

Pengaruh Ekstrak Kayu Secang terhadap Gambaran Spermatogenesis dan Kadar *Reactive Oxygen Species* Eritrosit Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Rokok Konvensional

(EFFECT OF SAPPAN WOOD EXTRACT ON SPERMATOGENESIS AND REACTIVE OXYGEN LEVELS OF ERYTHROCYTE SPECIES OF MALE MICE AFTER EXPOSURE TO CONVENTIONAL CIGARETTE SMOKE)

Fatmawati Aras^{1*}, Tjok Gde Oka Pemayun², Ida Bagus Oka Winaya³

¹Program Studi Magister Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

²Laboratorium Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

³Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia.

*Email: fatmawati.aras.fa@gmail.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kayu secang (*Caesalpinia Sappan Linn*) terhadap gambaran spermatogenesis dan kadar *reactive oxygen species* (ROS) eritrosit mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari kontrol (P₀) dan tiga perlakuan yaitu pemberian ekstrak kayu secang (P₁)= Pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang, (P₂)= Pemaparan asap rokok 2 batang dan pemberian ekstrak kayu secang dosis 30mg/BB mencit/hari, (P₃) = Pemaparan asap rokok 2 batang dan pemberian ekstrak kayu secang dosis 60mg/BB mencit/hari. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan, dewasa berumur 6 bulan dan berat badan antara 20-40g yang berjumlah 24 ekor. Analisis data untuk jumlah sel spermatogonium, spermatisit, spermatid dan kadar ROS eritrosit dianalisis menggunakan sidik ragam jika ditemukan perubahan yang signifikan akan dilanjutkan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kayu secang mampu menurunkan kadar ROS pada eritrosit mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional, namun secara statistik belum berpengaruh secara signifikan (P>0,05). Kesimpulan pemberian ekstrak kayu secang dengan dosis 60mg/ BB mencit/hari memberi pengaruh yang lebih efektif terhadap gambaran spermatogenesis mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional dibandingkan dosis 30mg/BB mencit/hari. Saran Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap kadar ROS pada organ testis mencit yang dipapari asap rokok konvensional dan secara ilmiah, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek ekstrak kayu secang terhadap ROS atau jalur molekuler lainnya untuk mengetahui secara pasti mekanisme kerjanya.

Kata kunci: *Caesalpinia sappan linn*; kayu secang; mencit jantan; ROS, spermatogenesis

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of sappan wood extract (*Caesalpinia Sappan Linn*) on spermatogenesis and reactive oxygen species (ROS) levels of male mice (*Mus Musculus*) erythrocytes after exposure to conventional cigarette smoke. This study is an experimental study using a completely randomized design (CRD) consisting of control (P₀) and three treatments, namely the administration of sappan wood extract (P₁) = exposure to cigarette smoke as much as 2 sticks, (P₂) = exposure to cigarette smoke 2 sticks and giving sappan wood extract at a dose of 30mg/weight Mice/day, (P₃) = Exposure to cigarette smoke 2 sticks and administration of a sappan wood extract at a dose of 60mg/weight mice/day. Experimental animals used in this study were male mice, 6 months old adults and weighing between 20-40 g, totaling 24 individuals. Data analysis for the number of

spermatogonia cells, spermatocytes, spermatids and ROS levels of erythrocytes were analyzed using variance if significant changes were found, then Duncan's test was continued. The results showed that the administration of sappan wood extract was able to reduce ROS levels in erythrocytes of male mice after exposure to conventional cigarette smoke, but statistically had no significant effect ($P > 0.05$). Conclusion giving sappan wood extract at a dose of 60mg/weight mice/day gave a more effective effect on the spermatogenesis picture in male mice after exposure to conventional cigarette smoke compared to a dose of 30mg/weight mice/day. Sesuaikan!

Keywords: *Caesalpinia sappan* linn; male mice; ROS; sappan wood; spermatogenesis

PENDAHULUAN

Rokok merupakan masalah kesehatan dunia. Telah diinformasikan bahwa setiap delapan detik satu orang meninggal karena rokok. World Health Organization (WHO) memperkirakan jumlah perokok di dunia sebanyak 2,5 milyar orang dengan dua pertiganya berada di negara berkembang (Rizaldy *et al.*, 2016). Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang memiliki jumlah perokok dan produksi rokok yang tinggi (Mauliza *et al.*, 2018). Pada tahun 2013, prevalensi perokok di Indonesia mencapai 29,3 % dari perokok mulai merokok sejak usia remaja yaitu 15-19 tahun (Rizaldy *et al.*, 2016). Lebih dari 60 juta penduduk Indonesia mengalami ketidakberdayaan akibat dari adiksi nikotin rokok, dan 400 ribu orang per tahun mengalami kematian akibat mengkonsumsi rokok (Nurrahmah, 2014).

Rokok merupakan suatu benda berbentuk silinder yang terbuat dari kertas berukuran panjang antara 70 hingga 120 mm dengan diameter sekitar 10 mm dan didalamnya berisi daun tembakau yang sudah dicacah (Ambarwati *et al.*, 2014). Tembakau pada rokok mengandung 4000 elemen, di mana 200 diantaranya berbahaya bagi kesehatan. Bahan toksik pada tembakau yang mampu mengganggu kesehatan adalah nikotin, tar, gas karbondioksida, dan berbagai logam berat (Fitria *et al.*, 2013).

Rokok tidak hanya berbahaya bagi perokoknya sendiri, melainkan juga berbahaya bagi orang-orang disekitar yang menghirup asapnya. Asap rokok yang terhirup mampu membentuk radikal bebas

di dalam tubuh (Herdiani dan Putri, 2018). Radikal bebas yang terbentuk dari paparan asap rokok disebabkan oleh 2 fraksi yang berbeda, yaitu dari fase tar asap rokok dan dari fase gas asap rokok. Fase gas rokok mengandung radikal bebas oksigen dan karbondioksida yang lebih reaktif daripada fase tar (Rahimah *et al.*, 2010).

Radikal bebas pada asap rokok bersifat tidak stabil dan reaktif, hal ini dikarenakan molekul biologiknya memiliki satu atau lebih electron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA) atau asam lemak tak jenuh merupakan salah satu substansi yang paling rentan terhadap radikal bebas (Kurnia *et al.*, 2011). Asam lemak tak jenuh merupakan salah satu komponen terpenting dari membrane sel, sehingga jika terserang oleh radikal bebas, struktur dan fungsi membrane akan berubah yang dalam keadaan ekstrem menyebabkan kematian sel-sel jaringan (Khaira, 2010).

Spermatogenesis merupakan suatu proses pembentukan dan pematangan sel sperma pada hewan jantan. Secara normal spermatogenesis terjadi di tubulus seminiferus yang ada di organ testis hewan jantan (Adelati *et al.*, 2016). Proses pembentukan spermatozoa terjadi melalui beberapa tahapan. Pada proses pertama, spermatogonia akan mengalami perubahan menjadi spermatosit primer, kemudian akan menjadi spermatosit sekunder. Untuk perubahan selanjutnya dari spermatid sekunder akan menjadi spermatid dan mengalami diferensiasi menjadi spermatozoa (Nita *et al.*, 2019). Spermatogenesis dikontrol oleh hormon *Folicle Stimulating Hormone* (FSH),

Interstitial Cell Stimulating Hormone (ICSH), dan *testosteron*. Adanya gangguan pada hormon tersebut dapat mengganggu proses pembentukan spermatozoa (Arief, 2011). Selain itu spermatogenesis juga dipengaruhi oleh keadaan lingkungan baik eksternal maupun internal, yang pada akhirnya akan mengganggu jumlah dan vitalitas spermatozoa yang terbentuk (Djaelani, 2012).

Asap rokok mengandung 1014 radikal bebas dan senyawa tersebut dapat memasuki aliran darah serta menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) (Ganesha *et al.*, 2020). *Reactive oxygen species* merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok non radikal (Sinaga, 2016). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh asap rokok pada spermatogenesis. Salah satunya adalah penelitian yang dilakukan oleh Hargono *et al.* (2013) yang membuktikan bahwa rokok dapat mengganggu spermatogenesis. Sedangkan penelitian lain menyebutkan bahwa bahan kimia dan radikal bebas dari rokok dapat menyebabkan gangguan pada spermatogenesis (Putra, 2014). Adanya radikal bebas pada asap rokok dapat menyebabkan menurunnya produksi hormon LH dan FSH yang berperan dalam spermatogenesis. Selain itu adanya radikal bebas juga dapat merusak struktur dari spermatozoa (Sari, 2014). Radikal bebas pada rokok juga dapat merusak membran sel mitokondria. Adapun salah satu fungsi dari mitokondria adalah menghasilkan adenosina trifosfat (ATP) yang diperlukan untuk biosintesis testoteron dalam sel Leydig dalam proses spermatogenesis. Sehingga apabila mitokondria mengalami kerusakan, maka proses spermatogenesis juga akan terganggu (Yuliyantika *et al.*, 2019).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menunda atau mencegah terjadinya reaksi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Handayani *et al.*, 2014). Mekanisme kerja antioksidan dalam

menangkal radikal bebas adalah dengan menunda, mencegah, dan menghilangkan kerusakan oksidatif dari molekul target dengan pendinginan radikal bebas, perkhelatan logam, menurunkan kadar enzim yang membantu pembentukan radikal bebas dan menstimulasi antioksidan internal (Arnanda dan Nuwarda, 2019). Di Indonesia terdapat berbagai macam bahan alami yang mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya (Werdhasari, 2014). Salah satu tanaman di Indonesia yang memiliki kandungan antioksidan adalah kayu secang (*Caesalpinia Sappan Linn*).

Kayu secang adalah tumbuhan tropis yang mampu memberikan warna apabila dilarutkan dalam air akibat adanya kandungan kromofor di dalamnya (Failisnur *et al.*, 2019). Kayu secang mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid, yang memiliki aktivitas antioksidan (Sari dan Suhartati, 2016). Kayu secang memiliki lima senyawa aktif yang terkait flavonoid, yaitu bazilin, brazilin, 3'-*O*-metilbrazilin, sappanin, chalcone, dan sappanalcone yang berfungsi sebagai antioksidan primer maupun sekunder (Utari *et al.*, 2017). Bazilin adalah suatu senyawa yang memberikan warna merah pada kayu secang dan merupakan senyawa antioksidan yang mempunyai katekol dan struktur kimianya (Rahman *et al.*, 2015; Febriyent *et al.*, 2018). Pada penelitian ini digunakan ekstraksi dengan pelarut air. Hal ini dikarenakan metode ini mudah dilakukan dan tidak membutuhkan peralatan berteknologi tinggi, sehingga mampu menghemat biaya (Failisnur *et al.*, 2019).

Masih terbatasnya informasi mengenai pemberian ekstrak kayu secang, sesuai tata cara penggunaan di masyarakat, oleh sebab itu perlu di teliti untuk mengetahui efek pemberian ekstrak air kayu secang terhadap gambaran spermatogenesis dan kadar Ros eritrosit mencit jantan (*Mus musculus*) pasca dipapari oleh asap rokok konvensional.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari kontrol (P_0) dan tiga perlakuan yaitu pemberian ekstrak kayu secang (P_1)= Pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang, (P_2)= Pemaparan asap rokok 2 batang dan pemberian ekstrak kayu secang dosis 30mg/BB Mencit hari, (P_3) = Pemaparan asap rokok 2 batang dan pemberian ekstrak kayu secang dosis 60mg/BB mencit/hari.

Penentuan Sumber Data

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan, dewasa berumur 6 bulan dan berat badan antara 20-40g yang berjumlah 24 ekor. mencit jantan diperoleh dari peternakan mencit di Gianyar, Bali. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kayu secang. Data yang diperoleh untuk mengetahui pengaruh ekstrak kayu secang terhadap gambaran histopatologi testis mencit jantan dan kadar *Reactive Oxygen Species* yang dipapari oleh asap rokok konvensional selama 30 hari.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Air Kayu Secang

Prosedur pembuatan ekstrak etanol kulit Kayu secang yaitu; dibersihkan, kemudian ditiriskan. Kayu secang diserut kurang lebih 3-5 m. Batang secang yang telah diserut dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C. Pengeringan kayu secang di hentikan apabila simplisia mudah dipatahkan. Kayu secang yang sudah kering kemudian digiling dengan menggunakan *disc mill*, sampai halus sehingga terbentuk serbuk.

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan cara kerja sebagai berikut; serbuk kayu secang dimasukkan ke dalam wadah botol berwarna gelap, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96%, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari terlindung dari cahaya sambil diaduk, disaring, kemudian

didapatkan maserat. Ampas dimaserasi dengan etanol 96% menggunakan prosedur yang sama. Semua maserat etanol digabungkan dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap vakum putar pada temperatur $\pm 40^\circ$ C sampai diperoleh ekstrak etanol yang kental kemudian dikeringkan menggunakan freeze dryer (Maslukhah *et al.*, 2016).

Perlakuan Pada Hewan Coba

Prosedur Perlakuan Pada Hewan Coba adalah sebagai berikut: Mencit jantan normal dibagi menjadi 4 kelompok setiap kelompok terdiri dari 6 mencit. Kelompok 1 tanpa perlakuan dan sebagai kontrol negatif. Kelompok II diberikan perlakuan pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang/hari selama 30 hari, kelompok III diberi pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang/hari dan ekstrak air kayu secang dengan dosis 30mg/BB mencit/ hari selama 30 hari, serta kelompok IV pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang/hari dan ekstrak air kayu secang dengan dosis 60mg/BB mencit/ hari selama 30 hari, pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak kayu secang selama 30 hari dan hewan coba didislokasi pada hari ke-30 kemudian dilakukan pemeriksaan darah *Reactive Oxygen Species* dan pemeriksaan histopatologi testis mencit. Hasilnya dibandingkan antara kelompok mencit perlakuan kelompok kontrol untuk setiap level dosis.

Pembuatan Preparat Histologi

Jaringan direndam ke dalam netral buffer formalin 10% kira-kira 15-20 \times volume jaringan dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya jaringan dipotong dengan ukuran 1 \times 1 \times 1 cm, kemudian dimasukkan dalam cassette jaringan. Setelah Jaringan selesai difiksasi dan dimasukkan dalam cassette, jaringan dipindahkan untuk dehidrasi dengan alkohol secara berturut-turut dengan konsentrasi alkohol 70%, 80%, 90%, 96% dengan lamanya waktu masing-masing perendaman adalah 2 jam. Tahap selanjutnya adalah clearing. Clearing

dilakukan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dengan merendam jaringan dalam xylene. Kemudian, keluarkan jaringan dari cassette. Setelah itu jaringan siap untuk dimasukkan ke dalam blok parafin. Selanjutnya dilakukan embedding atau impregnasi dan blocking. Organ ditanam pada blok yang telah disediakan kemudian disimpan dalam lemari es selama 24 jam. Setelah itu organ dipotong (*cutting*) dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Proses selanjutnya adalah organ diwarnai dengan pewarnaan Harris-Hematoksilin-Eosin (sesuai prosedur 3.4.4) (Kiernan, 1990).

Prosedur Pewarnaan Harris Hematoksilin-Eosin

Preparat diparafinisasi dalam xylol selama 3×5 menit. Kemudian didehidrasi dalam larutan alkohol 100% sebanyak 2 kali dengan durasi masing-masing 5 menit, bilas dengan aquades selama 1 menit. Lalu diinkubasikan dalam larutan Harris Hematoksilin selama 15 menit. Kemudian dicelupkan naik turun dalam aquades selama 1 menit, selanjutnya celup dalam campuran asam-alkohol secara cepat 5-7 celup. Cek diferensiasi warna di atas mikroskop, warna tidak boleh sampai pucat. Selanjutnya dibilas dalam aquades selama 1 menit, dan bilas kembali dengan aquades selama 15 menit. Lalu dicelup sebanyak 3-5 kali dalam 17 larutan ammonium atau lithium karbonat hingga potongan berwarna biru cerah dan kemudian cuci dalam air mengalir selama 15 menit. Kemudian diinkubasi dalam Eosin selama 2 menit. Selanjutnya didehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi 96%, 96%, 100%, dan 100%, masing-masing selama 3 menit, lalu diinkubasi dalam xylol selama 2 × 2 menit. Kemudian dilakukan proses mounting yaitu penutupan preparat dengan cover glass dimana digunakan permount dipakai sebagai perekat. Selanjutnya preparat histologi diamati di atas mikroskop dengan pembesaran 400x dan 1000× perempat lapang pandang yang berbeda dari tiap preparat. Selanjutnya dilakukan pencatatan

pada perubahan mikroskopis yang ditemukan.

Pemeriksaan Kadar *Reactive Oxygen Species* Eritrosit Elisa Kit

Reagen dan sampel ditaruh dalam suhu ruang dan larutan stock standard di vortex dan dispin sebelum dipakai

Persiapan Pengenceran Wash Buffer

Wash buffer conc diencerkan 30x dengan aquadest
1 ml (wash buffer conc) + 29 ml aquades = 30 ml

Prosedur Pemeriksaan Kadar *Reactive Oxygen Species* Eritrosit Elisa Kit

Dipipet 50 µl larutan standard (S5-S1) dimasukan dalam masing-masing well. Dipipet 50 µl standard diluents (sebagai blank) dimasukan dalam well. Dipipet 40 µl larutan sampel dimasukan dalam masing-masing well. Dipipet 10 µl anti-ROS antibody dimasukan dalam masing-masing well sampel. Dipipet 50 µl Streptavidin-HRP dimasukan dalam masing-masing well standard dan sampel, dihomogenkan sebentar dengan diketuk tangan. Ditutup dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Dibuka seal penutup, dibuang cairan dalam well dengan cara membalikkan well di wastafel. Well dikeringkan dengan cara well menghadap ke bawah dan diketuk di atas tissue towel. Diisi wash buffer 30 µl yang didiamkan selama 30 detik. Prosedur no 7- no 9 diulangi 4 kali (total 5x pencucian). Dipipet 50 µl substrat A dan dimasukan ke semua well. Dipipet 50 µl substrat B dan dimasukan ke semua well dalam ruangan gelap. Dihomogenkan dan diinkubasi 10 menit pada suhu 37°C dalam ruangan gelap. Dipipet 50 µl stop solution dan dimasukan ke semua well. Dibaca absorbansi pada Panjang gelombang 450nm.

Analisis Data

Analisis data untuk jumlah sel spermatogonium, spermatisit, spermatid dan kadar ROS eritrosit dianalisis menggunakan sidik ragam jika ditemukan

perubahan yang signifikan akan dilanjutkan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kayu Secang terhadap Kadar *Reactive Oxygen Species* Pada Eritrosit Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Rokok Konvensional

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kayu secang dapat menurunkan kadar ROS pada eritrosit mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional. Berdasarkan gambar 1, kelompok P1 memiliki rata-rata jumlah kadar ROS tertinggi dibandingkan kelompok lainnya, yaitu sebesar 215.806 U/mL. Sedangkan pada kelompok P0 memiliki kadar ROS rata-rata sebesar 187.923 U/mL, kemudian P2 sebesar 207.171 U/mL dan P3 sebesar 203.765 U/mL. Sedangkan menurut analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan pada semua perlakuan ($P > 0,05$).

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kayu Secang terhadap Gambaran Spermatogenesis Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Rokok Konvensional

Hasil penelitian pada pemeriksaan histopatologi spermatogenesis menunjukkan bahwa pada perlakuan P0 (kontrol) memiliki jumlah spermatogonium, spermatosit serta spermatid (gambar 3) yang paling besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada perlakuan P1 memiliki jumlah spermatogonium, spermatosit serta spermatid yang paling kecil dibandingkan perlakuan P0, P2, dan P3 (Gambar 2). Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa adanya perbedaan secara signifikan jumlah spermatogonium, spermatosit dan spermatid ($P < 0,05$) pada mencit yang diberikan perlakuan pada tiap kelompok. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa nilai spermatogonium perlakuan P0 berbeda signifikan dengan P1 dan P2 ($P < 0,01$),

sedangkan pada perlakuan P3 tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$). Untuk P1 berbeda signifikan dengan P0, P2 dan P3 ($P < 0,01$). Pada perlakuan P2 berbeda signifikan dengan P0 ($P < 0,01$), P1 ($P < 0,01$) dan P3 ($P < 0,05$). Untuk P3 tidak berbeda signifikan dengan P0 ($P > 0,05$), dan berbeda signifikan pada P1 ($P < 0,01$) serta P2 ($P < 0,05$). Nilai spermatosit perlakuan P0 berbeda signifikan dengan P1 dan P2 ($P < 0,01$), sedangkan pada P3 tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$). Pada perlakuan P1 berbeda signifikan dengan P0 ($P < 0,01$), P2 ($P < 0,05$), dan P3 ($P < 0,01$). Untuk perlakuan P2 berbeda signifikan dengan P0 ($P < 0,01$), P1 dan P3 ($P < 0,05$). Sedangkan perlakuan P3 tidak berbeda signifikan dengan P0 ($P > 0,05$), namun berbeda signifikan pada P1 ($P < 0,01$) dan P2 ($P < 0,05$). Nilai spermatid perlakuan P0 berbeda signifikan dengan P1 ($P < 0,01$), namun tidak berbeda signifikan dengan P2 dan P3 ($P > 0,05$). Pada perlakuan P1 berbeda nyata dengan semua perlakuan ($P < 0,01$). Sedangkan perlakuan P2 berbeda nyata dengan P1 ($P < 0,01$) dan tidak berbeda signifikan pada P0 dan P3 ($P > 0,05$). Dan perlakuan P3 tidak berbeda signifikan dengan P0 dan P2 ($P > 0,05$) dan berbeda signifikan dengan P1 ($P < 0,01$).

Pembahasan

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kayu Secang terhadap Kadar *Reactive Oxygen Species* Pada Eritrosit Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Rokok Konvensional

Asap rokok mengandung radikal bebas dalam jumlah tinggi, di mana dalam satu kali hisapan rokok diperkirakan terdapat sebanyak 1014 molekul radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh (Dewi *et al.*, 2019). Radikal bebas yang terbentuk dari asap rokok akan berikatan dengan oksigen reaktif yang dapat menghasilkan ROS. Komponen gas sangat berpotensi untuk menimbulkan radikal bebas atau *oksigen yang reaktif* diantaranya terdiri dari karbon monoksida, karbondioksida, hydrogen sianida dan nitrogen oksida (Dewi, 2019).

Radikal bebas mampu menyebabkan reaksi berantai hingga terjadi stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel (Andarina dan Djauhari, 2017). Asap rokok yang dihisap melalui system pernafasan akan masuk ke dalam sistem sirkulasi darah sehingga menyebabkan ROS dan stress oksidatif pada eritrosit (Maharani *et al.*, 2021). Namun di dalam tubuh memiliki antioksidan alami yang mampu menangkal adanya ROS (Pratama dan Busman, 2020). Apabila terjadi peningkatan kadar ROS, maka tubuh akan merespon dengan memproduksi enzim antioksidan untuk menetralkan ROS. Tetapi demikian masih terdapat sebagian ROS yang masih tersisa, terutama jika produksi ROS berlebihan, sehingga diperlukan antioksidan tambahan dari luar tubuh (Widayati, 2012).

Pemberian ekstrak kayu secang mampu menurunkan kadar ROS pada eritrosit mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional, namun secara statistik belum berpengaruh secara signifikan ($P > 0,05$). Hal ini disebabkan karena adanya antioksidan alami di dalam tubuh mencit tersebut yang mampu menangkal adanya ROS akibat paparan asap rokok. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat (Hafidzah *et al.* (2014) bahwa di dalam tubuh memiliki antioksidan alami yang mampu menangkal ROS. Sedangkan Parwata (2016) menyatakan bahwa enzim antioksidan adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sebagai penangkal radikal bebas seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion peroksidase (GPx). Aktivitas tertinggi SOD dan CAT salah satunya ditemukan pada darah, sedangkan GPx paling banyak di dalam sitosol hati. Pada eritrosit enzim-enzim tersebut memiliki peran yang besar, karena sel darah merah mudah sekali dirusak oleh adanya ROS (Sulastri dan Keswani, 2015). Kadar tertinggi ROS terjadi pada P1 sesuai gambar 1, karena asap rokok mampu menghasilkan ROS. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari Yudanardi *et al.*

(2016) menyatakan bahwa zat kimia pada asap rokok mengandung ROS yang mampu menyebabkan terjadinya kematian pada sel. Sedangkan Awu *et al.* (2021) menyatakan bahwa kandungan nikotin pada rokok dapat mengganggu proses respirasi seluler dalam mitokondria, sehingga menyebabkan terbentuknya ROS.

Sedangkan pada pemberian ekstrak kayu secang mendapatkan hasil yang lebih baik daripada perlakuan lainnya terhadap kadar ROS dalam eritrosit mencit tersebut (gambar 1). Hal ini dikarenakan adanya kandungan antioksidan pada ekstrak kayu secang yang bekerjasama dengan antioksidan di dalam tubuh mencit untuk menangkal adanya ROS. Utari *et al.* (2017) menyatakan bahwa kayu secang mengandung lima senyawa katif yang berperan sebagai antioksidan primer dan sekunder seperti *brazilin*, *brazilein*, *3'-O-metilbrazilin*, *sappanin*, *chalcone*, dan *sappanalcone*.

Pada mencit yang tidak dipapari rokok juga terdapat ROS, karena secara normal tubuh menghasilkan radikal bebas saat proses terjadinya respirasi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari Yunarsa dan Adiatmika (2018) bahwa secara normal dua sampai tiga persen oksigen yang dikonsumsi selama respirasi tidak direduksi secara sempurna menjadi air dan energi dalam proses rantai transport elektron di mitokondria, sehingga menyebabkan terbentuknya ROS. Jeni *et al.* (2016) juga menyatakan bahwa secara normal tubuh menghasilkan radikal bebas seperti ROS.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kayu Secang terhadap Gambaran Spermatogenesis Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Rokok Konvensional

Berdasarkan hasil analisis data didapatkan bahwa terjadi penurunan jumlah spermatogonium, spermatosit dan spermatid secara bermakna pada testis mencit yang diberi perlakuan asap rokok (P1) dibandingkan dengan kontrol (P0). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Unitly *et al.* (2014) yang

menyatakan bahwa pemberian asap rokok dapat menyebabkan penurunan jumlah sel-sel spermatogenic (spermatogonium, spermatid dan spermatisit). Sedangkan Hargono *et al.* (2013) menyatakan bahwa pemaparan rokok sebanyak 2 batang/hari menyebabkan berkurangnya jumlah sel-sel spermatogenic tubulus seminiferous testis mencit. Sari (2014) menyatakan bahwa asap rokok dapat menghambat proses spermatogenesis secara nyata yang ditandai dengan penurunan spermatogonium, spermatid dan spermatisit. Penurunan spermatogonium, spermatisit dan spermatid mencit jantan yang dipapari asap rokok, disebabkan adanya radikal bebas dan kandungan kimia pada asap rokok yang dapat mengganggu proses terjadinya spermatogenesis. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Permatasari (2014) menyatakan bahwa radikal bebas dan kandungan nikotin pada rokok dapat mengganggu proses spermatogenesis.

Radikal bebas yang terdapat pada asap rokok dapat menyebabkan stress oksidatif yang mengganggu seluruh organ di dalam tubuh. Radikal bebas yang terbentuk melalui asap rokok yang telah dihirup akan memasuki darah kemudian menyebar ke seluruh tubuh termasuk ke organ genital dan menyebabkan stress oksidatif pada testis dan penurunan jumlah spermatozoa (Yuniarifa *et al.*, 2020). Tubuh sebenarnya memiliki antioksidan endogen yang mampu menangkal radikal bebas yang masuk, namun enzim antioksidan seperti CAT dan glutathion dideteksi rendah pada organ testis, sehingga sangat rentan terhadap serangan radikal bebas yang berlebihan (Gupta *et al.*, 2020). Mandasari *et al.* (2019) menyatakan bahwa radikal bebas yang berlebihan akan mengganggu proses spermatogenesis. Radikal bebas dapat merusak membrane sel mitokondria yang berfungsi menghasilkan ATP yang diperlukan untuk biosintesis testoteron dan sel Leydig dalam proses spermatogenesis. Apabila mitokondria terganggu maka proses spermatogenesis juga akan terganggu (Yuliyantika *et al.*, 2019).

Selain radikal bebas, senyawa nikotin yang terkandung pada asap rokok dapat menstimulasi medulla adrenal untuk melepaskan katekolamin yang mampu mempengaruhi system saraf pusat sehingga mengganggu proses pembentukan hormone testoteron dan spermatogenesis (Batubara *et al.*, 2013). Putra (2014) menyatakan bahwa bahan karsinogen pada asap rokok seperti tar dapat meningkatkan apoptosis khususnya pada sel spermatogonium. Kandungan logam kadmiun dan nikel dalam asap rokok mampu mengganggu aktifitas enzim adenyl siklase pada membrane sel Leydig sehingga mengakibatkan terhambatnya sintesis hormone testoteron (Amarudin, 2012).

Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa adanya perbedaan jumlah spermatogonium, spermatisit dan spermatid ($P < 0,05$) pada mencit yang diberikan perlakuan pada tiap kelompok. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa nilai spermatogonium dan spermatisit perlakuan P0 berbeda signifikan dengan P1 dan P2 ($P < 0,01$), sedangkan pada perlakuan P3 tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$). Untuk spermatid perlakuan P0 berbeda signifikan dengan P1 ($P < 0,01$), namun tidak berbeda signifikan dengan P2 dan P3 ($P > 0,05$). Hasil ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak kayu secang berpengaruh terhadap jumlah spermatogonium, spermatisit serta spermatid mencit yang dipapari asap rokok. Hal ini sesuai dengan penelitian Ernawati dan Nurliani (2012) yang menyatakan bahwa pemberian dosis ekstrak etanol bulbus bawang dayak (*E. americana*) dengan dosis 60 mg/KgBB dan 90 mg/KgBB dapat meningkatkan jumlah sel spermatid yang menurun akibat radikal bebas dari paparan asap rokok. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Ikhwan *et al.* (2020) membuktikan bahwa pemberian ekstrak semangka merah (*Citrus vulgaris*) terhadap mencit (*Mus musculus*) yang dipapari asap rokok tidak berpengaruh terhadap peningkatan

konsentrasi dan motilitas spermatozoa mencit ($P>0,05$), namun berpengaruh terhadap menurunkan jumlah morfologi abnormalitas spermatozoa sangat signifikan ($P<0,01$).

Kayu secang merupakan tanaman yang kaya akan kandungan antioksidannya. Senyawa antioksidan yang terkandung pada kayu secang adalah brazilin, flavonoid dan terpenoid (Sari dan Suharti, 2016). Flavonoid berperan sebagai antioksidan primer, chelator, dan superoxide anion scavenger serta memiliki antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan vitamin E, C dan glutathion (Kurniati dan Nugraheni, 2019). Sifat antioksidan flavonoid terutama berperan terhadap radikal hidroksil, anion superoksida, dan radikal peroksil (Latumahina *et al.*, 2011). Flavonoid memiliki gugus hidroksil (-OH) sehingga dapat menangkal radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogennya sehingga menjadi stabil (Maanari *et al.*, 2014). Sucita *et al.* (2019) menyatakan bahwa senyawa fenolik yang terkandung pada kayu secang juga membantu senyawa brazilin dan flavonoid dalam mencegah reaksi oksidasi dengan cara menghentikan rekasi berantai akibat timbulnya radikal bebas. Selain berfungsi sebagai antioksidan, senyawa brazilin juga mampu menurunkan apoptosis pada sel (Qi *et al.*, 2021 dalam Syamsunarno *et al.*, 2021). Kandungan-kandungan tersebut pada kayu secang yang mampu mencegah penurunan spermatogonium, spermatosit dan spermatid pada mencit jantan pasca paparan dengan asap rokok.

Jumlah spermatogonium, spermatosit dan spermatid pada perlakuan P3 hampir sama dengan jumlah pada perlakuan P0. Hal ini diakarenakan ekstrak kayu secang dengan dosis 60mg/BB mencit/hari memberi peran protektif terhadap spermatogonium, spermatosit dan spermatid yang lebih baik karena senyawa antioksidan yang lebih banyak sehingga mampu menyeimbangkan produksi radikal bebas di dalam tubuh akibat terpapar asap

rokok konvensional. Pernyataan tersebut didukung oleh hasil penelitian Latumahina *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa pemberian larutan madu dengan dosis 0,4ml/20gBB memberi pengaruh yang lebih efektif terhadap aktivitas radikal bebas asap rokok kretek pada sel pankreas dibandingkan dosis 0,2ml/20gBB.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut: Pemberian ekstrak kayu secang mampu menurunkan kadar ROS pada eritrosit mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional, namun secara statistik belum berpengaruh secara signifikan ($P>0,05$) dan pemberian ekstrak kayu secang dengan dosis 60mg/30g BB mencit/hari memberi pengaruh yang lebih efektif terhadap gambaran spermatogenesis mencit jantan pasca paparan asap rokok konvensional dibandingkan dosis 30mg/30g BB

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh ekstrak kayu secang terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pasca paparan asap rokok konvensional. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap kadar ROS pada organ testis mencit yang dipapari asap rokok konvensional. Secara ilmiah, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek ekstrak kayu secang terhadap ROS atau jalur molekuler lainnya untuk mengetahui secara pasti mekanisme kerjanya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, kedua orang tua, kakak saya, Kepala Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Kepala Laboratorium Biomedik Terpadu, Divisi Biokimia dan Biologi Molekuler, Universitas Udayana, serta

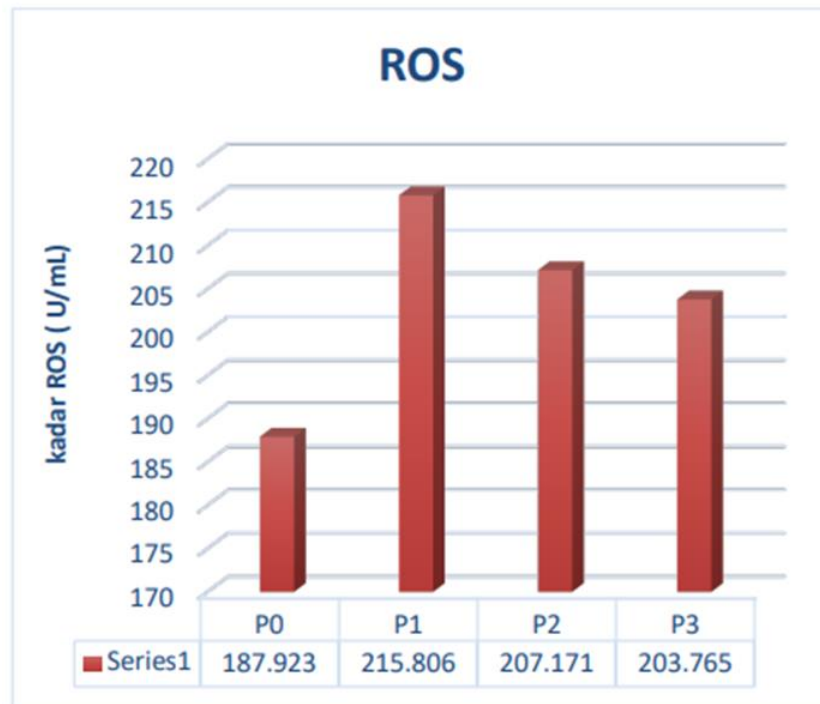
semua pikak yang telah membantu dan penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

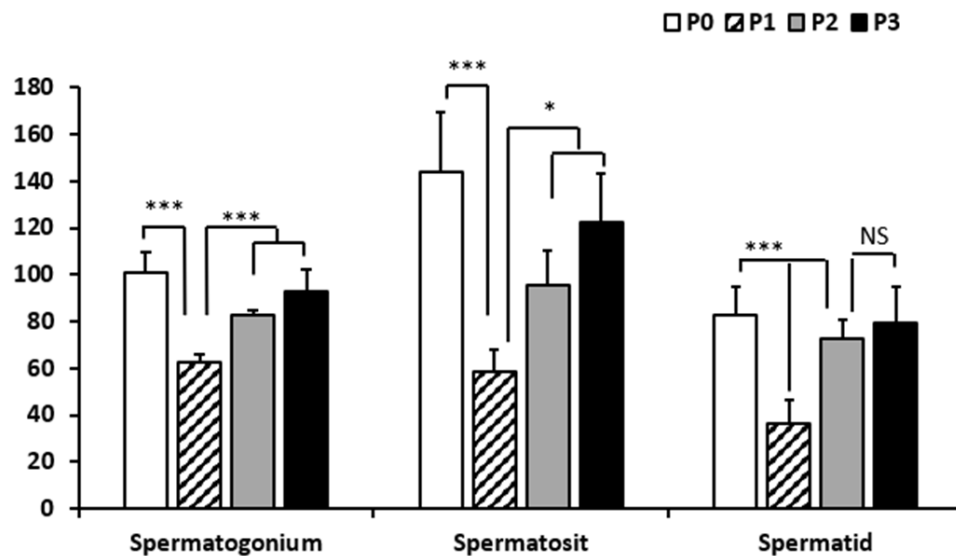
- Adelati S, Juniarto AZ, Miranti IP. 2016. Histopatologi spermatogenesis testis tikus wistar diabetes melitus. *J. Ked. Diponegoro*. 5(4): 1760-1769.
- Amarudin. 2012. Pengaruh merokok terhadap sperma pada pria dengan masalah infertilitas studi kasus kontrol di Jakarta Tahun 2011. *Tesis*. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Program Pasca Sarjana, Universitas Indonesia. Depok.
- Ambarwati, Khoirotul A, Kurniawati F, Diah TK, Darojah S. 2014. Media leaflet, video dan pengetahuan siswa SD tentang bahaya merokok (Studi Pada Siswa SDN 78 Sabrang Lor Mojosongo Surakarta). *J. Kes. Mas*. 10(1): 7-13.
- Andarina R, Djauhari T. 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*. 4(1): 39-48.
- Arief YS. 2011. Stres dapat mengganggu proses spermatogenesis pada mencit. *J. Ners*. 6(2): 169-174.
- Arnanda QP, Nurwarda RF. 2019. Review article: Penggunaan radiofarmaka teknesium-99m dari senyawa glutation dan senyawa flavonoid sebagai deteksi dini radikal bebas pemicu kanker. *Farmaka*. 17(2): 236-243.
- Awu FD, Purwanto DS, Mewo YM. 2021. Pengaruh pemberian vitamin c terhadap kualitas spermatozoa yang terpapar asap rokok. *J. eBiomedik*. 9(2): 240-247.
- Batubara IVN, Wantouw B, Tendean L. 2013. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus Musculus*). *J. e-Biomedik*. 1(1): 330-337.
- Dewi RDS. 2019. Bila bukan asap rokok. *BIMFI*. 6(2): 1-5.
- Dewi SK, Lokapirnasari WP, Meles DK, Mustofa I, Mafruchati M, Hamid IS. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak kulit pisang kepok (*musa acuminata*) terhadap penurunan kadar malondialdehid (mda) paru mencit jantan (*mus musculus*) yang dipapar asap rokok. *J. Basic Med. Vet*. 8(2): 123-130.
- Djaelani MA. 2012. Konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus Musculus*) Swiss Webster L. setelah pemberian serbuk rimpang kunyit (*Curcuma Domestica*) dengan dosis kronik. *Bul. Anatom. Fisiol*. 18(2): 1-10.
- Ernawati, Nurliani A. 2012. Efek antioksidan ekstrak etanol bulbus bawang dayak (*Eleutherine Americana Merr.*) terhadap struktur mikroanatomi tubulus seminiferus testis tikus yang dipapar asap rokok. *Sains Terapan Kimia*. 6(2): 93-100.
- Failisnur F, Sofyan S, Silfia S. 2019. Ekstraksi kayu secang (*Caesalpinia Sappan* Linn) dan aplikasinya pada pewarnaan kain katun dan sutera. *J. Litbang Industri*. 9(1): 33-40.
- Febriyent, Suharti N, Lucida H, Husni E, Sedona O. 2018. Karakterisasi dan studi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol secang (*Caesalpinia Sappan L.*). *J. Sains Farmasi Klin*. 5(1): 23-27.
- Fitria, Triandhini RINKR, Mangimbulude JC, Karwur FF. 2013. Merokok dan oksidasi DNA. *Sains Med*. 5(2): 113-120.
- Ganesha IGH, Linawati NI, Satriyasa BK. 2020. Pemberian ekstrak etanol kubis ungu (*Brassica Oleraceae L.*) menurunkan kadar malondialdehid dan jumlah makrofag jaringan paru tikus yang terpapar asap rokok. *J. Ilmiah Medicamento*. 6(1): 1-9.
- Gupta S, Finelli R, Agarawal A. 2020. Total antioxidant capacity—relevance, methods and clinical implications. *Andrologia*. 53(2): 13264.
- Idrus HRA, Iswahyudi, Wahdaningsih S. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang mekah (*Eleutherine Americana Merr.*) terhadap gambaran histopatologi paru tikus (*Rattus Norvegicus*) wistar jantan

- pasca paparan asap rokok. *JFFI*. 1(2): 51-60.
- Handayani V, Ahmad AR, Sudir M. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun Patikala (*Etlintera Elatior* (Jack) R.M.Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharm. Sci. Res.* 1(2): 86-93.
- Hargono FR, Lintong PM, Kairupan CF. 2013. Gambaran histopatologik testis mencit swiss (*Mus musculus*) yang diberi kedelai (*Glycine max*) dan paparan dengan asap rokok. *J. e-Biomedik.* 1(2): 824-829.
- Herdiani N, Putri EP. 2018. Gambaran histopatologi paru tikus wistar setelah diberi paparan asap rokok. *Med. Health Sci. J.* 2(2): 7-14.
- Yunarsa IPPA, Adiatmika IPG. 2018. Kadar antioksidan superoksida dismutase (SOD) hati tikus pada aktivitas fisik berat. *E-J. Med. Udayana.* 7(4): 143-147.
- Ikhwan A, Hamdan, Rosmaidar. 2020. Pengaruh ekstrak semangka merah (*Citrullus vulgaris*) pada kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok. *JIMVET.* 4(1): 19-29.
- Khaira K. 2010. Menangkal radikal bebas dengan antioksidan. *J. Sainstek.* 2(2): 183-187.
- Kurnia AP, Permatasari N, Subandi. 2011. Pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap mda dan sel spermatogonium tikus yang dipapar asap rokok kretek subakut. *J. Ked. Brawijaya.* 26(3): 161-165.
- Kurniati ID, Nugraheni DM. 2019. Efektivitas pemberian ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura*) terhadap rasio berat testis pada tikus yang dipapar asap rokok. *Med. Arteriana.* 1(1): 15-21.
- Latumahina GJ, Kakisina P, Moniharapon M. 2011. Peran madu sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan pankreas mencit (*Mus Musculus*) terpapar asap rokok kretek. *Molucca Med.* 4(1): 106-116.
- Nurrahmah. 2014. Pengaruh rokok terhadap kesehatan dan pembentukan karakter manusia. *Proc. Seminar Nasional Universitas Cokroaminoto Palopo.* 1(1): 77-84.
- Maanari CP, Suryanto E, Pontoh J. 2014. Aktivitas penangkal radikal hidroksil fraksi flavonoid dari limbah tongkol jagung pada tikus wistar. *J. Mipa Unsrat Online.* 3(2): 134-138.
- Maharani NS, Sari FK, Damayanti AY. 2021. Pengaruh daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap perubahan eritrosit dan hematokrit pada tikus wistar yang dipajan asap rokok. *J. Food Agric. Prod.* 1(2): 49-57.
- Mandasari AA, Asiyah ST, Lintang K. 2019. Perubahan kualitas sperma mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok elektrik. *J. Trop. Biol.* 3(2): 122-128.
- Mauliza D, Rusli, Roslizawaty, Rosmaidar, Rinidar, Masyitha D. 2018. The total of leukocytes mice (*Mus Musculus*) exposed to secondhand smoke extract and given watermelon (*Citrullus Vulgaris*). *J. Med. Vet.* 12(1): 48-52.
- Nita S, Hayati L, Subandrate. 2019. Mekanisme antifertilitas fraksi biji pepaya pada tikus jantan. *Sriwijaya J. Med.* 2(1): 52-58.
- Parwata IMO. 2016. Antioksidan. *Bahan Ajar. Kimia Terapan, Program Pascasarjana, Universitas Udayana.*
- Permatasari AAAP. 2014. Pemberian vitamin C mempertahankan proses spermatogenesis dan jumlah sel leydig pada mencit (*Mus Musculus*) yang mendapat paparan asap rokok. *Proc. Seminar Nasional Prodi Biologi F. MIPA UNHI.*
- Pratama AN, Busman H. 2020. Potensi antioksidan kedelai (*Glycine Max L*) terhadap penangkapan radikal bebas. *J. Ilm. Kes. Sandi Husada.* 11(1): 497-504.
- Putra Y. 2014. Pengaruh rokok terhadap jumlah sel spermatozoa mencit jantan

- (Mus Musculus, Strain Jepang). *J. Sainstek*. 6(1): 30-42.
- Rahimah SB, Sastramiharja HS, Sitorus TD. 2010. Efek antioksidan jamur tiram putih pada kadar malondialdehid dan kepadatan permukaan sel paru tikus yang terpapar asap rokok. *Maj. Ked. Bandung*. 42(2): 195-202.
- Rahman S, Kosman R, Wijaya II. 2015. Uji efek hipolipidemik ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia Sappan* L.) terhadap tikus wistar (*Rattus Norvegicus*) jantan. *As-Syifaa*. 7(2): 103-113.
- Rizaldy AB, Afriwardi, Sabri YS. 2016. Hubungan perilaku merokok dengan ketahanan kardiorespirasi (ketahanan jantung-paru) siswa SMKN I Padang. *J. Kes. Andalas*. 5(2): 325-329.
- Sari PD. 2014. Effect of cigarette smoke in quality and quantity spermatozoa. *J. Majority*. 3(7): 102-106
- Sari R, Suhartati. 2016. Secang (*Caesalpinia Sappan* L.): Tumbuhan herbal kaya antioksidan. *Info Teknis Eboni*. 13(1): 57-67.
- Sinaga FA. 2016. Stress oksidatif dan status antioksidan pada aktivitas fisik maksimal. *J. Generasi Kampus*. 9(2): 176-189.
- Sucita RE, Hamid S, Fikri F, Purnama MTE. 2019. Ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) secara topikal efektif pada kepadatan kolagen masa penyembuhan luka insisi tikus putih. *J. Med. Vet*. 2(2): 119-126.
- Sulastris D, Keswani. 2015. Pengaruh pemberian isoflavon terhadap jumlah eritrosit dan aktivitas enzim katalase tikus yang dipapar sinar ultraviolet. *Maj. Ked. Andalas*. 33(2): 169-178.
- Syamsunarno MRAA, Safitri R, Kamisah Y. 2021. Protective effects of *caesalpinia sappan* linn. and its bioactive compounds on cardiovascular organs. *Front. Pharmacol*. 12: 725-745.
- Unitly AJA, Kusumorini N, Agungpriyono S, Satyaningtijas AS, Boediono A. 2014. Perubahan kualitas spermatozoa dan jumlah sel-sel spermatogenik tikus yang terpapar asap rokok. *J. Kedokteran Hewan*. 8(2): 116-119.
- Utari FB, Sumirat, Djaeni M. 2017. Produksi antioksidan dari ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) menggunakan pengering berkelembaban rendah. *J. Apl. Teknol. Pangan*. 6(3): 1-4.
- Werdhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *J. Biotek Med. Indon*. 3(2): 59-68.
- Widayati E. 2012. Oxidasi biologi, radikal bebas, dan antioxidant. *Maj. Ilmiah Sultan Agung*. 50(128): 1-7.
- Yudanardi MRR, Setiawan AA, Sofia. 2016. Hubungan tingkat adiksi merokok dengan derajat keparahan aterosklerosis pada pasien penyakit jantung koroner. *J. Ked. Diponegoro*. 5(4): 1207-1213.
- Yuliyantika, Iswari RS, Marianti A. 2019. Daya proteksi ekstrak tauge kacang hijau terhadap kualitas spermatozoa dan kadar enzim superoksida dismutase mencit yang terpapar transfluthrin. *Life Sci*. 8(2): 138-149.
- Yuniarifa C, Wibowo JK, Nasihun T. 2020. Effect of four antioxidants combination on number of sertoli and leydig cells, sperm quality and caspase-3 expression in rat exposed to cigarette smoke. *Sains Med*. 10(2): 81-88.

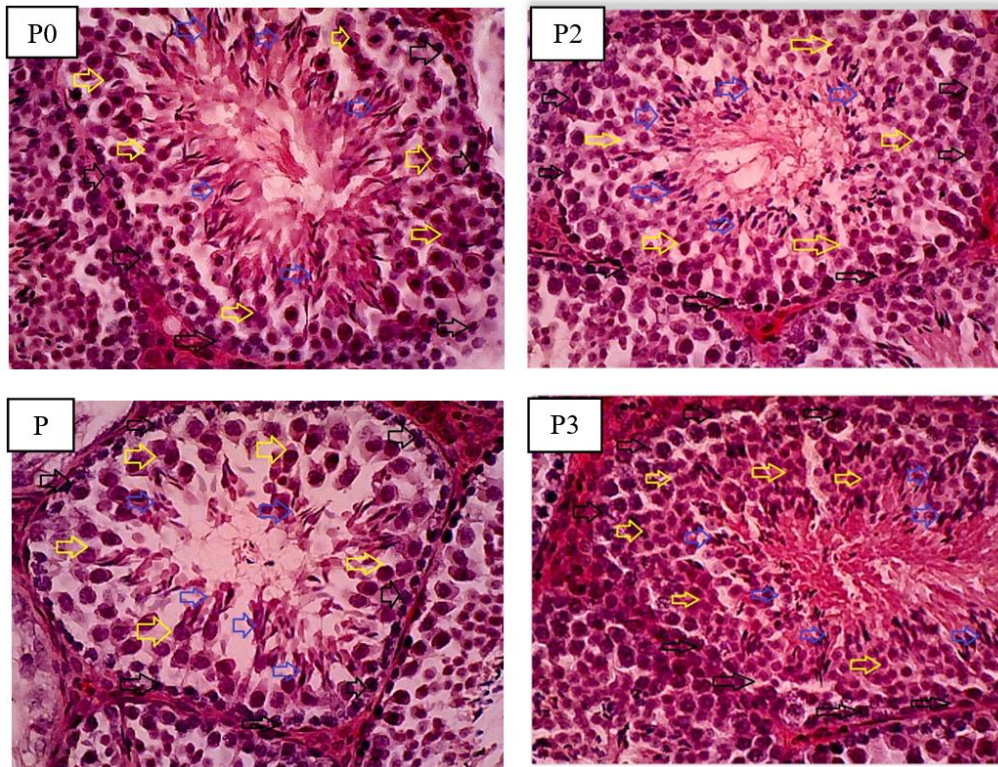


Gambar 1. Diagram kadar ROS pada eritorist mencit jantan (Sumber: Laboratorium Biomedik Terpadu, Divisi Biokimia dan Biologi Molekuler, Universitas Udayana)



Keterangan: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, NS = Not Signifikan

Gambar 2. Grafik jumlah spermatogonium, spermatosit dan spermatid pada berbagai perlakuan



Gambar 3. Perbandingan Gambaran Spermatogenesis Pada Semua Perlakuan. Pewarnaan HE dengan pembesaran 400x