hydroperoxide (LOOH) dan radikal baru. Dengan demikian peroksidasi lipid disebarkan. Karena peroksidasi lipid, sejumlah

Protein dapat mengalami modifikasi secara oksidatif dalam tiga cara: modifikasi oksidatif asam amino spesifik, pembelahan peptida termediasi secara bebas, dan pembentukan *cross-link* protein akibat reaksi dengan produk peroksidasi lipid. Protein yang mengandung asam amino seperti metionin, sistein, arginin, dan histidin paling rentan terhadap oksidasi (Freeman and Crapo, 1982).

Kerusakan DNA

2. Antioksidan

Klasifikasi antioksidan di dalam sel dapat diklasifikasikan sebagai antioksidan enzimatik dan antioksidan non-enzimatik.

Enzim-enzim antioksidan yang secara langsung terlibat dalam netralisasi ROS dan RNS adalah superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), dan glutathione reductase (GRx) (Willcox *et al.*, 2004).

Antioksidan non-enzimatik dibagi menjadi dua (2) yaitu:

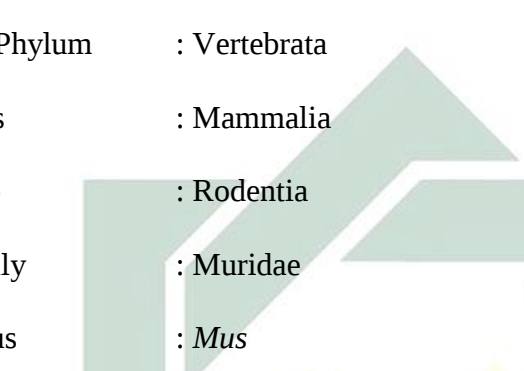
1. Antioksidan primer

Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal (Sayuti, 2015).

[illegible]

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalam antioksidan alami ini adalah vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, asam lipoat, bilirubin dan albumin, likopen dan klorofil (Winarsi, 2007). Antioksidan sintetis dibuat dari bahan-bahan kimia antara lain *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Heo *et al.*, 2005).

Pada antioksidan tersier yaitu berupa enzim-enzim yang berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan biomolekuler seperti DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-basa (Winarsi, 2007).



Phylum : Chordata

Sub Phylum : Vertebrata

Class : Mammalia

Ordo : Rodentia

Family : Muridae

Genus : *Mus*

Species : *Mus musculus* (Linnaeus, 1758)

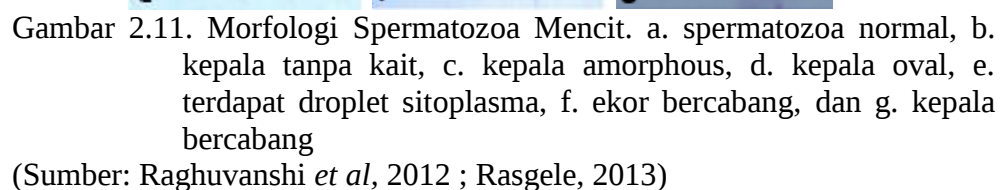
Spermatogenesis adalah suatu proses yang mengubah sel-sel kelamin primer dalam testis menjadi spermatozoa (Frandsen, 1992). Spermatogenesis pada mencit berlangsung selama empat siklus, dimana satu siklus memerlukan waktu kurang lebih 207.6 jam atau 8.63 hari, sehingga keseluruhan proses spermatogenesis membutuhkan waktu kurang lebih 35.5 hari (Rugh, 1968).

[illegible]

Spermatozoa bergerak dari tubulus seminiferus melewati duktus eferens menuju kepala epididimis. Epididimis merupakan pipa panjang dan berkelok-kelok yang menghubungkan vas eferensia pada testis dengan vas deferens. Spermatozoa disimpan dalam epididimis dan vas deferens. Epididimis berperan sebagai tempat untuk pematangan spermatozoa sampai pada saat spermatozoa dikeluarkan dengan ejakulasi. Spermatozoa belum masak ketika meninggalkan testikel dan harus mengalami periode pemasakan di dalam epididimis sebelum mampu membuahi ovum (Villey *et al.*, 1984 and Frandson, 1992).

[illegible]

Spermatozoa mencit normal terdiri atas bagian kepala (*caput*) yang bentuknya bengkok seperti kait, bagian tengah (*middle piece*) yang pendek, dan bagian ekor (*cauda*) yang sangat panjang (Astuti, 2009). Morfologi spermatozoa mencit dalam kriteria normal dan abnormal seperti pada gambar di bawah ini:



- 1) *Tepered* (kepala gepeng)
- 2) *Pyriform* (bentuk menyerupai limas)
- 3) *Round* (membulat)
- 4) *Amorphous* (tak berbentuk)
- 5) *Vacuolated* (terdapat vakuola)
- 6) *Small acrosome area* (tempat akrosom kecil)

- 1) *Bent neck* (leher bengkok)
- 2) *Asymmetrical* (tidak simetri)
- 3) *Thick insertion* (leher tebal)
- 4) *Thin* (leher kurus)

- 1) *Short* (pendek)
- 2) *Bent* (bengkok)
- 3) *coiled* (menggulung)

1) Terdapat droplet sitoplasma

normal, motilitas spermatozoa, dan viabilitas spermatozoa (Wulandari, 2009).

Asap rokok dapat menimbulkan Spesies Oksigen Reaktif (ROS). ROS adalah oksidan yang sangat reaktif. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut hingga ROS itu dihilangkan oleh sistem antioksidan (Pillon and Soulage, 2012).

Keadaan ROS yang berlebihan dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan tubuh. Pada kondisi stres oksidatif, mengakibatkan membran sperma mengalami peroksidasi lipid, kerusakan DNA dan apoptosis, yang menyebabkan penurunan viabilitas, motilitas dan meningkatkan morfologi spermatozoa yang abnormal. Peningkatan kadar ROS adalah penyebab utama dari idiopatik infertilitas faktor laki-laki (Durairajanayagam *et al.*, 2014).

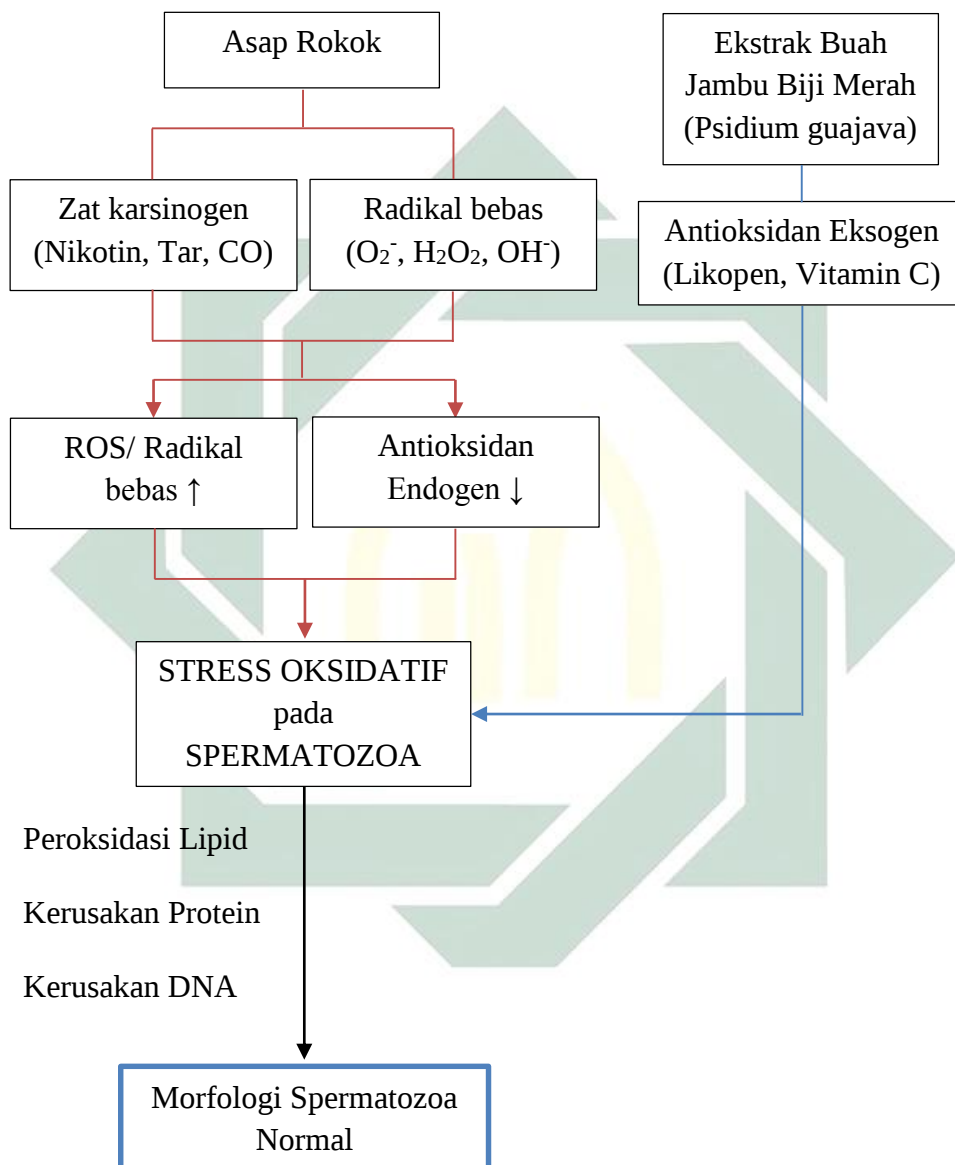
Pada saat level ROS meningkat melebihi kemampuan pertahanan endogen (stres oksidatif). Sters oksidatif akan menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid membran sel dan merusak organisasi membran sel. Salah satu biomarker terjadinya stres oksidatif adalah tingginya kadar malondialdehyde (MDA) yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid dan menurunnya aktivitas SOD akibat proses peroksidasi lipid yang berlebihan di dalam sel (Hu *et al.*, 2014).

Aktivitas radikal bebas di dalam tubuh diimbangi dengan mekanisme pertahanan endogen, yaitu tubuh akan memproduksi antioksidan yang mempunyai pengaruh sebagai anti radikal bebas. Salah satu antioksidan endogen adalah superoxide dismutase (SOD) yang merupakan sistem pertahanan tubuh garis pertama terhadap aktivasi ROS (Fridovich, 1981).

Paparan terhadap asap rokok memiliki relasi yang kuat dengan kerusakan DNA yang dipicu oleh cekaman oksidatif (*oxidative stress*) dan karsinogenesis (Patel, *et al.*, 2008). Merokok diketahui dapat meningkatkan level radikal bebas yang memicu kerusakan DNA dan berbagai basa teroksidasi (contohnya, 8-oxoguanosine) (Lodovici and Bigagli, 2009). Merokok juga dapat menyebabkan oksidasi glutathione (GSH, antioksidan yang melindungi DNA dari kerusakan akibat ROS), menurunkan level antioksidan dalam darah, dan meningkatkan pelepasan radikal superoksida (Ziech, *et al.*, 2011).

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

A. Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konsep

Keterangan:

→ : Dipaparkan (perlakuan) → : Suplementasi (perlakuan)

→ : Proses yang terjadi

Paparan asap rokok hasil pembakaran 2 batang rokok kretek (nikotin: 2.5 mg, tar: 39 mg) sebagai penyebab peningkatan radikal bebas. Sedangkan ekstrak buah jambu biji merah dalam penelitian ini sebagai sumber antioksidan.

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan pada bulan Januari – Maret 2018 di ruang laboratorium fisiologi lantai 3, Laboratorium Terintegrasi, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

C. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan penelitian

- Mencit jantan 24 ekor berumur 2,5 - 3 bulan dengan berat badan 25-30 gram dan sehat yang diperoleh dari Pusat Veteraria Farma (PUSVETMA) Surabaya
- Buah jambu biji merah (*Psidium guajava*) sebanyak 3 kg yang didapat dari Kebun Agrowisata Jambu Biji Merah Bojonegoro dan diidentifikasi oleh pihak LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Purwodadi, serta diidentifikasi varietasnya berdasarkan lampiran 1.
- Pakan mencit standar (pelet) dan air ladeng
- Rokok kretek (nikotin: 2.5 mg, tar: 39 mg) 840 batang
- Larutan fisiologis (NaCl 0.9%)
- Methanol dan pewarna giemsa 3%

2. Alat penelitian

- a. Kandang mencit 24 unit terbuat dari baki plastic berukuran 40 x 30 x 12 cm, dilengkapi tempat minum dan dilapisi sekam 1-5 cm serta ditutup dengan jaring kawat (Lampiran 3)
- b. Timbangan Ohaus digital (Merk *Electronic Kitchen Scale*)
- c. Sonde lambung dan spuit 1 cc
- d. *Smoking chamber*
- e. Pompa rokok (*smoking pump*)
- f. Lateks (sarung tangan) dan masker.

- c. Perhitungan Dosis Ekstrak Buah Jambu Biji Merah

[illegible]

$$X = \frac{A}{BB} \propto$$

Keterangan:

X : dosis pada hewan coba

A : dosis yang diketahui (dari tikus)

BB : berat badan hewan coba

α : nilai konversi

Diketahui A = 0.5 gram/BB/hari (diambil paling rendah)

BB = 25 – 30 gram (diambil nilai tengah yaitu 28)

$\alpha = 0.14$

$$\text{Maka, X} = \frac{0.5}{28} \cdot 0.14$$
$$= 0.0025 \text{ gram/BB/hari} = 2.5 \text{ mg/BB/hari}$$

Dari perhitungan di atas, maka peneliti membuat 4 tingkatan dosis, dengan 2.5 mg/BB sebagai dosis yang paling rendah. Dosis yang dipakai yaitu dengan mengalikan dosis paling rendah menjadi 2 kali lipat, 3 kali lipat, dan 4 kali lipat.

Dosis I : 2.5 mg/bb/hari

Dosis II : 5 mg/bb/hari

Dosis III : 7.5 mg/bb/hari

Dosis IV : 10 mg/bb/hari

2. Persiapan hewan coba

Sebelum penelitian dimulai, mencit (*Mus musculus*) di aklimatisasi di lingkungan laboratorium selama 1 minggu. Mencit

Pada penelitian ini, pemaparan asap rokok menggunakan 3 *smoking chamber* sesuai gambar 4.1. Pemaparan asap rokok pada mencit dilakukan secara individual dengan membakar 2 batang rokok hingga habis. Pemaparan dilakukan sehari sekali pada kelompok perlakuan K2, K3, K4, K5, dan K6.

Menurut Batubara *et al.*, (2013), jumlah rokok kretek lebih dari 1 batang rokok secara signifikan dapat menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*M. musculus*). Sedangkan pemaparan 1 batang rokok kretek menunjukkan hasil yang tidak signifikan dalam menurunkan kualitas spermatozoa mencit. Maka pada penelitian ini menggunakan 2 batang rokok kretek (nikotin: 39 mg, tar: 2.5 mg).

4. Pemberian ekstrak buah jambu biji merah (*Psidium guajava*)

Ekstrak buah jambu biji merah diencerkan sesuai dosis yang sudah ditentukan. Ekstrak diberikan secara oral dengan sonde lambung pada hewan coba dengan volume 0.2 ml, menyesuaikan volume lambung mencit yaitu 0.5 ml. Pemberian ekstrak dilakukan sehari sekali, setelah 30 menit hingga 1 jam diberi paparan asap rokok.



- [illegible]

- g. Sediaan preparat itu kemudian dikering anginkan pada suhu ruang
- h. Diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 dan 1000 kali ditambah minyak emersi.

Morfologi spermatozoa abnormal dapat diketahui dengan menghitung 100 spermatozoa dalam lapang pandang. Analisis morfologi berdasarkan *World Health Organization* (WHO) tahun 2010 pada gambar 2.10. Spermatozoa mencit normal terdiri atas bagian kepala (*caput*) yang bentuknya bengkok seperti kait, bagian tengah (*middle piece*) yang pendek, dan bagian ekor (*cauda*) yang sangat panjang (Astuti, 2009). Adapun rumus persentase morfologi spermatozoa yaitu:

$$\text{Presentase Morfologi Spermatozoa} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Jumlah sperma abnormal

B = Jumlah sperma yang diamati

7. Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data dari hasil pengamatan morfologi spermatozoa setiap kelompok menggunakan tabel seperti dibawah ini :

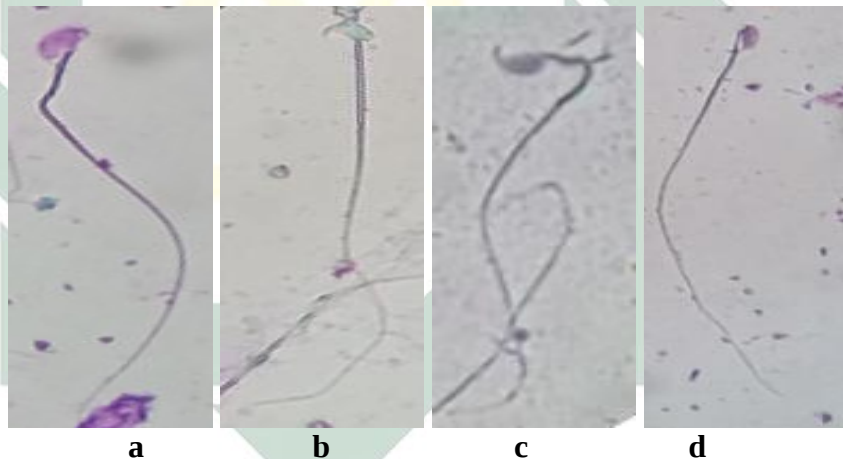
Tabel 4.1. Tabel Rerata Presentase Morfologi Spermatozoa Mencit dengan Pengaruh Ekstrak Buah Jambu Biji yang Terpapar Asap Rokok

Kelompok	Rerata % Morfologi Spermatozoa	P value ANOVA
K1		
K2		
K3		
K4		
K5		
K6		

F. Analisis Data

Data analisis morfologi spermatozoa pada penelitian ini disajikan dalam bentuk analisis kuantitatif. Data yang diperoleh akan diolah dengan menggunakan aplikasi pengolah data SPSS 16.0. Skala data dari variabel bebas (dosis jambu biji merah) berskala interval, sedangkan skala data dari variabel terikat (presentase morfologi spermatozoa) berskala rasio. Jumlah kelompok pada penelitian ini 6 (>2 kelompok). Data pertama kali dilakukan uji prasyarat, yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui data presentase morfologi berdistribusi normal. Sedangkan uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui varian dosis homogen. Apabila data berdistribusi normal dan varians dosis homogen, maka menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok. Namun apabila data menunjukkan tidak berdistribusi normal dan varians data tidak homogen, menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis, sebagai alternatif dari uji *One Way ANOVA*.

2) Kelainan midpiece (leher spermatozoa)



Morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) dengan kelainan midpiece memiliki beberapa karakteristik, diantaranya: a. *bent neck*; leher bengkok, b. *asymmetrically*; sumbu utama midpiece tidak sejajar dengan sumbu utama kepala sperma, c. *thick insertion*; leher tebal, d. *thin insertion*; leher tipis.

Morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) dengan kelainan midpiece memiliki beberapa karakteristik, diantaranya: a. *bent neck*; leher bengkok, b. *asymmetrically*; sumbu utama midpiece tidak sejajar dengan sumbu utama kepala sperma, c. *thick insertion*; leher tebal, d. *thin insertion*; leher tipis.

[illegible][illegible]

[digilib.uinsby.ac.id](#)

[illegible]

digilib.uinsby.ac.id

[digilib.uinsby.ac.id](#)

3. Presentase Morfologi Spermatozoa

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi 100 s masing-masing kelompok didapatkan data present spermatozoa. Kemudian dilakukan uji statistik unt perbedaan pada setiap kelompok. Namun, sebelum uji beda perlu dilakukan uji prasyarat, yaitu uji normalitas dan uji h normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah suatu varia

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi 100 s
masing-masing kelompok didapatkan data present
spermatozoa. Kemudian dilakukan uji statistik unt
perbedaan pada setiap kelompok. Namun, sebelum uji beda
perlu dilakukan uji prasyarat, yaitu uji normalitas dan uji h
normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah suatu varia

Tahap selanjutnya yaitu uji homogenitas, yang memenuhi asumsi analisis varian satu arah, sehingga data homogen. Uji homogenitas ini menggunakan uji On Hasil uji homogen menunjukkan tingkat signifikansi atau



Gambar 5.6. Rerata Presentase Morfologi Spermatozoa Mencit Masing-masing Kelompok
(Sumber: Data primer, 2018)

Berdasarkan gambar 5.6 diatas, menunjukkan bahwa presentase morfologi terendah dari semua kelompok yaitu pada K2 (kontrol -) yang menerima 2 batang rokok/hari (48%). Hal tersebut menunjukkan bahwa asap rokok dapat menyebabkan peningkatan ROS dan menghasilkan spermatozoa yang abnormal. Sedangkan presentase morfologi sperma yang tertinggi pada K5 yang menerima 2 batang rokok/hari dan juga ekstrak buah jambu biji merah dosis 7.5 mg/BB/hari (84%). Kelompok kontrol positif (K1) memiliki presentase morfologi sperma yang normal atau cukup tinggi (76.75%), namun masih dibawah K5. Dari semua kelompok eksperimental tersebut menunjukkan adanya peningkatan morfologi sperma dari K3, K4, dan K5, namun terjadi penurunan yang cukup signifikan pada K6 (55.50%). Penurunan presentase morfologi sperma pada K6 tersebut masih diatas nilai presentase morfologi pada K2 (48%).

Proses pembentukan asap rokok melalui proses hidrogenase, pirolisis, oksidasi, dekarboksilasi, dan dehidrasi. Dari proses tersebut menghasilkan ± 4.000 macam zat dan radikal bebas. Zat karsinogen dan radikal bebas masuk dan bereaksi ke dalam tubuh melalui jalan inhalasi maupun penyerapan kulit. Setelah penetrasi ke dalam tubuh, senyawa eksogen pada asap rokok tersebut terdekomposisi menjadi radikal bebas (Valko *et al.*, 2007).

[illegible]

Sedangkan karbon monoksida (CO) pada asap rokok masuk ke dalam tubuh dan beredar ke aliran darah. CO dapat berikatan maupun menggeser oksigen yang terikat dengan Hb (Hemoglobin) dan membentuk HbCO (*Carboxyhemoglobin*). Hal ini disebabkan karena afinitas CO terhadap Hb ± 210 kali lebih kuat daripada afinitas O₂ terhadap Hb (Slamet, 1996). CO akan dipecah oleh enzim *hemeoxygenase* (HO) yang berada di darah menjadi lingkungan pro-oksidan yang memulai pembentukan ROS (Maneesh dan Jayalekshmi, 2006).

Bentuk ROS (*Reactive Oxygen Species*) dari hasil asap rokok yang paling banyak dalam spermatozoa adalah O_2^- (superoksida), H_2O_2 (hidrogen peroksida) dan OH^- (radikal hidroksil) (Agarwal *et al.*, 2014). Radikal bebas atau oksidan yang melebihi kemampuan penyembuhan antioksidan dalam sel akan menyebabkan stres oksidatif. Situasi ini dapat menyebabkan kerusakan sel sebagai hasil dari dekomposisi molekul penting seperti DNA, protein, dan

lipid (Sutanto *et al.*, 2017). Laporan terbaru memberikan bukti untuk mendukung bahwa 20-88% dari pria subfertil memiliki kehadiran ROS yang tinggi dalam semen (Agarwal *et al.*, 2014).

Terjadinya stress oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid yang berlebihan pada membran plasma. Membran plasma sperma sebagian besar terdiri dari PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang rentan terhadap dampak ROS. Peroksidasi lipid dalam membran plasma spermatozoa akan mengakibatkan kebocoran dalam struktur membran (seluler dan organel) dan mengakibatkan gangguan fungsi pada sel (proses transportasi, pengaturan ion dan metabolit, dan juga sinyal transduksi oleh reseptor). Kondisi ini menyebabkan ATP intraseluler menghilang dengan cepat, menyebabkan kerusakan pada akson, kerusakan DNA dan apoptosis sel pada spermatozoa, sehingga mengakibatkan morfologi spermatozoa menjadi abnormal dan penurunan motilitas sperma (Sutanto *et al.*, 2017).

Peroksidasi lipid dapat merusak membran sel dan lipoprotein dan mengarah pada pembentukan malondialdehyde (MDA) yang sitotoksik dan mutagenik. Peroksidasi lipid terjadi oleh reaksi berantai radikal. Begitu dimulai, ia menyebar dengan cepat dan mempengaruhi sejumlah besar molekul lipid (Halliwell, 2007; dan Valko *et al.*, 2007). Sedangkan interaksi ROS dengan basa pada DNA dapat merubah struktur kimia DNA. Apabila tidak direparasi, maka akan mengalami mutasi yang dapat diturunkan karena terjadi pada sel germinal. Integritas DNA sperma sangat penting untuk menghasilkan

morfologi spermatozoa yang normal (teratospermia) (de Rooij dan Russell, 2000; Mahmoud, 2012; Menezo *et al.*, 2010; Simhadri *et al.*, 2014).

Aktivitas radikal bebas di dalam tubuh diimbangi dengan mekanisme pertahanan endogen dengan memproduksi antioksidan enzimatik endogen, diantaranya superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPX) (Agarwal *et al.*, 2005). SOD berfungsi dalam mengkatalisis pemecahan superoksida menjadi oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) mengkatalisis reaksi dismutasi (Zelko *et al.*, 2002). SOD hadir di hampir semua sel aerobik dan cairan ekstraseluler, dan mengandung ion-ion logam seperti, Zn, Mn, Cu, atau Fe (Johnson and Giulivi, 2005).

Sedangkan antioksidan katalase berfungsi untuk bereaksi dengan hidrogen peroksida. Katalase dapat menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam reaksi yang dikatalisis. Satu molekul katalase dapat mengubah jutaan molekul hidrogen peroksida menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) per detik (Berg *et al.*, 2002; dan Valko *et al.*, 2007). Hidrogen peroksida adalah satu-satunya substrat dari katalase. Hidrogen peroksida berfungsi sebagai substrat yang dapat menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif, katalase diyakini berperan dalam mekanisme pertahanan antioksidan seluler dengan membatasi akumulasi H_2O_2 (Ho *et al.*, 2004). Selain katalase, glutathion peroxidase juga merupakan enzim yang dapat mengkatalisis pemecahan hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroperoksida organik menjadi air (H_2O) (Sharma *et al.*, 2004).

Kebiasaan setan adalah selalu kufur terhadap nikmat Tuhan. Demikian pula kawannya, akan sama seperti setan.

Berdasarkan gambar 5.6 menunjukkan presentase morfologi sperma yang tertinggi yaitu pada K5 dengan pemberian paparan asap rokok 2 batang/hari dan dosis ekstrak 7.5 mg/BB/hari. Hal itu menunjukkan dosis ekstrak 7.5 mg/BB/hari mampu menangkal efek radikal bebas dari asap rokok dengan adanya kandungan antioksidan di dalamnya. Antioksidan yang terkandung dalam buah jambu biji (*Psidium guajava*) diantaranya, likopen dan vitamin C, serta ion logam seperti Fe, Zn, Mn dan Cu yang dapat memberikan pengaruh positif pada SOD. Berdasarkan tingginya kandungan antioksidan pada ekstrak, hasil menunjukkan terdapat peningkatan presentase morfologi sperma seiring dengan penambahan dosis ekstrak. Hal ini membuktikan bahwa antioksidan pada ekstrak buah jambu biji salah satunya yaitu likopen dapat mengurangi maupun menangkal dampak dari asap rokok. Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa terdapat efek positif yang signifikan dari suplementasi likopen pada air minum yang dapat meningkatkan produksi semen, volume, jumlah spermatozoa, dan morfologi spermatozoa normal pada unggas (ayam jantan domestik) (Mangiagalli *et al.*, 2007).

Uysal dan Bucak (2007), melaporkan bahwa penambahan likopen ke media kultur untuk semen biri-biri mencegah efek merusak yang khas pada indikator spermatologis termasuk penurunan motilitas, kelainan morfologi sperma, kerusakan akrosom dan sperma mati. Selain itu, penambahan likopen

pada ekstender kriopreservasi pada sperma kalkun secara *in vitro*, menunjukkan adanya peningkatan kualitas sperma, ketahanan osmotik spermatozoa dingin, dan melindungi integritas DNA spermatozoa beku mirip dengan spermatozoa segar. Padahal umumnya kualitas sperma terganggu setelah penyimpanan, terutama pasca pembekuan (Mangiagalli *et al.*, 2012). Efek menguntungkan tersebut dikaitkan dengan kapasitas dari likopen untuk mengurangi peroksidasi lipid sperma selama penyimpanan atau kriopreservasi. Kultur *in vitro* secara bertahap mengurangi metabolisme sperma dan menginduksi perubahan yang tidak dapat diubah yang menyebabkan kerusakan aksonemal, yang kemudian diikuti oleh penurunan parameter motilitas dan potensi membran mitokondria yang berhubungan dengan penurunan ATP (De Lamirande dan Gagnon, 1992; Cummins *et al.*, 1994).

Secara mekanisme likopen bertindak dengan menyumbangkan elektronnya untuk membebaskan radikal oksigen sehingga memadamkan dan menetralkan mereka sebelum merusak sel (Kelkel *et al.*, 2011). Likopen merupakan pemadam oksigen singlet ampuh (Rao dan Rao 2007). Sehingga likopen berperan dalam mencegah terjadinya stres oksidatif. Pemberian likopen secara *in vitro* pada kriopreservasi juga menunjukkan adanya penurunan yang signifikan dari pembentukan ROS jenis superoksida (H_2O_2) (Tvrdá *et al.*, 2016).

Dalam penelitian sebelumnya, likopen menunjukkan memiliki kemampuan untuk mengurangi produksi superoksida oleh spermatozoa, jumlah lipid peroksidasi dan fragmentasi DNA oksidatif, sebagai biomarker

Studi sebelumnya pada manusia menunjukkan bahwa kadar asam askorbat rendah pada serum seminal dikaitkan dengan peningkatan aglutinasi sperma, abnormalitas morfologi, penurunan jumlah dan motilitas, serta kerusakan oksidatif pada deoksiribonukleat sperma (DNA) (Wilson, 1954; Kupperman dan Epstein, 1958; Harris *et al.*, 1979; dan Fraga *et al.*, 1991).

Beberapa laporan telah menunjukkan bahwa merokok berat pada pria (20 batang per hari) dikaitkan dengan penurunan 20% hingga 40% dalam tingkat serum asam askorbat (Smith, 1989), serta jumlah sperma berkurang dan motilitas dan meningkatkan kelainan sperma (Shaarawy dan Mahmoud, 1982; Kulikauskas *et al.*, 1985; dan Evans *et al.*, 1981).

Plasma seminal mengandung zat yang disebut "aglutinin sperma nonspesifik" yang terdiri dari protein berukuran sedang, monosakarida, dan beberapa kelompok sulfhidril aktif. Molekul tersebut ada dalam bentuk tereduksi atau teroksidasi. Kelompok-kelompok reduksi sulfhidril melekat pada permukaan kepala sperma, membentuk lapisan molekuler, dengan residu protein ekstrusi yang meningkatkan luas permukaan dan mencegah aglutinasi (Lindahl dan Kihlstrom, 1954a dan b). Ketiadaan aglutinin sperma nonspesifik dalam plasma seminal atau kejadiannya dalam bentuk teroksidasi yang disebabkan oleh ROS akan menyebabkan kurangnya lapisan sperma dan menyebabkan aglutinasi. Kandungan asam askorbat dari plasma seminal mengurangi terjadinya aglutinin dengan transfer atom hidrogen dan memastikan lapisan molekul dari kepala sperma. Asam askorbat juga melindungi sperma dengan mengurangi oksidan reaktif lainnya.

Peran lain dari asam askorbat berada di epitel lapisan germinal dan kauda epididimis, di mana terjadi pematangan sperma. Asam askorbat melindungi DNA pada lapisan epitel germinal dan kapasitas fungsional epitel kauda epididimis dengan mengurangi oksidan reaktif. Kerusakan jaringan pada

lapisan germinal diindikasikan oleh peningkatan morfologi sperma abnormal (terutama kepala yang membawa gen (Evans, 1981).

Selain likopen dan vitamin C sebagai antioksidan, kandungan ion logam pada ekstrak memberikan efek positif dengan menjadi kofaktor pada SOD. Peran kofaktor yaitu membantu dalam transformasi biokimia. Terdapat tiga macam SOD dengan kofaktor yang berbeda, diantaranya Mn-SOD yang berada di mitokondria dan peroksisom, Fe-SOD yang berada di peroksisom, dan CuZn-SOD yang berada di sitosol, dan peroksisom (Johnson dan Giulivi, 2005).

Berdasarkan gambar 5.5 yang menunjukkan bahwa terdapat penurunan presentase morfologi pada K6 dengan pemaparan 2 batang rokok/hari dan suplementasi ekstrak dosis 10 mg/BB/hari. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Ayub *et al.*, (2010), tentang pengaruh buah jambu biji merah terhadap hipertensi tikus (*Rattus norvegicus*) menghasilkan dosis 5 mg/BB/hari merupakan dosis yang optimal dalam menurunkan hipertensi. Namun pada dosis 10 mg/BB/hari menunjukkan adanya penurunan efek anti-hipertensi pada tikus. Hal ini dimungkinkan terdapat senyawa ekstrak yang diduga toksik pada spermatozoa maupun mengakibatkan gangguan dalam spermatogenesis.

Senyawa likopen yang menunjukkan adanya efek positif pada spermatozoa, pada penelitian sebelumnya melaporkan bahwa meskipun konsentrasi likopen tertinggi diterapkan (3200 µg/mL, atau setara dengan sekitar 6 µM/L) menunjukkan tidak adanya efek toksik utama pada motilitas, integritas membran, viabilitas, dan morfologi spermatozoa biri-biri selama *in vitro* (Tvrda *et al.*, 2016).

[illegible]

Artinya:

Menurut Ahmad (1958 M/1379 H), dalam kitab Fathul Bari Syarah Shahih Bukhari, menjelaskan bahwa penciptaan penyakit oleh Allah juga disertai dengan penciptaan obatnya. Namun terdapat beberapa obat yang tidak diketahui, dimana hal itu membuktikan adanya alasan yang tidak bertentangan dengan kepercayaan bagi mereka yang berfikir untuk mencari, mempelajari di jalan yang benar. Penyembuhan penyakit juga dibutuhkan keyakinan pada obat yang Insya Allah akan berbalik melawan penyakit itu. Maka dari itu tentulah memilih obat yang tidak bertentangan dengan kepercayaan, karena obat itu sendiri memiliki pembatasan kehalalannya, serta berdo'a mencari perlindungan menangkal bahaya yang akan datang lebih banyak. Dokter biasanya mengatakan tidak ada obat yang dapat menyembuhkannya, dan mengakui ketidakmampuan untuk menyembuhkan penyakit tertentu. Namun itu adalah tentang ketidaktahuannya.

[illegible]

Kemudian juga terdapat hadits dari Imam Muslim ‘merekam’ sebuah hadits dari Jabir bin ‘Abdullah radhiyyallahu ‘anhu, dar Rasulullah SAW beliau bersabda:

Artinya: “Setiap penyakit ada obatnya. Apabila obat itu tepat untuk suatu penyakit, penyakit itu akan sembuh dengan seizin Allah ‘Azza wa Jalla.” (HR. Imam Muslim. vol 14: hal 191) (Al-Nawawi, 1971).

[illegible]

Berdasarkan hadits dan tafsir di atas, menunjukkan bahwa setiap penyakit dari Allah seperti infertilitas (ketidaksuburan) yang disebabkan karena adanya paparan asap rokok, Allah juga pasti telah menciptakan penawarnya. Dalam mengetahui penawarnya tersebut sebagai manusia yang berfikir, dengan adanya penelitian ini menunjukkan penemuan terhadap ilmu Allah. Hasil penelitian ini (gambar 5.6) menunjukkan bahwa buah jambu biji merah (*Psidium guajava*) mampu meredam radikal bebas yang dihasilkan dari asap rokok samping (*sidestream smoke*) dengan kandungan antioksidan yang dikandungnya. Bukan hanya meminimalisir terjadinya infertilitas, berdasarkan gambar 5.7 menunjukkan bahwa buah jambu biji dengan dosis 7.5 mg/BB/hari dapat menyembuhkan infertilitas (ketidaksuburan) menjadi fertile (subur) kembali. Sehingga jambu biji dengan dosis 7.5 mg/BB/hari dianggap tepat sebagai penawar infertilitas.

[illegible]

BAB VI

PENUTUP

A. Simpulan

1. Pada penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh signifikan ekstrak buah jambu biji merah (*Psidium guajava*) terhadap morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok dengan nilai $p\text{ value} = 0.00$ ($p < 0.05$).
2. Dosis ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava*) yang paling optimal dalam menurunkan presentase morfologi abnormal spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok adalah 7.5 mg/BB/hari

B. Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batas dosis yang bersifat toksik
2. Pada perokok ringan maupun berat serta perokok pasif disarankan untuk mengonsumsi sumber antioksidan alami seperti buah jambu biji merah dengan dosis 7.5 mg/BB/hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiani, F.N. 2016. Pengaruh Perbandingan Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Dengan Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) Dan Jenis Jambu Biji Terhadap Karakteristik Jus. *Skripsi*. Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Bandung.
- Agarwal, A., and Lucky H. Sekhon. 2010. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Iranian Journal of Human Fertility*. 13(4): 217–225.
- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., and S.S. du Plessis. 2014. Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *World J Mens Health*. 32: 1-17
- Ahmad bin Ali bin Hajr Abu Fadhl Al-‘Asqolani Al- Syafi’i. 1958. *Fathul Bari Syarah Shahih Bukhari*. (Bayyut: Dad al- Ma’rifah 1379 H). 10: 135-136
- Aina, N. 2005. Pengaruh paparan asap rokok terhadap spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) galur Swiss. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Sebelas Maret, Solo.
- Al-Jedah, J.H., and R.K. Robinso. 2002. Nutritional value and microbiological safety of fresh fruit juices sold through retail outlets in Qatar. *Pakistan Journal of Nutrition*. 1(2): 79–81.
- Al-Makhzoomi, A., Lundeheim, N., Haard, M., and H. Rodriguez-Martinez. 2008. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI dairy bulls in Sweden. *Journal of Theriogenology*. 70: 682-691.
- Al- Nawawi, A.Z. 1971. *Al Manjaj Syarah Shahih Muslim Ibn al-Hajjaj*. (Bayyut: Dar Ihya’ al Turath al-‘Arabi 1392 H). 14: 191.
- Al-Sadhan, Abdullah. 2009. Cara Pengobatan dengan Al-Qur’an. https://d1.islamhouse.com/data/id/ih_books/single/id_cara_pengobatan_dengan_quran.pdf. Diakses pada 7 Juli 2018.
- Akbar, B., 2010. Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Infertilitas. Adibia Press, UIN Jakarta.
- Alothman, M., Bhat, R., and A.A. Karim. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Journal of Food Chemistry*. 115:785–788.
- Aly, H.A., El Beshbishy, H.A., and Z.M. Banjar. 2012. Mitochondrial dysfunction induced impairment of spermatogenesis in LPS treated rats: Modulatory role of lycopene. *European Journal of Pharmacology*. 677: 31-38.

- American Center for Reproductive Medicine. 2008. Oxidative Stress and Male Infertility.
- Anita, N. 2004. Perubahan Sebaran Stadia Epitel Seminiferus, Penurunan Jumlah Sel-sel Spermatogenik dan Kadar Hormon Testosteron Total Mencit (*Mus musculus* L.) Galur DDY yang Diberi Asap Rokok Kretek. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Depok.
- Ansel, H. C., and, S. J. Prince. 2004. *Kalkulasi Farmasetik*. Jakarta: EGC
- Arrington, L.R. 1972. Introductory Laboratory Animal. The Breeding, Care and Management of Experimental Animal Science. The Interstate Printers and Publishing Inc., New York.
- Atessahin, A., Karahan, I., Turk, G., Gur, S., Yilmaz, S., and A.O. Ceribasi. 2006a. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm. *Reproductive Toxicology*. 21: 42-47.
- Atessahin, A., Turk, G., Karahan, I., Yilmaz, S., Ceribasi, A.O., and O. Bulmus. 2006b. Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. *Fertility and Sterility*. 85: 1216-1222.
- Ax, R.L., Dally, M., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez, B., and M.E. Bellin. 2000. *Semen Evaluation*. In *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. B. Hafez and E.S.E. Hafez (Eds). Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI. 2014. *Indeks Pembangunan Kesehatan Masyarakat*. ISBN 978-602-0936-19-2. Jakarta.
- Bachtiar, Z., 2010. Opini Masyarakat Pasca-Pemberitaan Berlakunya Perda Antirokok di Surabaya. *Harian Jawa Pos*.
- Batubara, I.V.D., Wantouw, B., L. Tendean., 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado
- Barth, A.D. 1989. Abaxial Tail Attachment of Bovine Spermatozoa and Its Effect on Fertility. *Can Vet J*. 30: 656-662
- Barth, A.D., and R.J. Oko. 1989. *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa States University Press, Iowa.
- Barth, A.D., Bowman, P.A., Bo, G.A., and R.J. Mapletoft. 1992. Effect of narrow sperm head shape on fertility in cattle. *Can Vet J*. 33:31-39

- Bender, D.A. 2009. *Free Radicals and Antioxidant Nutrients* (Eds). In Murray K, Bender DA, Botham KM, *et al.* Harper's Illustrated Biochemistry (ed 28th) Mc Graw Hill Lange. 482-86.
- Benowitz, N.L., Jacob, P., Kozlowski, L.T., Yu L. 2006. Influence of smoking fewer cigarettes on exposure to tar, nicotine, and carbon monoxide. *N Engl J Med.* 315:1310-3.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., and L. Stryer. 2002. *Biochemistry, 5th ed.* Freeman WH and Co. New York. pp: 205-206.
- Chapman, N.A., Reece, J.B., and L.G. Mitchell. 2004. *Biologi*. Terjemah dari *Biology* oleh W. Manalu. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Chenoweth, P.J., 2005. Genetic Sperm Defect. *J. Theriogenology.* 64:511-528
- Chia, S.E., Xu, B., Ong, C.N., Tsakok, F.M., and S.T. Lee. 1994. Effect of cadmium and cigarette smoking on human semen quality. *Journal of Fertility Menopausal Study.* 39:292-8.
- Cita, I. 2006. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Jumlah Spermatozoa pada Mencit Jantan Strain balb/c yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Skripsi.* Universitas Diponegoro, Semarang.
- Claudia, V., Edwin, de Q., dan L. Tendean. 2013. Perbedaan Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (Mus Musculus L) Yang Diberikan Vitamin C Setelah Pemaparan Asap Rokok. *Skripsi.* Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Colagar, A.H., Jorsaraee, G.A., and E.T. Marzony. 2007. Cigarette smoking and the risk of male infertility. *Journal of Biology Science.* 10: 3870-4.
- Cummins, J.M., Jequier, A.M., and R. Kan. 1994. Molecular biology of the human male infertility: links with aging, mitochondrial genetics and oxidative stress. *Molecular Reproduction and Development.* 37: 345-362.
- Cyrus, A., Kabir, A., Goodarzi, D., and M. Moghimi. 2015. The Effect of Adjuvant Vitamin C After Varicocele Surgery on Sperm Quality and Quantity in Infertile Men: a Double Blind Placebo Controlled Clinical Trial. *International Brazil journal Urology.* 41: 230-8
- Dada, R., Gupta, N.P., K. Kucheria. 2001. Deterioration of sperm morphology in men exposed to high temperature. *J. Anat Soc India.* 50: 107-111

- Diarti, W.M., Tatontos, E.Y., A. Turmuji. 2016. Larutan pengencer Alternatif NaCl 0.9% dalam pengecatan giemsa pada pemeriksaan morfologi spermatozoa. *Jurnal Kesehatan Prima*. 10(2): 1709-1716.
- De Lamirande, E., and C. Gagnon. 1992. Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *Journal of Andrology*. 13: 368-378.
- de Rooij, D.G., and L.D. Russel. 2000. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *J. Androl*. 21: 776-798.
- Dewoto H.R., dan Wardhini, S. 2007. *Antianemia Defisiensi dan Eritropoietin dalam Farmakologi dan Terapi (edisi 5)*. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Percetakan Gaya Baru, Jakarta.
- Durairajanayagam, D., Agarwal, A., Ong, C., and P. Prashast. 2014. Lycopene and Male Infertility. *Asian Journal of Andrology*. 16: 420–425.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Review Journal Physiol. Rev*. 82: 47-95.
- Evans, H.J., Fletcher, J., Torrance, M., and T.B. Hargreave. 1981. Sperm abnormalities and cigarette smoking. *Lancet* 1981;1:627-9
- Fatmawati, D., Isradji I., Yusuf I., dan Suparmi. 2016. Kualitas Spermatozoa Mencit Balb/C Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Buah Kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Jurnal dari Universitas Islam Sultan Agung*. 48: No.3
- Ferial, E.W., dan A. Muchlis. 2013. Kajian Pemeriksaan Makroskopik Spermatozoa Manusia melalui Pemberian Nutrisi Kerang Darah (*Anadara granosa* L.). *Jurnal dari Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Hasanuddin*. Volume 2: No. 1
- Fraga, C.G., Motchnik, P.A., Shigenaga, M.K., Helbock, H.J., Jacob, R.A., and Ames B.N. 1991. Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Nat Acad Sci USA*. 88:11003-6
- Freeman, B.A., and J.D. Crapo. 1982. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Journal of technical methods and pathology*. 47 : 412-26.
- GATS (Global Adult Tobacco Survey) Indonesia. 2011. *Global Adult Tobacco Survey: Indonesia Report 2011*. ISBN 978-92-9022-424-2. Jakarta.
- Hafez, E.S.E. dan B. Hafez. 2000. *Reproduction in farm animals*. 7th Ed. Lippicott Williams and Wilkins: Baltimore.

- Halliwell, B. 2007. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 35: 1147-50.
- Hamilton, J.W. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Dimer Isoeugenol secara Oral Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Jantan Galur DDY. *Skripsi*. Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.
- Hammond, D., Fong, G.T., Cummings, K.M., O'Connor, R.J., Giovino, G.A., and A. McNeill. 2006. Cigarette yields and human exposure: a comparison of alternative testing regimens. *Journal of Cancer Epidemiol Biomarkers Preview.* 1495-501.
- Harris, W.A., Harden, T.E., and E.B. Dawson. 1979. Apparent effect of ascorbic acid medication on semen metal levels. *Fertil Steril.* 32:455-9.
- Hartini, Dian. 2016. Karakterisasi Simplasia dan Standarisasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Thesis*. Universitas Muhammadiyah, Purwokerto.
- Hemwimon, S., Pavasant, P., and A. Shotipruk. 2007. *Microwave-Assisted Extraction Of Antioxidative Anthraquinones From Roots Of Morinda Citrifolia*. *Separ Purif Tech* 54:44–50.
- Ho, Y.S., Xiong, Y., Ma, W., Spector, A., and D.S. Ho. 2004. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *J Biol Chem.* 279: 32804-32812.
- Inoue, T., Hayashi, M., Takayanagi, K., and S. Marooka. 2003. Oxidative DNA Damage is Induce by Chronic Cigarette Smoking, but Repaired by Abstention. *Journal of Health Science.* 49: 217-220
- Iriandini, J., Tendean, L., B. Wantouw. 2012. Pengaruh Aplikasi Cahaya Terhadap Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus L.*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)* dari Universitas Sam Ratulangi Manado. Volume 1, Nomor 1.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis Retrofracti Fructus*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Jimenez-Escriq, A., Rincon, M., Pulido, R., and F. Saura-Calixto. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava L.*) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural Food Chemistry.* 49: 5489–93.
- Johnson, M.H., and B.J. Everitt. 2007. *Essential Reproduction* (Edisi 6). Oxford: Blackwell.

- Johnson, F., and Giulivi, C. 2005. Superoxide dismutases and their impact upon human health. *J. Mol Aspects Med.* 26 (4-5): 340-52.
- José, L.S.B. and del S.S.S. María. 2013. Antioxidant Role of Ascorbic Acid and His Protective Effects on Chronic Diseases. <http://dx.doi.org/10.5772/52181>. Diakses pada 14 November 2017.
- Julahir, H.S. 2009. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Jumlah Sel Leydig dan Jumlah Sperma Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus*, L.) yang Dipapari Monosodium Glutamate (MSG). *Tesis*. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Jusoh, K. 2010. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava (*Psidium guajava* L.): Effect of Extraction Techniques and Solvents. *Article of Food Analytical Methods*. 4:100-107
- Kelkel, M., Schumacher, M., Dicato, M. and M. Diederich. 2011. Antioxidant and anti-proliferative properties of lycopene. *Free Radical Research*. 45: 925–940.
- Kong, K.W., Rajab, N.F., Prasad, K.N., Ismail, A., Markom, M., end C.P. Tan. 2010. Lycopene-rich fractions derived from pink guava by-product and their potential activity towards hydrogen peroxide-induced cellular and DNA damage. *Journal of Food Chemistry*. 123: 1142–48.
- Kuehnlel. 2003. Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy.
- Kulikauskas, V., Blaustein, D., and R.J. Ablin. 1985. Cigarette smoking and its possible effects on sperm. *Fertil Steril*. 44: 526-8
- Kuntana, Y.P., Madihah. 2013. Penuntun Praktikum Perkembangan Hewan. Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran.
- Kupperman, H.S., and J.A. 1958. Epstein. Endocrine therapy of sterility. *Am Pract Dig Treat*. 9:547-63
- Kusuma, A. R. P. 2012., *Pengaruh Merokok Terhadap Kesehatan Gigi Dan Rongga Mulut*. Majalah dari Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gajah Mada Press, Yogyakarta.
- Krinsky, N.I. 1992. Mechanism of action of biological antioxidants. *Journal of Society of Experimental Biology and Madicine*. 200 : 248-54.

- Lindahl, P.E., J.E. Kihlstrom. 1954a. A constituent of male sperm anti agglutinin related to vitamin E. *Journal of Nature*. 174: 600-1
- Lindahl, P.E., and E. Kihlstrom. 1954b. An antiagglutinin factor in mammalian sperm plasma. *Journal of Fertil Steril*. 5: 241-55
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and N. Chandra. 2010. Free Radicals, Antioxidants and functional Foods: Impact on Human Health. *Journal From Department of Botany, Birla College, Kalyan, Maharastra, India*. 421
- Lovell, M.A., Ehmann, W.D., Buffer, B.M., W.R. Markesberry. 1995. Elevated thiobarbituric acid reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzemers disease. *Journal of Neurology*. 45:1594 - 1601.
- Mahmoud, H. 2012. Concise review: spermatogenesis in an artificial three-dimensional system. *Stem cells*. 30: 2355-2360.
- Maneesh, M., and H. Jayalekshmi. 2006. Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidant on Pathophysiology of Male Reproduction. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 21: 80-89
- Mangiagalli, M.G., Cerolini, S., Cesari, V., and F. Luzi. 2012. Effect Of Lycopene Supplementation On Semen Quality And Reproductive Performance In Rabbit. *J. World Rabbit Sci*. 20: 142-148
- Mangiagalli, M.G., Martino, P.A., Smajlovic, T., Guidobono, C.L., and S.P. Marelli. 2010. Effect of Lycopene on Semen Quality, Fertility and Native Immunity of Broiler Breeder. *Brit. Poultry Sci*. 51: 152-157
- Markham, R.K. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB Press, Bandung.
- Menezo, Y., Dale, B., and M. Cohen. 2010. DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review. *Journal of Zygote*. 18: 357-365.
- Menkveld, R., Rhemrev, J.P.T., and D.R. Franken. 2001. *Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis*: relation with acrosin activity, morphology (strict criteria) and fertilization in vitro.
- Merino, G., Lira, S.C., and J.C. Martinez-Chequer. 1998. Effects of cigarette smoking on semen characteristics of a population in Mexico. *Arch Androl*. 41: 11-15.
- Morrell, J. M., Johannisson, A., Dalin, A. M., Hammar, L., Sandebert, T., and H. Rodriguez-Martinez. 2008. Sperm morphology and chromatin integrity in Swedish warmblood stallions and their relationship to pregnancy rates. *Acta Vet. Scand*. 50: 1-7.

- Mortimer, D., Menkveld, R. 2001. Sperm Morphology Assessment: Historical Perspectives and Current Opinions. *Journal of Andrology*. 22: 192-205.
- Mostafa, T. 2010. Cigarette smoking and male infertility. *Journal of Advance Research*. 1: 179-18
- Mukhriani, Y. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367.
- National Institute of Nutrition (Indian Council of Medical Research) Hyderabad. 2007. India.
- Nugraheni, T. 2003. Pengaruh Vitamin C Terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Ochtavia, S., Hamidah., dan Junairiah. 2014. *Biosistematika Varietas pada Jambu Biji (Psidium guajava L.) melalui Pendekatan Morfologi di Agrowisata Bhakti Alam Nongkojajar, Pasuruan. Paper*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Padayatty, S., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., and J. Lee. 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*. 22:18-35.
- Padula, M., and Rodriguez-Amaya, D.B. 1986. Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). *Journal of Food Chemistry*. 20: 11-19.
- Paiva, S.A., and R.M. Russel. 1999. Beta Carotene and other Carotenoids as Antioxidant. *Journal of the American College of Nutrition*. 18: 426-33.
- Pant, N., Kumar, G., Upadhyay, A.D., Gupta, Y.K., and P.K. Chaturvedi. 2015. Correlation between lead and cadmium concentration and semen quality. *Journal of Andrology*. 47:887-91.
- Parimin, F.R., dan, I.M. Budi. 2005. Buah Merah. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Parimin. 2005. Jambu Biji. Budi Daya dan Ragam Pemanfaatannya. Penerbar Swadaya, Jakarta.
- Pham-Huy, L.A., He, H., and C. Pham-Huy. 2008. Free Radical, Antioxidants in Disease and Health. *Int Journal Biomed Sci*. 4 (2): 89-96.

- Peraturan Pemerintah RI, No. 109 .2012. Pengamanan Bahan yang Mengandung Zat Adiktif berupa Produk Tembakau bagi Kesehatan.
- Raghuvanshi, P., Priyanka, M., Ruchisha, S., and P. Bhatnagar. 2012. Evaluation of the Changes in Sperm Morphology, Sperm Count and Gonadotrophic Ratio of Swiss Albino Male Mice Fed Continuously With Microwave Exposed Food. *Journal of Advances in Bioresarch*. 3: 95 – 99.
- Rahardhianto, A., Abdulgani, N., dan N. Trisyani. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Viabilitas dan Motilitas Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains Dan Seni*. ISSN: 2301-928X
- Rao, A.V., and S. Agarwal. 1999. Role of Lycopene as Antioxidant Carotenoid in the Prevention of Chronic Diseases: a review. *Journal of Nutrition Research*. 19: 305-323.
- Rao, A.V., Ray, M.R., and L.G. Rao. 2006. Lycopene. *Journal of Advances in Food Nutrition Research*. 51: 99–164.
- Rao, A. V., dan L.G. Rao. 2007. Carotenoids and Human Health. *Journal of Pharmacological Reseach*. 55: 207-216.
- Rasgele, P.G. 2014. Abnormal Sperm Morphology in Mouse Germ Cell After Short-Term Exposures to Acetamiprid, Propineb, and their Mixture. *Journal of Toksikologi*. 65: 47-56.
- Riccioni, G., Mancini, B., Di Ilio, E., Bucciarelli, T., N. and D’Orazio. 2008. Protective effect of lycopene in cardiovascular disease. *European Review Journal Medical Pharmacological Sciences*. 12: 183–90.
- Richthoff, J., Elzanaty, S., Rylander, L., Hagmar, L., and A. Giwercman. 2008. Association between tobacco exposure and reproductive parameters in adolescent males. *Int Journal Andrology*. 31: 31-9.
- Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar). 2007. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI Tahun 2013*.
- Rissanen, T., Voutilainen, S., Nyyssonen, K., and J.T. Salonen. 2002. Lycopene, atherosclerosis, and coronary heart disease. *Journal of Experimental Biology and Medicine*. 227: 900–7.
- Rodriguez-Amaya, D.B. 1999. Latin American food sources of carotenoids. *Journal of Archivos Latinoamericanos de Nutrutricion*. 49: 74S–84S.

- Rowe, P.J, Frank, H.C., Timothy, B.H., and M.A.M. Ahmed. 2000. *WHO Manual for the standardized Investigation, Diagnosis and Management of the Infertile Male*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its reproduction and developmental*. Burgess Publishing Company, Minneapolis. iv + 430 hal
- Saleh, R.A., Agarwal, A., Sharma, R.K., Nelson, D.R., and A.J.Jr. Thomas. 2002. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Journal of Fertil and Steril*;78:491-9.
- Sari, W., and E.K. Fitriani. 2010. The Effect Of Cigarettes Smoke Exposed Causes Fertility of Male Mice (*Mus musculus*). *Journal Natural*. 2:1-6
- Sarkar, P.D., Gupt, T., and A. Sahu. 2012. Comparative analysis of lycopene in oxidative stress. *Journal of the Association of Physicians of India*. 60: 17-19.
- Sayuti, K. 2015. Antioksidan alami dan sintetik. Andalas University Press. Padang
- Shaarawy, M., and K.Z. Mahmoud. 1982. Endocrine profile and semen characteristics in male smokers. *Fertil Steril*. 38:255-87
- Sharma, R., Yang, Y., Sharma, A., Awasthi, S., and Y. Awasthi. 2004. Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxid Redox Signal*. 6 (2): 289-300.
- Somwanshi, S.D., Madole, M.B., Bikkad, M.D., Bhavthakar, S.S., and G.B.S. Ajay. 2012. Effect of Cigarette Smoking on Sperm Count and Sperm Motility. *Journal of Medical Education & Research*. 1: 30-38
- Setijono, M.M. 1985. Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Percobaan. *Skripsi*. Institut Petanian Bogor.
- Sherman, J., and M.D. Silber. 1989. Role of Epididymis in Sperm Maturation. *Journal of Urology*. 33: 1
- Shi, J., and M. Le Mageur. 2000. Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. *Journal of Critical Review in Biotechnology*. 20: 293-334.
- Sidhu, J.S. 2006. *Tropical fruits: Guava, lychee, and papaya*. In: Hui YH, Barta J, Cano MP, Sidhu JS, Sinha NK., editors. *Handbook of Fruits and Fruit Processing*. Ames, IA: Blackwell. p 597–634.
- Simhadri, S., Peterson, S., Patel, D., Huo, Y., Cai H., Bowman-Colin, C., Miller, S., Ludwig, T., Ganesan, S., Bhaumik, M., Bunting, S., Jasin, M., Xia, B.

2014. Male infertility defect associated with disrupted BRCA1-PALB2 interaction in mice. *J. Biol. Chem.* 289: 24617-14629.
- Smith, B.J. dan S. Mangkoewidjojo. 1989. *Pemeliharaan pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Suciati, T., Ismono, D., dan J. Iwan. 2010. Pengaruh Likopen terhadap Gambaran Tubulus Seminiferus dan Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus* L) yang Terpapar Asap Rokok. *Paper*. Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang.
- Stahl, W., Schawarz, W., Sundquist, A.R., and H. Sies. 1992. cis-trans Isomers of Lycopene and b-carotene in Human Serum and Tissues. *Journal of Archives of Biochemistry and Biophysics*. 294: 173-7.
- Sutanto, E.B., Taufiq, R., Nasihun., Isradji, I., L.B. Sutanto. 2017. The Effect of Vitamin C and E Combination on Sperm Quality and Cytosolic 8-OHdG Level of Smoke Exposed Rats. *World Nutrition Journal*. 1(1): 28-33.
- Shihab, Q. *Tafsir al-Misbah*. <https://risalahmuslim.id/quran/al-araaf/7-157/>. Diakses pada tanggal 10 Juli 2018.
- Tetebano, R. 2011. Rancangan Percobaan Racun Sianida Pada Mencit. <http://raslytetebano.files.wordpress.com/2011/01/mencit3.jpg>. Diakses pada 08 Desember 2017.
- Trigiyatno, A. 2011. Fatwa Hukum Merokok dalam Perspektif MUI dan Muhammadiyah. *Jurnal STAIN, Pekalongan*. 8(1): 57-76.
- Trummer, H., Habermann, H., Haas, J., and K. Pummer. 2002. The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Journal of Human Reproduction*. 17:1554-9.
- Tvrda, E., Kovacic, A., Tusimova, E., Massanyi, P., and N. Lukac. 2015. Resveratrol offers protection to oxidative stress induced by ferrous ascorbate in bovine spermatozoa. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 50: 1440-14451.
- United States Dept of Agriculture (USDA). 2009. National Nutrient Database for Standard. Release 22. http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl. Diakses pada 12 Agustus 2017.
- US Department of Agriculture National Nutrient Database from Nutrition data.com

- Uysal, O., and M.N. Bucak. 2007. Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. *Acta Veterinaria Brno*. 76: 383-390.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., and M. Mazur. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 39 (1): 44-84.
- Van der Vliet, A., 2000. Cigarettes, cancer, and carotenoids: a continuing, unresolved antioxidant paradox. *Am. J. Clin. Nutr.* 72; 1421
- Varh, L.G., and P. Storz. 2010. Reactive Oxygen Species in Cancer. *Journal of Free Radical Reseach*. 2010. 44(5): 479-496
- Vieira, G.S., Sato, A.C.K., Cunha, R.L., M. Hubinger. 2012. Guava. *Journal of Tropical and Subtropical Fruit Processing and Packaging*. 4 : 28
- Wahyuningrum, M.R. dan E. Proborsari. 2012. Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kadar Trigliserida pada Tikus *Sprague Dawley* dengan Hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition Collage*. 1:192-198.
- Weber, P., Bendich, A., and Schalch. 1996. Ascorbic acid and human health – a review of recent data relevant to human requirements. *Journal of Vitamin and Nutrition Res*. 66:19-30.
- Willcox, J.K., Ash, S.L., G.L. Catignani. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Review. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 44: 275-295.
- Wulandari, A.S. 2009. Pengaruh Tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa *Rattus norvegicus* L. Pasca Pemberian Nikotin. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- WHO (World Health Organization). 1988. *Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Semen-Getah Servik Terj. Dari WHO Laboratory Manual for The Examination of Human Semen and Semen Servical Mucus Interaction, oleh Tadjudin, M.K.* Balai Penerbit Fakultas Kedoktean, Universitas Indonesia, Depok.
- Wilson, L. 1954. Sperm agglutination in human semen and blood. *Proc Soc Exp Bioi Med*. 85:652-5
- Yusof, S. 2003. Guavas. In: Caballero B, Finglas P, Trugo L (ed). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Academic Press. New York. 2985–2992.

- Zelko, I., Mariani, T., and R. Folz. 2002. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* 33(3): 337-49.
- Zhang, J. P., Meng, Q. Y., Wang, Q., Zhang, L. J., Mao, Y. L., and Z. X. Sun. 2000. Effect of smoking on semen quality of infertile men in Shandong, China. *Asian J. Androl.* 2: 143-6 .
- Zini, A., San, G.M., and J. Libman. 2010. Lycopene supplementation in vitro can protect human sperm deoxyribonucleic acid from oxidative damage. *Fertility and Sterility.* 94: 1033-1036.

