



Pengaruh Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Terpapar Asap Rokok

The Effect Of Robusta Coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) Leaf Extract On The Spermatozoa Quality Of Mice (*Mus musculus* L.) Exposed To Cigarette Smoke

I Komang Alit Saputra^{1*}, Ni Gusti Ayu Manik Ermayanti^{2**},
A. A. S. A. Sukmaningsih^{3***}

¹²³Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Indonesia

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar asap rokok. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan terdiri atas enam ekor mencit sebagai ulangan. Masing-masing perlakuannya adalah K- (tanpa paparan asap rokok), K+ (paparan asap rokok + Na-CMC 0,5%), P1 (paparan asap rokok + ekstrak daun kopi robusta dosis 60 mg/kgbb), P2 (paparan asap rokok + ekstrak daun kopi robusta dosis 120 mg/kgbb) dan P3 (paparan asap rokok + ekstrak daun kopi robusta dosis 180 mg/kgbb). Pada hari ke-36, mencit dikorbankan dengan cara dibius kemudian dilakukan pembedahan untuk pengkoleksian spermatozoa. Parameter yang diamati yaitu konsentrasi, motilitas, viabilitas, morfologi, serta integritas membran spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan *One Way Anova* dan diuji lanjut dengan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun kopi robusta pada mencit yang terpapar asap rokok berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kualitas spermatozoa.

Kata kunci: rokok, spermatozoa, mencit.

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of given robusta coffee (Coffea canephora Pierre ex A. Froehner) leaf extract on the spermatozoa quality of mice (Mus musculus L.) exposed to cigarette smoke. The experiment was using a completely randomized design (CRD) with five treatments and each consisted of six mice as replications. Each treatment was K- (without exposure to cigarette smoke), K+ (exposure to cigarette smoke + 0.5% Na-CMC), P1 (exposure to cigarette smoke + Robusta coffee leaf extract at a dose of 60 mg/kgbw), P2 (exposure to cigarette smoke + Robusta coffee leaf extract at a dose of 120 mg/kgbw) and P3 (exposure to cigarette smoke + Robusta coffee leaf extract at a dose of 180 mg/kgbw). On the 36th day, mice were taken down by anesthesia and followed by surgery to collect spermatozoa. The parameters for this observation were the concentration, motility, viability, morphology, and integrity of the spermatozoa membrane. The data obtained were analyzed statistically with One Way Anova and further tested with DMRT. The results showed that the treatment of robusta coffee leaf extract in mice exposed to cigarette smoke had a significant effect ($P < 0,05$) on the quality of spermatozoa.

Keywords: cigarettes, spermatozoa, mice

*) I Komang Alit Saputra. Program Studi Biologi FMIPA UNUD. Jl. Kampus Unud, Bandung
Telp. 081803627194 email: alitsaputra1998@gmail.com

**) Dr. Dra. Ni Gusti Ayu Manik Ermayanti, M.Si. Program Studi Biologi FMIPA UNUD. Jl. Kampus Unud, Bandung
Telp. 082144060377 email: manikermayanti@gmail.com

***) Dr. Dra. A. A. S. A. Sukmaningsih, M.Repro. Program Studi Biologi FMIPA UNUD. Jl. Kampus Unud, Bandung
Telp. 085339155574 email: sukmaningsih@unud.ac.id



Pendahuluan

Radikal bebas merupakan molekul yang bersifat tidak stabil dan radikal karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan [1]. Dalam usaha mencapai kestabilan, molekul ini selalu berusaha mencari pasangan elektronnya dengan cara merebut elektron dari molekul lain yang berada di dekatnya [2]. Dalam proses fisiologis tubuh, radikal bebas yang tidak terkendali dan melebihi batas kapasitas antioksidan di dalam tubuh akan membentuk stres oksidatif. Stres oksidatif dapat merusak komponen lipid, protein dan karbohidrat [3].

Rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas eksogen yang dapat mengganggu keseimbangan radikal dan antioksidan di dalam tubuh serta membentuk stres oksidatif. Selain mengandung radikal bebas, asap rokok juga diketahui mengandung berbagai senyawa toksik seperti nikotin, tar, karbon monoksida, karbondioksida, senyawa PAH (*Polynuclear Aromatic Hydrocarbon*) dan hidrogen peroksida. Hal ini akan menyebabkan terjadinya kerusakan dan fungsi sel yang mempengaruhi fungsi sistem organ [4]. Penelitian pada mencit yang dipapar asap 2 batang rokok selama 4 minggu memperlihatkan bahwa asap rokok dapat menurunkan kualitas spermatozoa [5]. Penelitian serupa juga menjelaskan bahwa paparan asap rokok selama 35 hari dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa mencit yang terpapar asap rokok [6]. Mengatasi radikal bebas yang diakibatkan oleh asap rokok, salah satunya adalah memanfaatkan daun kopi sebagai salah satu bahan alami yang mengandung antioksidan. Kopi diketahui mengandung senyawa asam klorogenat yang mampu bertindak sebagai antioksidan melalui mekanisme donor atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi [7].

Ekstrak etanol 70% daun kopi robusta diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid [8]. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan yang kuat [9]. Ekstrak daun kopi robusta tua memiliki aktivitas antioksidan dan kadar fenol yang lebih tinggi daripada ekstrak daun kopi robusta muda [10]. Saponin bekerja sebagai antioksidan dengan meningkatkan pembentukan superoksida dismutase dan katalase. Tanin memberikan kemampuan antioksidannya sebagai penangkap hidrogen peroksida. Sementara itu, steroid dapat bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas [11].

Berdasarkan uraian tersebut, diduga bahwa ekstrak daun kopi robusta mampu berperan sebagai antiradikal dari asap rokok yang mempengaruhi sistem reproduksi, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai hal tersebut. Adapun penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar asap rokok.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi robusta, etanol 70%, kertas saring, rokok, mencit jantan dengan berat 20-25gram, Na-CMC, NaCl 0,9%, pewarna *Eosin*, pewarna *Methylen Blue*, metanol dan larutan hipoosmotik.



Alat yang digunakan adalah kandang mencit, penutup kandang dari anyaman kawat, tempat minum mencit, blender, botol plastik, selang, timbangan analitik, *rotary evaporator*, kotak pengasapan, alat sonde, spuit 100ml, spuit 1ml, bak parafin, satu set alat bedah, tisu, kertas label, cawan Petri, *glass object*, *cover glass*, *eppendorf*, hemasitometer tipe *Improved Neubauer*, mikroskop, *optilab*, *hand counter* dan inkubator.

Metode

Penelitian ini memakai Rancangan Acak Lengkap dengan lima perlakuan dan enam pengulangan. Masing-masing perlakuannya yaitu K- (tanpa paparan asap rokok), K+ (paparan asap rokok + Na-CMC 0,5%), P1 (paparan asap rokok + ekstrak daun kopi robusta dosis 60 mg/kgbb), P2 (paparan asap rokok + ekstrak daun kopi robusta dosis 120 mg/kgbb) dan P3 (paparan asap rokok + ekstrak daun kopi robusta dosis 180 mg/kgbb). Data dianalisis statistik dengan uji normalitas memakai uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varians dengan *Levene Test*. Selanjutnya data dianalisis dengan *One Way Anova* dan uji lanjut DMRT. Analisis data memakai bantuan program *SPSS for Windows* versi 23.

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan nomor: B/51/UN14.2.9/PT.01.04/2021.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak: Daun kopi robusta yang telah dikeringanginkan dan diblender, dimaserasi dengan pelarut etanol 70% selama 5 hari. Setelah 5 hari, dilakukan penyaringan dengan kertas saring whatman. Maserat yang dihasilkan diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dalam suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak yang kental.

Pemeliharaan Hewan: Hewan uji berupa mencit dengan bobot badan 20-25 gram sejumlah 30 ekor yang dibagi secara acak dan dimasukkan ke dalam lima buah kandang plastik dan ditutup dengan menggunakan kawat besi. Masing-masing kandang berisi enam ekor mencit yang diadaptasikan selama satu minggu. Pakan yang diberikan berupa pelet ayam (CP 551) dan minum berupa air ledeng secara *ad libitum*.

Perlakuan: Perlakuan pemaparan asap rokok dilakukan dalam kotak pengasapan yang memiliki ukuran 35 cm x 18 cm x 20 cm. Perlakuan dilakukan dengan cara mencit dimasukkan ke dalam kotak pengasapan lalu diberikan asap satu batang rokok per ekor mencit dengan menggunakan spuit 100ml selama 35 hari. Pemberian ekstrak daun kopi robusta diberikan secara oral dengan volume 0,5 mL sekali sehari selama 35 hari dengan menggunakan sonde lambung. Adapun dosis ekstrak yang diberikan yaitu 60 mg/Kgbb (P1), 120 mg/Kgbb (P2) dan 180 mg/Kgbb (P3).

Pengambilan Sampel: Mencit dibedah untuk diambil kauda epididimisnya. Kauda epididimis dicuci dengan larutan NaCl 0,9%. Kemudian kauda epididimis yang telah dicuci dengan NaCl 0,9% dicacah sampai halus hingga menjadi suspensi spermatozoa. Selanjutnya suspensi yang diperoleh dipakai untuk analisis kualitas spermatozoa.

Pengamatan Kualitas Spermatozoa: Pengamatan kualitas spermatozoa terdiri atas pengamatan konsentrasi, motilitas, viabilitas, morfologi dan integritas membran spermatozoa.

A. Konsentrasi: Menghitung konsentrasi spermatozoa, dilakukan dengan metode hemasitometer tipe *Improved Neubauer*. Suspensi spermatozoa disedot ke dalam pipet leukosit hingga skala 0,5



- kemudian disedot larutan pengencer hingga tanda 11, dikocok perlahan supaya larutan homogen. Selanjutnya, diteteskan ke dalam kamar hitung hemasitometer dan ditutup dengan gelas penutup kemudian diamati di bawah mikroskop yang terhubung pada optilab dengan perbesaran 100x [12].
- B. Motilitas:** Suspensi spermatozoa diambil sebanyak 10 μ L dan diletakkan pada gelas objek lalu diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali terhadap 100 spermatozoa. Perhitungan spermatozoa motil berdasarkan kategori-kategori sebagai berikut: kategori 0 (spermatozoa sama sekali tidak ada pergerakan), kategori 1 (pergerakan spermatozoa sangat lambat atau zig-zag atau berputar-putar), kategori 2 (pergerakan spermatozoa ke arah depan dengan kecepatan sedang) dan kategori 3 (pergerakan spermatozoa cepat dan lurus ke arah depan) [12]. Setiap hewan uji dihitung persentase spermatozoa motil dengan menjumlahkan kategori 2 dan 3 lalu dibagi kategori 0, 1, 2, 3 dikalikan 100%.
- C. Viabilitas:** Pengamatan viabilitas spermatozoa dapat diamati dengan menggunakan pewarnaan Eosin. Sebanyak 10 μ L suspensi spermatozoa diteteskan di atas gelas obyek ditambahkan satu tetes eosin kemudian ditutup dengan kaca penutup. Setelah 2 menit, dilakukan pemeriksaan sediaan memakai mikroskop cahaya pada perbesaran 400x [13].
- D. Morfologi:** Pemeriksaan morfologi spermatozoa menggunakan metode sediaan apus/*smear* spermatozoa dengan pewarnaan eosin dan metilen blue. Sebanyak 10 μ L suspensi spermatozoa diteteskan di atas gelas obyek lalu dibuat hapusannya dan difiksasi dengan metanol. Kemudian dicelup dalam pewarna *Eosin* selama 1 menit. Setelah itu, dicelup dalam pewarna *methylen blue* selama 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir. Pengamatan sediaan dilakukan memakai mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x terhadap 100 spermatozoa [13].
- E. Integritas Membran:** Sebanyak 10 μ L suspensi spermatozoa dicampurkan dengan 0,3 ml larutan hiposmotik (0,31 g natrium sitrat dan 0,565 g fruktosa dilarutkan dalam 50 ml aquades) dalam tabung *ependorf*, lalu diinkubasi dalam suhu 37°C berdurasi setengah jam. Kemudian diteteskan di atas gelas objek. Pemeriksaan sediaan dilakukan memakai mikroskop cahaya pada perbesaran 400x terhadap 100 spermatozoa [14].

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Hasil analisa statistik rata-rata konsentrasi, motilitas, viabilitas, morfologi serta integritas membran spermatozoa ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa statistik rata-rata konsentrasi, motilitas, viabilitas, morfologi serta integritas membran spermatozoa

Perlakuan	Parameter				
	Konsentrasi (Juta/ml)	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Morfologi (%)	Integritas Membran (%)
K-	30,62 \pm 0,49 ^a	81,62 \pm 2,37 ^a	80,34 \pm 1,15 ^a	80,14 \pm 0,37 ^a	77,74 \pm 2,44 ^a
K+	18,28 \pm 0,34 ^b	33,10 \pm 2,25 ^b	32,18 \pm 1,54 ^b	31,18 \pm 1,54 ^b	29,92 \pm 1,25 ^b
P1	18,80 \pm 0,62 ^b	35,84 \pm 1,88 ^b	32,52 \pm 1,11 ^b	31,52 \pm 1,11 ^b	31,80 \pm 1,30 ^b
P2	23,98 \pm 0,41 ^c	61,84 \pm 2,60 ^c	61,28 \pm 0,70 ^c	60,60 \pm 1,59 ^c	48,66 \pm 2,24 ^c

P3 $26,30 \pm 0,43^d$ $73,44 \pm 1,46^d$ $73,32 \pm 1,73^d$ $72,32 \pm 1,73^d$ $61,80 \pm 1,67^d$
Keterangan: Huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Berdasarkan Tabel 1, hasil statistik rata-rata konsentrasi, motilitas, viabilitas, morfologi serta integritas membran spermatozoa dalam penelitian ini memperlihatkan adanya nilai yang tidak signifikan pada perlakuan K⁺ terhadap perlakuan P1. Namun, perlakuan K⁺ memiliki nilai yang signifikan terhadap perlakuan K⁻, perlakuan P2 dan perlakuan P3. Hal ini menunjukkan pada perlakuan P1 belum mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa sedangkan pada perlakuan P2 dan P3 mampu untuk meningkatkan konsentrasi spermatozoa mencit yang terpapar asap rokok.

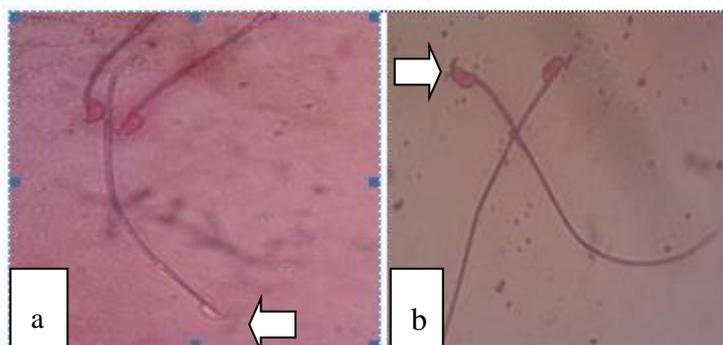
Gambar 1 memperlihatkan perbedaan spermatozoa dengan integritas membran yang utuh dan spermatozoa dengan integritas membran yang rusak. Dalam gambar terlihat spermatozoa dengan membran yang utuh ditandai dengan ekor yang tampak melingkar atau bengkok, sedangkan spermatozoa dengan membran yang rusak ditandai dengan ekor yang lurus.



Gambar 1. Integritas membran spermatozoa
Perbesaran : 400x

Keterangan : (a) spermatozoa dengan membran utuh, (b) spermatozoa dengan membran rusak

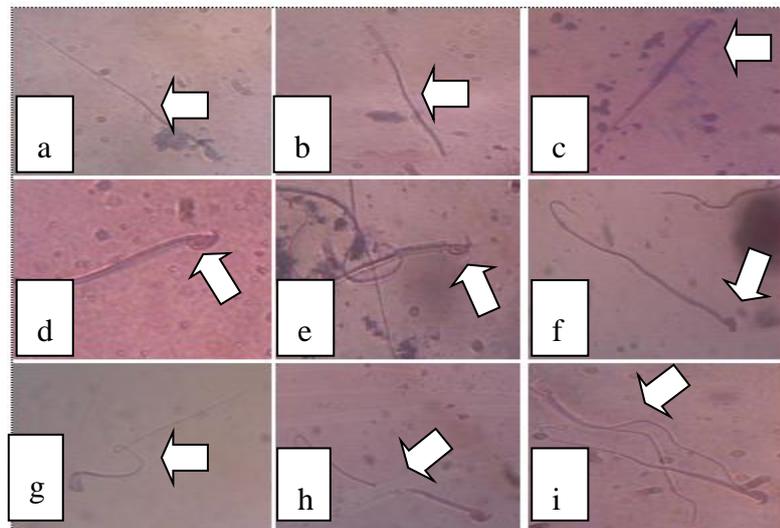
Gambar 2 memperlihatkan perbedaan spermatozoa viabel dan spermatozoa nonviabel. Dalam gambar terlihat spermatozoa viabel tidak menyerap zat warna Eosin dan spermatozoa nonviabel menyerap warna Eosin. Hal ini menunjukkan zat warna dapat menembus membran plasma spermatozoa yang rusak (spermatozoa nonviabel) dan tidak mampu menembus membran plasma yang masih utuh (spermatozoa viabel).



Gambar 2. Viabilitas spermatozoa
Pewarnaan : Eosin
Perbesaran : 400x

Keterangan : (a) spermatozoa viabel, (b) spermatozoa nonviabel

Gambar 3 memperlihatkan perbedaan spermatozoa dengan morfologi yang normal dan spermatozoa dengan morfologi yang abnormal. Adapun abnormalitas yang ditemukan meliputi abnormalitas primer (kepala besar, kepala membulat, kepala amorf, kepala kecil dan ekor ganda) serta abnormalitas sekunder (tanpa kepala, ekor melingkar dan ekor patah).



Gambar 3. Morfologi spermatozoa
Pewarnaan : Eosin dan *methylen blue*
Perbesaran : 400x

Keterangan : (a) spermatozoa normal, (b) tanpa kepala, (c) kepala makro,
(d) kepala membulat, (e) kepala mikro, (f) kepala amorf, (g) ekor melingkar,
(h) ekor patah, (i) ekor ganda

Pembahasan

Asap rokok diketahui mengandung beragam senyawa berbahaya seperti tar, nikotin, nitrosamin, bahan karsinogen dan mutagen seperti polonium, benzo(a) pirene, dimetilnitrosamin, naphthalin, karbon dioksida, hidrogen peroksida, nitrogen dioksida, merkuri, tembaga dan kadmium. Analisis dengan ESR menunjukkan bahwa asap rokok mengandung radikal bebas. Asap yang dihasilkan dari pembakaran rokok dapat menjadi sumber radikal bebas eksogen di dalam tubuh. Meningkatnya kadar radikal bebas di dalam tubuh berpengaruh pada kapasitas antioksidan endogen yang mengalami penurunan [15].

Pada penelitian ini terjadi penurunan kualitas spermatozoa yang disebabkan oleh paparan asap rokok. Kandungan nikotin yang terdapat pada asap rokok dapat mempengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan menghambat kerja GnRH. Terhambatnya sekresi GnRH berpengaruh terhadap penurunan hormon testosteron yang diproduksi oleh sel Leydig [16]. Selain itu, asap rokok juga dapat mempengaruhi proses spermatogenesis dimana terjadi penurunan jumlah spermatosit pakiten. Diketahui spermatosit pakiten sangat sensitif terhadap pengaruh luar dan rentan untuk mengalami kerusakan setelah profase meiosis pertama [17].



Sekresi testosteron yang mengalami penurunan berpengaruh terhadap sekresi LH dan FSH yang juga ikut mengalami penurunan [18]. FSH, LH, dan testosteron merupakan hormon yang berperan penting dalam sistem reproduksi. Senyawa toksik termasuk radikal bebas pada asap rokok telah diketahui menghambat kerja sistem reproduksi. Dalam asap rokok terdapat senyawa nikotin yang dapat mempengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan menyebabkan terjadinya penghambatan sekresi GnRH sehingga menghambat sekresi LH dan FSH. Dengan demikian akan terjadi gangguan pada proses spermatogenesis sebagai akibat terhambatnya sekresi LH dan FSH.

Salah satu faktor penyebab terjadinya kerusakan pada membran spermatozoa adalah radikal bebas. Radikal bebas sangat mudah berikatan dengan membran spermatozoa yang kaya akan PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*). Terjadinya proses peroksidasi lipid pada membran spermatozoa dipicu oleh ikatan rangkap pada PUFA yang sangat mudah teroksidasi dan menyebabkan terjadinya pembentukan radikal bebas secara berantai. Pada penelitian ini terjadi penurunan integritas membran spermatozoa yang disebabkan oleh paparan asap rokok. Radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok dapat merusak struktur membran sel melalui proses peroksidasi lipid [19]. Terjadinya proses peroksidasi lipid akan merusak serta menurunkan keutuhan membran sel spermatozoa yang akan diikuti dengan terjadinya perubahan pada struktur membran, sehingga akan mengubah kestabilan dan fungsi membran spermatozoa [20].

Terputusnya asam lemak tak jenuh serta terbentuknya MDA (Malondialdehid) merupakan hasil akhir proses peroksidasi lipid yang terjadi pada membran spermatozoa. MDA bersifat toksik dan dapat memicu terjadinya kerusakan pada membran sehingga menyebabkan terjadinya penurunan integritas membran spermatozoa [21]. Terjadi kerusakan membran spermatozoa oleh radikal bebas akan menyebabkan terganggunya mitokondria pada flagel yang berkaitan dengan penyediaan energi untuk motilitas spermatozoa. Keutuhan membran juga sangat berkaitan dengan viabilitas atau daya hidup spermatozoa. Integritas membran spermatozoa merupakan indikator viabilitas spermatozoa dimana membran spermatozoa rusak akan menunjukkan spermatozoa mati. Penelitian oleh [22] bahwa stres oksidatif akibat paparan asap rokok juga menyebabkan terjadinya penurunan hormon testosteron. Berdasarkan hal tersebut diduga pada penelitian ini juga terjadi penurunan sekresi hormon sehingga terjadi penurunan konsentrasi spermatozoa.

Terjadinya penurunan motilitas disebabkan karena terjadinya penurunan frekuensi gerakan pada ekor spermatozoa sebagai akibat adanya radikal bebas dalam asap rokok yang mempengaruhi spermatozoa. Radikal bebas dalam asap rokok dapat menyebabkan menurunnya produksi ATP oleh mitokondria. Mitokondria yang terletak pada bagian ekor mensuplai energi untuk pergerakan spermatozoa dalam bentuk ATP. Terganggunya metabolisme akibat adanya kerusakan pada mitokondria dapat menurunkan persediaan ATP dan menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa [23]. Radikal bebas pada asap rokok dapat mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Stres oksidatif yang disebabkan oleh tingginya kadar radikal bebas dapat memicu terjadinya kerusakan dan penurunan integritas pada membran spermatozoa sehingga berdampak terhadap penurunan viabilitas spermatozoa [24]. Keutuhan membran sangat menentukan persentase spermatozoa yang viabel. Membran plasma memiliki fungsi untuk memproteksi organel sel serta transportasi elektrolit bagi metabolisme spermatozoa. Apabila terjadi kerusakan pada membran plasma akan memicu terjadinya kematian pada spermatozoa [25].

Abnormalitas spermatozoa dapat terjadi karena terganggunya proses pembentukan spermatozoa. Terganggunya proses pembentukan spermatozoa dapat disebabkan karena rusaknya sel Leydig akibat radikal bebas pada asap rokok. Kerusakan tersebut akan berpengaruh terhadap penurunan sekresi hormon LH, FSH serta testosteron sehingga dihasilkan spermatozoa dengan



morfologi yang abnormal sebagai akibat terjadinya gangguan pada proses pembentukan spermatozoa [26]. Proses pembentukan spermatozoa sangat mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dihasilkan testis. Kualitas spermatozoa yang baik diperoleh ketika proses pembentukan spermatozoa berjalan secara normal dan kualitas spermatozoa yang buruk diperoleh ketika proses pembentukan spermatozoa berjalan secara tidak normal [27].

Mengatasi terganggunya keseimbangan mekanisme pertahanan antioksidan endogen yang menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa di dalam tubuh dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan eksogen. Salah satu sumber antioksidan eksogen adalah ekstrak daun kopi robusta. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak daun kopi robusta pada hewan coba menunjukkan hasil dimana kualitas spermatozoa lebih baik dibandingkan dengan kualitas spermatozoa pada kelompok hewan yang hanya terpapar asap rokok. Pemberian ekstrak daun kopi robusta dengan dosis 120 mg/kgbb dan 180 mg/kgbb mampu untuk meningkatkan integritas membran, konsentrasi, motilitas, viabilitas serta morfologi normal spermatozoa mencit yang terpapar asap rokok. Diketahui aktivitas antioksidan daun kopi robusta IC 50 sebanyak 43,83 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan yang kuat [8]. Senyawa antioksidan diketahui mampu menurunkan intensitas radikal bebas asap rokok. Hal ini sesuai dengan penelitian mengenai penggunaan ekstrak buah juwet pada filter rokok yang menurunkan intensitas radikal bebas asap rokok [14]. Senyawa antioksidan diketahui mampu menurunkan intensitas radikal bebas asap rokok. Antioksidan dari flavonoid memiliki struktur dimana cincin aromatikanya mengandung gugus hidroksil dan gugus lainnya yang mampu melepaskan atau menerima elektron bebas dari radikal melalui mekanisme donor atom hidrogen ataupun transfer elektron tunggal [28].

Pada penelitian ini pemberian ekstrak daun kopi robusta pada mencit yang terpapar asap rokok dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa karena meningkatnya proses pembentukan spermatozoa di tubulus seminiferus testis. Meningkatnya proses spermatogenesis dapat disebabkan karena kandungan antioksidan dalam ekstrak daun kopi robusta mampu melawan radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok. Daun kopi robusta mengandung senyawa fenolik berupa asam klorogenat. Asam klorogenat yang terdapat dalam daun kopi robusta bertindak sebagai antioksidan dengan cara menyumbangkan atom hidrogen untuk mengurangi radikal bebas sehingga efek negatif radikal bebas dari asap rokok yang dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa dapat dicegah [7].

Peningkatan persentase integritas membran dapat disebabkan karena daya antioksidan dari ekstrak daun kopi robusta mampu untuk melawan radikal bebas akibat paparan asap rokok. Senyawa flavonoid dalam ekstrak daun kopi robusta memiliki kemampuan sebagai antioksidan pemutus rantai. Mekanisme lain adalah sebagai pengkelat logam Fe^{3+} yang diperlukan dalam reaksi fenton sehingga terbentuknya radikal hidroksil dapat dihambat [29]. Selain itu flavonoid dapat menghalau timbulnya peroksidasi lipid pada membran sel, sehingga kerusakan membran sel dapat diminimalisir dan berdampak pada terjadinya peningkatan integritas membran sel spermatozoa. [30].

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu meminimalisir kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron hidrogennya pada radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil dan tidak merusak. Radikal bebas yang telah bereaksi dengan senyawa antioksidan akan tidak melakukan reaksi kembali dengan sel lain disekitarnya, dengan demikian membran mitokondria dapat terhindar dari serangan radikal bebas dan mampu kembali menghasilkan ATP untuk menunjang pergerakan spermatozoa. Dengan demikian motilitas spermatozoa akan mengalami peningkatan [31].

Terjadinya peningkatan viabilitas dapat disebabkan karena adanya aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun kopi robusta. Antioksidan dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa dengan



membantu ketahanan integritas membran terhadap stres oksidatif. Membran plasma spermatozoa yang tersusun atas PUFA (*Polyunsaturated fatty acid*) sangat rentan terhadap stres oksidatif. Dengan adanya akumulasi antioksidan pada membran plasma, terjadi keseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. Oleh karena itu, integritas membran spermatozoa dapat dipertahankan sehingga terjadi peningkatan viabilitas spermatozoa [32].

Peningkatan persentase morfologi normal disebabkan karena terdapat antioksidan dalam ekstrak daun kopi robusta yang memiliki kemampuan untuk menyeimbangkan kadar radikal bebas akibat paparan asap rokok. Senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak daun kopi robusta menunjukkan kemampuan antioksidannya dengan mampu meminimalisir jumlah radikal bebas di dalam tubuh [33]. Tanin berperan sebagai *scavenger hydrogen peroxide* sehingga hidrogen peroksida tidak bereaksi lebih lanjut menjadi radikal hidroksil dan produksi radikal bebas akan menurun. Hal ini menyebabkan menurunnya reaksi antara radikal bebas dengan membran sel sehingga terjadi peningkatan morfologi normal spermatozoa [34].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) dapat meningkatkan kualitas (konsentrasi, motilitas, viabilitas, morfologi normal dan integritas membran) spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar asap rokok.

Daftar Pustaka

- [1] Hani, R.C., dan T. Milanda. 2016. Review: Manfaat Antioksidan pada Tanaman Buah di Indonesia. *Farmaka* 14(1):184-190.
- [2] Khaira, K. 2010. Menangkal Radikal Bebas Dengan Anti-Oksidan. *Jurnal Sainstek* 2(2):183-187.
- [3] Rosahdi, T. D., M. Kusmiyati, dan F. R. Wijayanti. 2013. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih Dengan Metode DPPH. 7(1):1-15.
- [4] Lestari, N. D., Tjandrakirana, dan Y. S. Rahayu. 2018. Pengaruh Filtrat Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Asap Rokok. *Lentera Bio* 7(1): 55-60.
- [5] Batubara, I. V. D., B. Wantouw dan L. Tendean. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik* 1(1):330-337.
- [6] Putra, Y. 2014. Pengaruh Rokok terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang). *Jurnal Sainstek* 6(1):30-42.
- [7] Widyastuti, N., G. Anjani, V. G. Almira, S. E. Putri, and A. R. Pratiwi. 2020. Effects of The Administration of Brewed Robusta Coffee Leaves on Total Antioxidant Status in Rats With High-Fat, Highfructose Diet-Induced Metabolic Syndrome. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences* 14(1):258-263.
- [8] Shiyani, S., Herlina, D. Arsela, dan E. Latifah. 2017. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanolik Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) pada Tikus Diabetes Tipe 2 yang Diberi Diet Lemak Tinggi dan Sukrosa. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis* 3(2):39-46.



- [9] Hasanah, M., B. Maharani, dan E. Munarsih. 2017. Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *IJPST* 4(20):42-49..
- [10] Pristiana, D. Y., S. Susanti, dan Nurwantoro. 2017. Antioksidan dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea* sp.): Potensi Aplikasi Bahan Alami untuk Fortifikasi Pangan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 6(2):89-92.
- [11] Anggraito, Y. U., R. Susanti, R. S. Iswari, A. Yuniastuti, Lisdiana, Nugrahaningsih, A. A. Habibah, dan S. H. Bintari. 2018. *Metabolit Sekunder Tanaman Aplikasi dan Produksi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- [12] Subratha, I. M. 1999. *Analisis Sperma Rutin*. Upada Sastra. Denpasar.
- [13] Wibisono, H. 2010. *Panduan Laboratorium Andrologi*. PT Refika Aditama. Bandung.
- [14] 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.
- [15] Sukmaningsih, A. A. S. A., S. Permana, D. J. D. H. Santjojo, A. Y. P. Wardoyo, and S. B. Sumitro. 2019. The Potency of Java Plum (*Zyzygium cumini*) Fruit Extract as Free Radical Scavenging in Cigarette Smoke. *AIP Conference Proceedings* 1-6.
- [16] Devita, H., dan V. Y. A. Amran. 2019. Efek Rokok terhadap Kadar *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) pada Pria. *Indonesia Jurnal Kebidanan* 3(1):11-17.
- [17] Sukmaningsih, A. A. S. A. 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatisid Tubulus Seminiferus Testis pada Mencit (*Mus musculus*) yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Biologi* 13(2):31-35
- [18] Yadimci, S., A. Atan, T. Delibasi, K. Sunguroglu, and M. C. Guven. 1997. Long Term Effect of Cigarette Smoke Exposure on Plasma Testosteron, Luteinizing Hormone and Folicle Stimulating Hormone Level in Male Rats. *British Journal of Urology* 79(1):66-69.
- [19] Amarudin. 2012. Pengaruh Merokok terhadap Kualitas Sperma pada Pria dengan Masalah Infertilitas Studi Kasus Kontrol di Jakarta Tahun 2011. *Tesis*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Program Pasca Sarjana. Depok.
- [20] Kardi. 2016. Pemberian Glutathion Pada Mencit Jantan Dewasa yang Terpapar Asap Rokok Dapat Meningkatkan Motilitas Progresif Spermatozoa. *Jurnal Sangkareang Mataram* 2(2):23-28.
- [21] Hayati, A., S. Mangkoewidjojo, A. Hinting, dan S. Moeljopawiro. 2006. Hubungan Kadar MDA Sperma Dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus novergicus*) setelah Pemaparan 2-Methoxyethanol. *Journal of Biological Researches* 11(2):151-154.
- [22] Lie, A., W. Pangkahila, dan L. P. I. I. Maker. 2020. *Astaxanthin* Menghambat Penurunan Jumlah Sel Leydig dan Kadar Testosteron pada Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Dengan Asap Rokok. *Indonesian Journal of Clinical Nutrition Physician* 2(1):151-159.
- [23] Permatasari, S., A. Frethernety dan H. E. Shinta. 2020. Pengaruh Obat Nyamuk Bakar dan Semprot terhadap Motilitas Sperma Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kedokteran* 8(1):946-951.
- [24] Harahap, E. W., N. Sandora, dan Winarto. 2011. Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Konsentrasi Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Dipapar Asap Rokok. *JIK* 5(1):26-34.
- [25] Prastika, Z., S. Susilowati, B. Agustono, E. Safitri, F. Fikri, dan R. A. Prastiya. 2018. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Rambon di Desa Kemiren Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner* 1(2):38-42.



- [26] Ningrum, M. S., R. A. 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.
- [27] Mandasari, A. A., S. N. Asiyah, dan K. Lintang. 2019. Perubahan Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Asap Rokok Elektrik. *Biotropic* 3(1): 122 -128.
- [28] Sukmaningsih, A. A. S. A., S. Permana, D. J. H. H. Santjojo, A. Y. P. Wardoyo, and S. B. Sumitro. 2018. Investigating Natural Transition Metal Coordination Anthocyanin Complex In Java Plum (*Syzygium cumini*) Fruit As Free Radical Scavenging. *Rasayan Journal of Chemistry* 11(3):1193-1203.
- [29] Anggi, A. R., dan E. C. Herlina. 2016. Pengaruh Pemberian *Dark Chocolate* Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Balb/C Jantan yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* 5(4):475-484
- [30] Dewantoro, H. N., Lisdiana dan W. Isnaeni. 2017. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kualitas Sperma Tikus yang Terpapar Asap Rokok. *Life Science* 6(2):62-68.
- [31] Mustikasari, D. R., Tjandrakirana dan N. Qomariyah. 2013. Pengaruh Pemberian Filtrat Daun Katuk terhadap Konsentrasi dan Morfologi Normal Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Asap Rokok. *LenteraBio* 2(1): 155–158.
- [32] Astarto, N. W. 2014. Pengaruh Likopen terhadap Kualitas dan Kadar Malondialdehid Spermatozoa yang Dipajankan pada Zalir Peritoneum Wanita Dengan Endometriosis. *IJAS* 4(3):143-153.
- [33] Wrsiati, L. P., A. Hartati, dan D. A. A. Yuarini. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif dan Karakteristik Sensori Ekstrak Simplisia Bunga Kamboja (*Plumeria* sp.). *Jurnal Biologi* 17(2):39-43.
- [34] Aripfasa, A., D. Adriana, dan Y. Purnomo. 2015. Efek Dekok Daun Pulutan (*Urena lobata*) terhadap Kadar SOD (*Superoxyde Dismutase*) dan MDA (*Malondialdehyde*) Serum Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe II. *Jurnal Kedokteran Komunitas* 3(1):304-311