



**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT *Balb/c* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Radita Surya Arindia**  
**NIM 122210101055**

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2017**



**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT *Balb/c* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

**SKRIPSI**

diajukan untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh  
**Radita Surya Arindia**  
**NIM 122210101055**

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2017**

## **PERSEMBAHAN**

Segala puji syukur kepada Allah SWT, atas segala rahmat dan hidayah-Nya, saya persembahkan skripsi ini untuk :

1. Ibunda Subaidah, Ayahanda Slamet, adikku Maulana ishak dan Ana Muslimah Azkina serta suamiku Achmad Tsauban Muttaqin, atas segala curahan kasih sayang, dukungan, nasihat dan doa selama penulis menempuh studi.
2. Guru-guru sejak TK hingga perguruan tinggi yang saya hormati, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
3. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

## **MOTTO**

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”

(QS. Al-Baqarah: 216)

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Radita Surya Arindia

NIM : 122210101055

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : “PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*PHOENIX DACTYLIFERA*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN *BALB/C* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi yang telah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Januari 2017

Yang menyatakan,

Radita Surya Arindia

122210101055

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*)  
TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA  
MENCIT *Balb/c* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh :

Radita Surya Arindia

NIM 122210101055

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm.

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit *Balb/c* yang Dipapar Asap Rokok” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Kamis, 19 Januari 2017

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm.  
NIP 198404062009122008

Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm.  
NIP 197812212005012002

Tim Penguji :

Penguji I,

Penguji II,

Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP.198403082008012003

Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt  
NIP.195910271998021001

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.  
NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermaozoa Mencit *Balb/c* yang Dipapar Asap Rokok;** Raditas Surya Arindia; 122210101055; 51 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Merokok merupakan salah satu kebiasaan yang dapat berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Setiap tahun, jumlah perokok di dunia akan terus bertambah karena terjadi peningkatan jumlah populasi. Menurut WHO, penggunaan rokok di dunia sebanyak 32,9% pria dan 18,4% wanita dari total penduduk di dunia. Merokok dapat menyebabkan penyakit seperti infertilitas. Asap rokok mengandung berbagai bahan kimia antara lain nikotin, karbon monoksida, tar yang dapat memicu radikal bebas. Radikal bebas yang mengalami peningkatan disebut sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS memiliki efek didalam spermatozoa yaitu dapat merusak *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan apoptosis sel spermatozoa. Paparan asap rokok juga menyebabkan aglutinasi spermatozoa sehingga berakibat terhadap menurunnya motilitas spermatozoa.

Senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat kerusakan sel disebut antioksidan. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tanaman kurma (*Phoenix dactylifera*). Buah kurma memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Hal ini diduga karena buah kurma mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan, diantaranya adalah karoten, flavonoid, dan asam fenolik. Ekstrak buah kurma diketahui memiliki aktivitas antioksidan seperti dapat menurunkan radikal DPPH, superoksida dan hidroksil serta menghambat peroksidasi lemak dan oksidasi protein. Di pasaran sari buah kurma lebih banyak ditemukan dibandingkan ekstrak kurma. Namun, penelitian tentang aktivitas antioksidan dari sari buah kurma sebagai mekanisme proteksi dari radikal bebas yang dapat merusak organ dalam tubuh masih terbatas. Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian ini yang



bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah kurma terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit *Balb/c* setelah terpapar asap rokok.

Penelitian dilakukan menggunakan jenis penelitian *true experimental laboratories* dan rancangan penelitian *post test only-control group design* dengan mencit sebagai subjek penelitian. Dua puluh empat ekor mencit jantan *Balb-c* dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok normal (KN), kontrol negatif (K(-)), kontrol positif (K(+)), perlakuan dosis I (K1), perlakuan dosis II (K2), dan perlakuan dosis III (K3). Setiap hari, empat ekor mencit dalam tiap kelompok ditempatkan pada *smoking chamber* dan dipapar asap rokok satu batang/hari melalui *smoking pump*. Tiga puluh menit setelah pemaparan, K(-) diberikan akuades, K(+) diberikan vitamin C 60 mg/kgBB, K1 diberikan sari buah kurma dosis 5 ml/kgBB, K2 diberikan sari buah kurma dosis 10 ml/kgBB, dan K3 diberikan sari buah kurma dosis 20 ml/kgBB secara per oral, sedangkan KN dipapar dengan udara luar kemudian diberikan akuades. Pada hari ke-15, mencit dikorbankan dan diambil semen nya pada bagian epididimis. Semen yang didapat dianalisis kuantitas dan kualitasnya.

Data yang didapat berupa persentase perhitungan kuantitas (jumlah spermatozoa) dan kualitas (motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa). Dari keseluruhan hasil, kelompok negatif memiliki hasil paling rendah sedangkan sari buah kurma dosis 20 ml/kgBB memiliki hasil paling tinggi. Data yang didapat dianalisis menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian sari buah kurma terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa yang dipapar asap rokok.

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT *balb/c* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan pendidikan strata satu (S1) Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Anggota sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt dan Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis selama menempuh studi;
5. Ayahanda Slamet, Ibunda Subaidah dan saudaraku Maulana Ishak dan Ana Muslimah Azkina serta suamiku Achmad Tsauban Muttaqin, yang telah memberikan curahan kasih sayang, bimbingan, dukungan, doa dan segalanya yang tiada henti;

6. Mbak Indri dan Mbak Dini selaku teknisi di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi atas segala bantuan yang diberikan untuk menyelesaikan penelitian ini.
7. Rekan kerja dalam penelitian ini, Ayu dan Hawwin, yang telah memberikan bantuan, dukungan, semangat dan kerjasama terbaik dalam penelitian ini;
8. Sahabat-sahabatku di kos Pak Atim, Nurlaila, Dilaisni, Mbak devi, Mbak Lia atas segala dukungan dan semangat selama menempuh studi ini;
9. Sahabat-sahabatku Hani, Nili, Amel, Dessy, Nunung, Firoh, dan Nandin atas segala doa, bantuan, dukungan dan semangat dalam selama menempuh studi;
10. Keluarga besar Petrok Rolas FF UNEJ 2012 atas persaudaraan, semangat dan doa kalian;
11. Guru-guru yang terhormat dari mulai taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi atas ilmu yang diberikan;
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung atas bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 19 Januari 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA .....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang Masalah .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang Rokok.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Tinjauan tentang Radikal Bebas .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Tinjauan tentang Antioksidan .....</b>	<b>9</b>
<b>2.4 Tinjauan tentang Vitamin C .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Sistem Reproduksi Mencit (<i>Mus musculus</i>) Jantan.....</b>	<b>11</b>
2.4.1    Organ-organ Reproduksi Mencit Jantan .....	12
2.4.2    Spermatogenesis.....	14
<b>2.5 Hubungan Asap Rokok dan Infertilitas.....</b>	<b>16</b>
<b>2.6 Analisis Semen.....</b>	<b>17</b>
<b>2.7 Tinjauan tentang Kurma .....</b>	<b>19</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>

<b>3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	22
3.1.1    Jenis Penelitian .....	22
3.1.2    Tempat Penelitian.....	22
3.1.3    Waktu Penelitian .....	22
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	22
<b>3.3 Jumlah Sampel</b> .....	23
<b>3.4 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	24
3.4.1    Alat .....	24
3.4.2    Bahan.....	24
<b>3.5 Variabel Penelitian</b> .....	24
3.5.1    Variabel Bebas .....	24
3.5.2    Variabel Terikat.....	25
3.5.3    Variabel Terkendali.....	25
<b>3.6 Definisi Operasional</b> .....	25
<b>3.7 Prosedur</b> .....	25
3.7.1    Penyiapan Hewan Coba .....	25
3.7.2    Pengenceran Sari Buah Kurma .....	26
3.7.3    Perlakuan Hewan Coba .....	26
3.7.4    Perhitungan Jumlah Spermatozoa .....	26
3.7.5    Perhitungan Motilitas Spermatozoa .....	27
3.7.6    Perhitungan Viabilitas Spermatozoa .....	27
3.7.7    Perhitungan Morfologi Spermatozoa .....	28
<b>3.8 Analisis Data</b> .....	28
<b>3.9 Alur Penelitian</b> .....	30
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	31
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	31
4.1.1    Kuantitas Spermatozoa.....	31
4.1.2    Kualitas Spermatozoa.....	32
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	38
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	43
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	43

<b>5.2 Saran</b> .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	44
<b>LAMPIRAN</b> .....	52

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Vitamin C .....	11
2.2 Sistem reproduksi mencit jantan .....	12
2.3 Spermatogenesis.....	14
2.4 Kelainan morfologi spermatozoa .....	18
3.1 Skema rancangan penelitian.....	22
3.2 Kerangka kerja percobaan.....	30
4.1 Jumlah Spermatozoa .....	31
4.2 Motilitas Spermatozoa .....	33
4.3 Viabilitas Spermatozoa Hidup dan Mati.....	34
4.4 Viabilitas Spermatozoa .....	35
4.5 Morfologi Spermatozoa Abnormal .....	36
4.6 Morfologi Spermatozoa .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
5.1 Perhitungan Dosis Bahan Uji yang Diberikan pada Hewan Coba.....	52
5.2 Perhitungan Pengenceran Bahan Uji.....	53
5.3 Hasil Pengamatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa .....	54
5.4 Hasil Analisis Data.....	56
5.5 Dokumentasi .....	63



## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Merokok telah menjadi salah satu kebiasaan yang dapat berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Kebiasaan ini tidak hanya dilakukan pria dewasa tetapi juga wanita dan anak-anak. Setiap tahun, jumlah perokok di dunia akan terus bertambah karena terjadi peningkatan jumlah populasi. Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2013, penggunaan rokok di dunia sebanyak 32,9% pria dan 18,4% wanita dari total penduduk di dunia. Lebih dari 80% perokok di seluruh dunia berada di negara berkembang. Pada tahun 2008, jumlah konsumen rokok di Indonesia menduduki peringkat ketiga terbesar di dunia setelah Cina dan India (WHO, 2008). Prevalensi perokok aktif di Indonesia pada tahun 2010 sebesar 64,9% pria dan 2,1% wanita (BPPK, 2013). Perilaku merokok penduduk Indonesia cenderung meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 dan menjadi 36,3% pada tahun 2013. Tingginya jumlah perokok aktif berbanding lurus dengan jumlah perokok pasif yang terpapar asap rokok orang lain (WHO, 2013).

Asap rokok terdiri atas asap utama (*main stream smoke*) yaitu asap tembakau yang dihirup langsung oleh perokok melalui mulut dan asap sampingan (*side stream smoke*) yaitu asap dari ujung rokok yang terbakar dan asap yang disebarkan ke udara bebas oleh perokok. Asap sampingan inilah yang akan dihirup orang lain atau yang disebut perokok pasif (Sitepoe, 2000). Perokok pasif jauh lebih berbahaya dibandingkan perokok aktif karena perokok pasif tidak memiliki filter dalam menyerap seluruh asap rokok yang dikeluarkan perokok aktif (Nururrahmah, 2014). Komponen asap rokok seperti nikotin, tar dan karbon monoksida dapat memicu terbentuknya radikal bebas pada berbagai sel tubuh dan dapat menyebabkan terjadinya reaksi berantai yang dapat menyebar ke seluruh sel sehingga terjadi kerusakan sel (Rahmi, 2012).

Merokok dapat merugikan kesehatan karena mengakibatkan banyak penyakit seperti penyakit paru, penyakit jantung, penyakit pada sistem respirasi,

kanker, impotensi, dan infertilitas pada pria (Sitepoe, 2000). Penelitian menyatakan bahwa ditemukan sejumlah besar *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sampel cairan semen dari 25% hingga 40% pria infertil, ini membuktikan adanya ROS yang berlebihan di dalam saluran reproduksi jantan dapat mengakibatkan kerusakan fungsi sperma sehingga menyebabkan infertilitas (Agarwal dan Saleh, 2002).

Infertilitas adalah suatu keadaan yang dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah kualitas spermatozoa yang kurang baik (Agarwal, 2005). Penurunan kualitas spermatozoa terjadi karena peningkatan ROS atau stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) spermatozoa dan peningkatan apoptosis spermatozoa (Agarwal dan Said, 2005). Stres oksidatif juga dapat menyebabkan kerusakan membran spermatozoa (Fitriani *et al*, 2010). Ada pula penelitian yang dilakukan oleh Agarwal *et al*. (2003), yang menyatakan bahwa radikal bebas dapat menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa karena terjadinya aglutinasi spermatozoa. Penurunan kualitas spermatozoa dapat menyebabkan berkurangnya jumlah spermatozoa normal karena terganggunya proses spermatogenesis (Putra, 2014).

Pembentukan senyawa radikal bebas yang tidak segera dinetralkan oleh antioksidan dapat menimbulkan terjadinya stres oksidatif. Senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat kerusakan sel disebut antioksidan (Idrus *et al.*, 2014). Secara fisiologis sebenarnya tubuh sudah mempersiapkan diri untuk menangkal radikal bebas dengan tersedianya antioksidan (Hariyatmi, 2004). Akan tetapi, dengan peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh, maka perlu adanya asupan antioksidan tambahan. Senyawa antioksidan diantaranya adalah flavonoid,  $\beta$ - karoten, vitamin E, vitamin C, bilirubin, dan albumin (Gheldof *et al.*, 2002). Zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium (Se) juga berperan sebagai antioksidan.

Salah satu tanaman yang mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan yaitu tanaman kurma (Primurdia dan kusnadi, 2014). Secara umum kurma banyak mengandung gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, sukrosa dan

serat namun rendah lemak dan protein. Kurma juga mengandung vitamin seperti riboflavin, thiamin, biotin, folat dan asam askorbat serta kaya akan besi, kalsium, magnesium, zink (Ateeq *et al.*, 2013). Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah karoten, flavonoid dan asam fenolik (Al-Farsi *et al.*, 2005; Biglari *et al.*, 2008).

Penelitian tentang aktivitas antioksidan pada kurma secara *in vitro* dilakukan pertama kali oleh Vayalil (2002), yang menyatakan bahwa ekstrak air buah kurma dapat menangkap radikal superoksida dan hidroksil serta dapat menghambat 50% peroksidasi lemak dan oksidasi protein. Menurut Al-Farsi *et al.* (2005) ekstrak buffer fosfat buah kurma memiliki kapasitas absorbansi radikal oksigen sebesar 11687-20604  $\mu\text{mol Trolox equivalents per gram}$  (TE/g). Penelitian lain menyebutkan ekstrak etil asetat buah kurma dapat menghambat 54% pembentukan radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) karena tingginya kadar flavonoid dan tanin (Chaira *et al.*, 2007). Penelitian secara *in vivo* pada hewan, menyatakan bahwa penggunaan *p-coumaric acid* yang terdapat pada kurma dapat meningkatkan ekspresi gen enzim antioksidan pada jaringan jantung tikus (Yeh *et al.*, 2008). Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mehraban *et al.* (2014), suspensi serbuk kurma dalam air yang terdestilasi dapat meningkatkan parameter fertilitas (jumlah sperma dan motilitas, *luteinizing hormone* (LH), tingkat testosteron dan estradiol, diameter tubulus seminiferus) pada tikus.

Saat ini banyak produk sari kurma yang beredar di pasaran, sehingga mudah didapatkan dan dikonsumsi oleh masyarakat jika dibandingkan dengan ekstrak buah kurma. Menurut penelitian Hardinsyah *et al* (2013), sari buah kurma juga memiliki kandungan total antioksidan yang tinggi. Namun demikian, pengujian aktivitas antioksidan sari buah kurma masih terbatas. Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk membuktikan apakah kandungan antioksidan pada sari buah kurma dapat mencegah kerusakan spermatozoa mencit yang diberi paparan asap rokok sebagai sumber radikal bebas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian sari buah kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dapat mempengaruhi kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok?
2. Bagaimana perbedaan pengaruh pemberian sari buah kurma (*Phoenix dactylifera* L.) pada dosis 5, 10 dan 20 ml/kgBB terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk menentukan pengaruh pemberian sari buah kurma (*Phoenix dactylifera* L.) terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok.
2. Untuk menentukan perbedaan pengaruh pemberian sari buah kurma (*Phoenix dactylifera* L.) pada dosis 5, 10 dan 20 ml/kgBB terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait potensi sari buah kurma untuk mencegah penurunan kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok serta dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Rokok

Rokok adalah hasil olahan tembakau dibungkus termasuk cerutu ataupun bentuk lainnya yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica* dan lainnya atau sintesisnya yang mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan (Peraturan Pemerintah RI, 2003). Rokok dengan bahan baku tembakau dikenal dengan istilah rokok putih, sedangkan rokok dengan bahan baku tembakau dan juga cengkeh disebut rokok kretek (Sitepoe, 2000).

Asap rokok yang dihisap melalui mulut disebut *mainstream smoke*, sedangkan asap rokok yang terbentuk pada ujung rokok yang terbakar serta yang dihembuskan ke udara oleh perokok disebut *sidestream smoke*. *Sidestream smoke* menyebabkan seseorang menjadi perokok pasif (Sitepoe, 2000). Asap rokok yang dihirup perokok terdiri dari dua komponen yaitu, komponen gas dan komponen partikel. Komponen gas sangat berpotensi untuk menimbulkan radikal bebas, diantaranya adalah karbon monoksida, karbondioksida, oksida dari nitrogen dan senyawa hidrokarbon. Sedangkan komponen partikel terdiri dari tar, nikotin, benzopiren, fenol dan kadmium (Zavos *et al.*, 1998).

Adapun beberapa kandungan dari asap rokok antara lain :

#### 1. Nikotin

Nikotin berbentuk cairan, tidak berwarna, dan merupakan basa yang mudah menguap. Nikotin akan berubah warna menjadi coklat dan berbau mirip tembakau setelah bersentuhan dengan udara, kadarnya dalam tembakau antara 1–2%. Kandungan nikotin dalam rokok berkisar antara <1–3 mg. Nikotin dimetabolisme di hati, paru-paru, dan ginjal. Nikotin juga diekskresikan melalui air susu, pada perokok berat kadar nikotin dalam air susu dapat mencapai 0,5 mg/l (Ruslan, 2000). Nikotin terdapat di dalam asap rokok dan juga di dalam tembakau yang tidak dibakar. Satu-satunya sumber nikotin adalah tembakau (Sitepoe, 2000).

Nikotin memegang peranan penting dalam ketagihan merokok. Nikotin bersifat adiktif dan mempunyai efek farmakologis yang mendorong faktor

habituasi atau ketergantungan psikis. Hal ini merupakan suatu sebab seorang perokok sulit untuk berhenti merokok (Ruslan, 2000). Nikotin bersifat toksis terhadap jaringan syaraf dan menyebabkan peningkatan tekanan darah sistolik dan diastolik, denyut jantung bertambah, kontraksi otot jantung seperti dipaksa, pemakaian oksigen bertambah, aliran darah pada pembuluh darah koroner bertambah dan vasokonstriksi pembuluh darah perifer. Nikotin juga meningkatkan kadar gula darah, kadar asam lemak bebas, kolestrol LDL dan meningkatkan agresi sel pembekuan darah (Sitepoe, 2000).

## 2. Tar

Tar adalah nikotin bebas yang kering, berwarna coklat, berbau tidak sedap dan berupa partikel yang terbentuk selama pemanasan tembakau pada rokok (Fowles dan Bates, 2000). Sumber tar adalah tembakau, cengkeh, pembalut rokok, dan bahan organik lain yang dibakar. Pada rokok yang menggunakan filter dapat mengalami penurunan kandungan tar sekitar 5-15 mg (Sitepoe, 2000). Kandungannya berkisar antara <1–35 mg dan termasuk bahan karsinogen yang paling poten. Kandungan tar dalam rokok di negara-negara yang sedang berkembang cukup tinggi. Di Cina, Indonesia, dan India misalnya, kandungan tar berkisar antara 19–33 mg, sedang di negara-negara industri, kandungan tar berkisar antara 0,5–20 mg (Ruslan, 2000).

## 3. Karbon monoksida

Gas tidak berwarna, tidak berbau, dan diproduksi oleh proses pembakaran yang tidak sempurna dari bahan-bahan mengandung karbon (Fowles dan Bates, 2000). Gas Karbon monoksida (CO) bersifat toksik karena mengganggu ikatan antara oksigen dengan hemoglobin (Sitepoe, 2000). Karbon monoksida ini mempunyai daya ikat yang kuat terhadap sel darah merah dibandingkan oksigen sehingga dapat menggantikan kedudukan oksigen dalam sel darah dan membentuk *carboxy hemoglobin* (CoHb) akibatnya tubuh kekurangan oksigen. Karbon monoksida juga meningkatkan penyimpanan kolesterol di pembuluh darah arteri, mengganggu penglihatan serta mengurangi konsentrasi dan kepekaan terhadap suara (Saleh, 2008).

## 4. Benzene

Salah satu dari anggota hidrokarbon aromatik yang merupakan cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap, dan larut dalam air (Fowles dan Bates, 2000). Beberapa penelitian mengenai paparan benzene menunjukkan adanya gangguan pada sistem reproduksi tikus jantan. Tikus dengan inhalasi benzene menyebabkan terjadinya atrofi testis, penurunan jumlah spermatozoa, dan meningkatnya abnormalitas spermatozoa (Rana dan Verma, 2005).

#### 6. Timbal (Pb)

Merupakan logam beracun, berwarna abu-abu. Pb banyak ditemui pada gas buangan kendaraan bermotor serta asap rokok (Rodgman dan Perfetti, 2009). Efek toksik Pb terhadap sistem reproduksi dapat dilihat dari beberapa hasil penelitian. Mencit yang diberikan Pb secara *gavage* menunjukkan adanya gangguan pada spermatogenesis, menyebabkan abnormalitas spermatozoa, serta menyebabkan terjadi kerusakan mitokondria pada sel sertoli. Pb juga mengakibatkan terjadinya penurunan dorongan seksual (Bizzarro *et al.*, 2003).

#### 7. Kadmium

Senyawa yang terutama digunakan dalam industri logam dan cairan perak. Hasil pemanasan yang mengandung kadmium diatas titik didih  $321^{\circ}$  dapat mengeluarkan uap kadmium yang bersifat toksis (Lafuente *et al.*, 2001). Penelitian mengenai kadmium terhadap epitel tubulus seminiferus menunjukkan terjadinya nekrosis sel dan merusakkan sawar darah testis (Yang *et al.*, 2006).

## 2.2 Tinjauan tentang Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang elektronnya tidak memiliki pasangan. Karena tidak berpasangan, radikal bebas cenderung mencari pasangan. Untuk mencapai keseimbangan, maka radikal bebas mencari elektron lain. Dalam pencariannya, radikal bebas mengambil elektron dari molekul yang stabil di dekatnya. Peristiwa ini memutus rantai karena molekul baru yang tidak stabil mencoba mengganti elektron yang hilang dan mengambil elektron di dekatnya dan demikian seterusnya (Pangkahila, 2007).

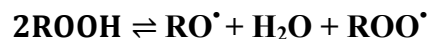
Pembentukan radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh dan luar tubuh. Sumber radikal bebas adalah (Pham dan Pham, 2008) :

1. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, yang timbul akibat berbagai proses enzimatik di dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada proses respirasi, proses pencernaan dan proses metabolisme. Diproduksi oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma, dan inti sel.
2. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, yang timbul akibat berbagai proses non-enzimatik di dalam tubuh, merupakan reaksi oksigen dengan senyawa organik dengan cara ionisasi dan radiasi. Contohnya adalah radikal bebas yang diperoleh proses inflamasi dan iskemia.
3. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh didapat dari polutan, seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, radiasi sinar matahari, makanan berlemak, kopi, alkohol, bahan racun pestisida, dan masih banyak lagi yang lainnya. Peningkatan radikal bebas pun dapat dipicu oleh stres atau olah raga yang berlebihan.

Reaksi berantai pada radikal bebas menurut Sarma *et al.* (2010) terdiri dari tiga tahap, yaitu:

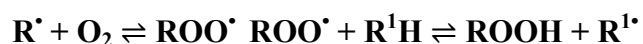
a) Inisiasi

Tahap ini melibatkan proses pembentukan radikal bebas baru dari spesies stabil atau mungkin melibatkan reaksi radikal bebas dengan spesies yang stabil untuk membentuk radikal bebas.



b) Propagasi

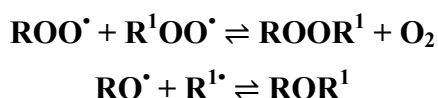
Tahap ini melibatkan radikal bebas dimana total jumlah radikal bebas tetap sama. Pada tahap ini reaksi berlangsung eksotermik.





### c) Terminasi

Tahap ujung dari reaksi berantai radikal bebas dimana terjadi penurunan jumlah radikal bebas. Umumnya, penurunan ini diakibatkan adanya penggabungan dua radikal bebas untuk membentuk senyawa yang stabil.



## 2.3 Tinjauan tentang Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktifitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat (Winarsi, 2007).

Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker (Sadikin 2001). Oleh karena itu tubuh memerlukan substansi penting, yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa radikal bebas tersebut (Karyadi, 1997). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Contoh antioksidan antara lain  $\beta$  karoten, likopen, vitamin C, vitamin E (Sies, 1997).

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu (Cahyadi, 2006):

### 1. Antioksidan Primer atau alami

Antioksidan alami merupakan antioksidan hasil ekstraksi bahan alami yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, sayur-sayuran dan buah-buahan (Winarsi, 2007). Antioksidan alami umumnya memiliki derajat toksisitas yang rendah sehingga sangat menguntungkan (Cahyadi, 2006). Secara umum, antioksidan ini dikelompokkan lagi menjadi 2 yaitu :

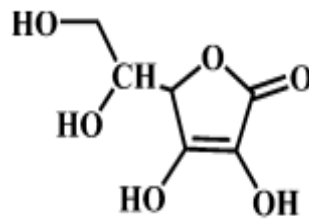
- a. Antioksidan enzimatik, antioksidan yang dapat dibentuk dalam tubuh, seperti *superoksida dismutase (SOD)*, *glutation peroksida*, katalase, dan *glutation reduktase*.
- b. Antioksidan non *enzimatik* yang berupa mikronitrien masih dibagi dalam 2 kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak (tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirium) dan antioksidan larut air (asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme) (Hariyatmi 2004).

### 2. Antioksidan Sekunder atau Sintetik

Antioksidan sekunder atau sintetik merupakan antioksidan yang dibuat melalui sintesis secara kimia. Beberapa contoh senyawa antioksidan sintetik yaitu: *Butylated hydroxyl anisole (BHA)*, *Butylated hydroxyrotoluene (BHT)*, *Propyl gallate (PG)* dan *metal chelating agent (EDTA)*, *Tertiary butyl hydroquinone (TBHQ)*, *Nordihydro guaretic acid (NDGA)*.

## 2.4 Tinjauan tentang Vitamin C

Vitamin C atau Asam askorbat adalah suatu heksosa dan diklasifikasikan sebagai karbohidrat yang erat kaitannya dengan monosakarida (Almatsier, 2001). Vitamin C merupakan salah satu antioksidan non enzimatis yang mempunyai sifat polaritas yang tinggi karena banyak mengandung gugus hidroksil sehingga mudah larut dalam air (Wibisono, 2001).



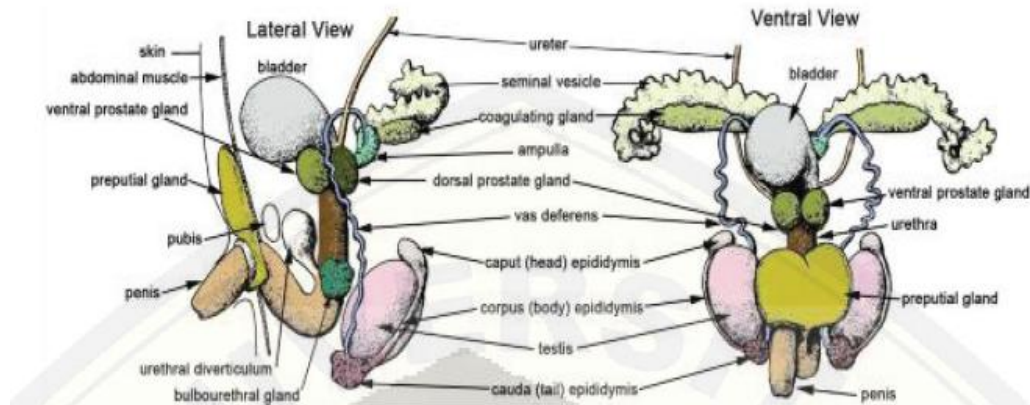
Gambar 2.1 Vitamin C (Nimse dan Pal, 2015)

Vitamin C disekresi secara aktif ke dalam semen mencapai 8 kali lebih tinggi dari yang ditemukan pada aliran darah (Koentjahja, 2001). Vitamin C memiliki kemampuan untuk melawan radikal bebas baik dari segi kerusakan DNA yang diinduksi maupun akibat produksi ROS yang berlebihan (Sultani *et al.*, 2013). Pemberian vitamin C yang diberikan secara terpisah maupun dikombinasikan dapat meningkatkan libido, konsentrasi spermatozoa dan konsentrasi fruktosa semen (Julahir, 2013).

Berdasarkan penelitian Panda (2000) menunjukkan bahwa dosis vitamin C 15 mg/Kg BB pada hewan coba marmut dapat mencegah kerusakan oksidatif utama seperti degradasi oksidatif protein dan peroksidasi lipid yang disebabkan oleh paparan asap rokok. Penelitian tersebut selanjutnya digunakan sebagai acuan dalam penentuan dosis vitamin C pada penelitian ini yang dijelaskan lebih lanjut pada lampiran 5.1.

## 2.5 Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Organ reproduksi jantan memiliki dua fungsi utama, yaitu pertama untuk memproduksi hormon androgen, kedua adalah untuk memproduksi sekitar 30 juta spermatozoa setiap hari selama masa reproduktif (Ganong, 2003). Sistem reproduksi mencit jantan terdiri dari: sepasang testis, epididimis, sistem duktus, kelenjar aksesoris, dan penis.



Gambar 2. 2 Sistem reproduksi mencit jantan (Sumber : Ma'rifah, 2015)

#### 2.4.1 Organ-organ Reproduksi Mencit Jantan

##### a. Testis

Testis berbentuk oval dan berjumlah sepasang, kanan dan kiri. Testis terdapat di dalam kantong luar yang disebut skrotum. Skrotum memiliki peran penting dalam memelihara testis pada suhu di bawah suhu intra-abdomen (Junquiera *et al.*, 2002). Fungsi testis adalah menghasilkan hormon testosteron dan spermatozoa (Setiadi, 2007).

Parenkim testis terdiri dari tubulus seminiferus yang dalam jaringan ikat berisi sel leydig, pembuluh darah, pembuluh limfa, saraf dan makrofag. Tubulus seminiferus merupakan bagian yang menghasilkan spermatozoa dan merupakan kelenjar tubuosa kompleks. Tubulus ini terdiri dari suatu lapisan jaringan ikat fibrosa, lamina basalis, dan suatu epitel germinal kompleks atau disebut seminiferus. Diameternya kurang lebih 150-250  $\mu\text{m}$  dan panjangnya 30-70 cm. Panjang seluruh tubulus pada setiap testis mencit mencapai 250 cm. Epitel tubulus terdiri dari dua jenis sel yaitu sel sertoli atau sel- sel penyokong dan sel- sel yang merupakan turunan spermatogenik. Sel- sel turunan spermatogenik tersebar dalam 4-8 lapisan yang menempati ruangan antara membran basalis dan lumen tubulus. Sel-sel ini membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa (Junquiera *et al.*, 2002).

b. Epididimis

Epididimis adalah tuba terlilit yang terletak di sepanjang sisi posterior testis. Epididimis berjumlah sepasang di sebelah kanan dan kiri. Bagian ini menerima sperma dari duktus eferen dan berfungsi untuk pematangan spermatozoa sekaligus tempat penyimpanan spermatozoa yang sudah matang. Fungsi utama epididimis adalah mengabsorpsi cairan. Fungsi lainnya yaitu menambahkan zat pada cairan semen untuk memberikan makanan pada spermatozoa yang sedang mengalami proses pematangan (Setiadi, 2007).

c. Vas deferens

Vas deferens atau duktus deferen merupakan kelanjutan dari epididimis yang berupa saluran lurus yang mengarah ke atas. Vas deferens tidak menempel pada testis dan ujung salurannya terdapat di kelenjar prostat. Dindingnya mengandung otot-otot licin yang penting dalam mekanisme pengangkutan semen waktu ejakulasi. Vas deferens berfungsi sebagai saluran tempat jalannya spermatozoa dari epididimis menuju vesikula seminalis dan membentuk duktus ejakulatoris. Duktus ejakulatoris kemudian berlanjut ke uretra yang merupakan saluran pengangkut spermatozoa dari vas deferen ke penis (Akbar, 2010).

d. Kelenjar asesori

Kelenjar asesori rodentia dan mamalia pada umumnya terdiri atas vesikula seminalis, prostat, dan sepasang glandula Cowper (bulbourethralis) (Campbell *et al.*, 2004). Kelenjar ini berfungsi untuk membuat cairan semen agar sperma dapat bergerak aktif dan hidup dalam waktu tertentu. Kelenjar vesikula seminalis merupakan kelenjar berlekuk-lekuk yang terletak dibelakang kantung kemih. Kelenjar Cowper merupakan kelenjar yang salurannya langsung menuju uretra. Sedangkan kelenjar prostat berfungsi memproduksi cairan prostat yang mengandung kolesterol, garam dan fosfolipid yang merupakan komponen dari semen yang bersifat basa (Faranita, 2009).

e. Penis

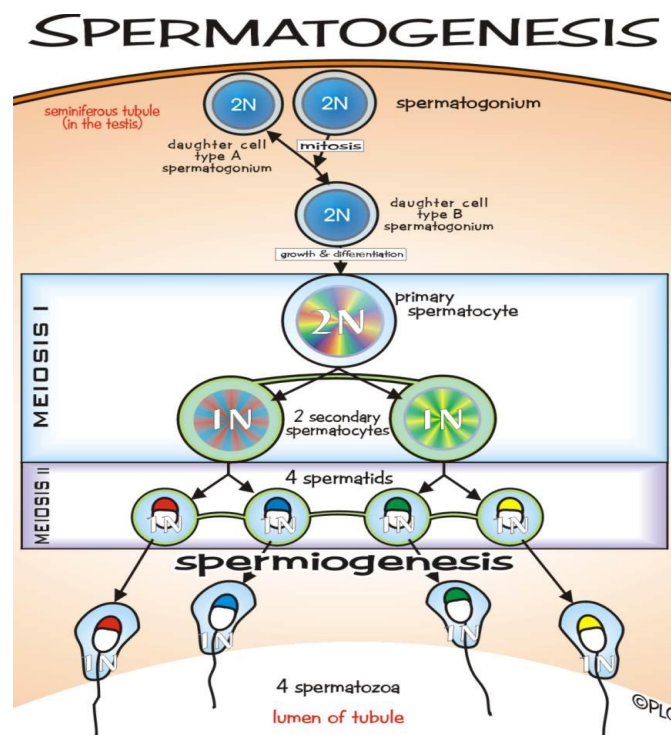
Penis memiliki fungsi ganda, yaitu sebagai alat pengeluaran urin dan penyaluran semen ke dalam saluran reproduksi mencit betina. Penis terdiri dari 3

bagian yaitu akar, badan, dan glans penis yang membesar banyak mengandung ujung-ujung saraf sensorik (Setiadi, 2007).

#### 2.4.2 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di dalam tubulus seminiferus testis. Spermatogenesis terjadi selama kehidupan seks aktif dan terus berlangsung selama hidup. Tubulus seminiferus banyak mengandung sel epitel germinativum yang berukuran kecil sampai sedang yang dinamakan spermatogonia. Sel-sel ini terus mengalami proliferasi untuk menyempurnakan diri dan sebagian berdiferensiasi melalui stadium-stadium definitif perkembangan untuk membentuk spermatozoa (Junquiera *et al.*, 2002).

Spermatogenesis dibagi menjadi 3 tahap utama yaitu spermatositogenesis, meiosis, dan spermiogenesis (Akbar, 2010). Fase spermatositogenesis dan meiosis umumnya disebut dengan spermatogenesis itu sendiri, sedangkan fase spermiogenesis merupakan fase yang berlangsung setelahnya.



Gambar 2.3 Spermatogenesis (Yatim, 1996)

#### a. Spermatositogenesis

Spermatositogenesis berasal dari bahasa Yunani, yaitu *sperma* yang berarti benih, *kytos* yang berarti sel, dan *genesis* yang berarti pembentukan. Ini merupakan fase pertama yang meliputi perkembangan awal sel spermatogonia secara mitosis, sehingga menghasilkan generasi sel baru yaitu spermatogonia tipe A dan spermatogonia tipe B. Spermatogonia tipe B mengalami pembelahan mitosis dan membentuk 2 sel yang ukurannya bertambah menjadi spermatosit primer (Junquiera *et al.*, 2002).

#### b. Meiosis

Fase meiosis terjadi pembelahan spermatosit sebanyak dua kali secara berurutan dengan mereduksi sampai setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel. Pembelahan meiosis yang pertama, setiap spermatosit primer membelah menjadi dua sel yang disebut spermatosit sekunder. Pembelahan meiosis yang kedua, masing-masing spermatosit sekunder akan membelah menghasilkan dua spermatid (Junquiera *et al.*, 2002).

#### c. Spermiogenesis

Fase spermiogenesis merupakan tahap akhir pembentukan spermatozoa. Terjadi perkembangan spermatid yang rumit, yaitu meliputi fase golgi, fase akrosomal, dan fase maturasi. Fase golgi terjadi dengan terbentuknya butiran proakrosom dalam alat golgi spermatid. Butiran ini nantinya akan bersatu membentuk satu bentukan dengan akrosom disebut granula akrosom. Granula akrosom ini melekat ke salah satu sisi inti yang akan menjadi bagian depan spermatozoa. Fase akrosomal terjadi dengan terbentuknya akrosom dari vesikel dan granula akrosom yang menyebar untuk menutupi belahan anterior dari inti yang memadat. Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik, seperti hialuronidase, neuraminidase, fosfatase asam, dan sebuah protease yang memiliki aktivitas mirip tripsin. Akrosom berfungsi sebagai lisosom berjenis khusus. Enzim-enzim ini yang nantinya akan mencerna zona pelusida pada ovum ketika terjadi fertilisasi. Fase pematangan terjadi ketika sitoplasma residu dibuang dan difagositosis oleh sel sertoli dan spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus.

Spermiogenesis disebut juga tahap transformasi spermatid menjadi spermatozoa (Junqueira *et al.*, 2002).

## **2.5 Hubungan asap rokok dan infertilitas**

Asap rokok mengandung 4800 macam senyawa kimia berbahaya, salah satunya yaitu radikal bebas (Droge, 2002 & Valavanidis, 2009). Timbulnya radikal bebas dalam tubuh diimbangi dengan mekanisme pertahanan endogen, dengan memproduksi zat anti radikal bebas yang biasa disebut antioksidan (Suryohudoyo, 2000). Stres oksidatif merupakan kondisi dimana terjadi peningkatan ROS (Saleh *et al.*, 2003). Pada kondisi stres oksidatif, radikal bebas dapat mengakibatkan kerusakan sel melalui tiga cara, yaitu : peroksidasi lipid membran sel yang menyebabkan kerusakan organisasi membran sel, kerusakan DNA yang mengakibatkan mutasi DNA bahkan kematian sel, dan modifikasi protein teroksidasi (Kumar *et al.*, 2005).

Pada spermatozoa, stres oksidatif menyebabkan proses peroksidasi yang diikuti oleh perubahan struktur membran plasma, sehingga mengubah kestabilan dan fungsi membran, serta menurunkan fluiditas membran spermatozoa. Rusaknya membran plasma mitokondria mengakibatkan terganggunya metabolisme sel spermatozoa, sehingga menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa (Tremellen, 2008). Kondisi stres oksidatif akibat merokok dapat menurunkan antioksidan di cairan semen (Agarwal *et al.*, 2003) sehingga perokok lebih rentan mengalami infertilitas karena meningkatnya produksi radikal bebas di dalam sperma (Agarwal dan Said, 2005). Radikal bebas dari partikel gas rokok juga dapat menyebabkan aglutinasi pada sperma sehingga terjadi penurunan motilitas sperma (Agarwal *et al.*, 2003).

## **2.6 Analisis Semen**

Semen terdiri atas spermatozoa yang dihasilkan dalam testis dan plasma semen yang dihasilkan dari kelenjar aksesori terutama kelenjar Cowper. Semen

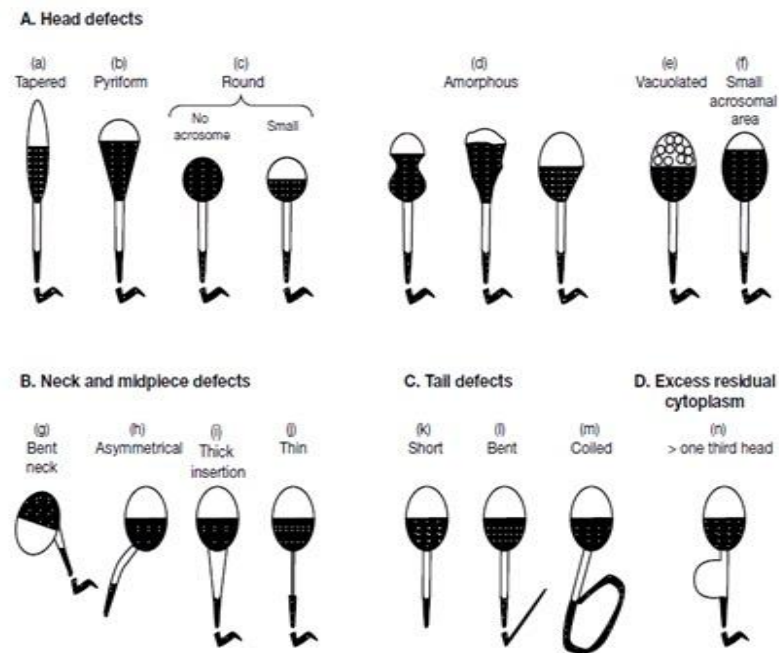


terlihat keruh seperti susu karena cairan prostat sehingga menyebabkan suasana basa. Apabila semen terdapat pada suasana asam, maka spermatozoa yang terdapat dalam semen akan mati (Guyton dan Hall, 2011). Sebagai dasar analisis, spermatozoa yang berkualitas adalah spermatozoa yang jumlah, motilitas dan morfologinya baik (WHO, 2002).

#### a) Morfologi

Morfologi spermatozoa dapat dibedakan menjadi spermatozoa yang normal dan sperma abnormal (cacat). Spermatozoa normal tersusun atas kepala dan bagian ekor tengah atau leher, serta bagian ujung atau bagian utama (Guyton dan Hall, 2011). Kepala spermatozoa memiliki panjang 4-5  $\mu\text{m}$ , terdiri atas sel berinti padat yang berisi materi genetik (DNA) dengan hanya sedikit sitoplasma dan lapisan membran sel disekitar permukaannya. Di bagian luar, dua pertiga anterior kepala terdapat selubung tebal yang disebut akrosom. Selubung ini mengandung enzim hialuronidase. Enzim ini memainkan peranan penting sehingga memungkinkan spermatozoa untuk membuahi ovum. Ekor spermatozoa disebut flagelum dan memiliki tiga komponen utama yaitu aksonema, membran sel tipis yang menutupi aksonema, sekelompok mitokondria yang mengelilingi aksonema pada bagian proksimal (Guyton, 1996).

Abnormalitas merupakan ketidaknormalan spermatozoa yang diamati berdasarkan struktur morfologinya. Bentuk abnormal dapat dibedakan antara bentuk abnormal primer dan bentuk abnormal sekunder. Menurut Ermayanti dan Suarni (2010), ditemukannya abnormalitas primer diduga karena adanya gangguan spermatogenesis pada fase spermiogenesis, yaitu saat pembentukan spermatozoa dari spermatid. Abnormalitas sekunder terjadi diduga karena adanya gangguan maturasi spermatozoa dalam epididimis. Menurut WHO (2010) abnormalitas dari morfologi spermatozoa dibagi menjadi 4 yaitu abnormalitas kepala, abnormalitas leher dan *midpiece*, abnormalitas *principal piece*, dan *excess residual cytoplasm* (ERC). Bentuk normal dan abnormal dari spermatozoa dapat dilihat dari Gambar 2.3.



Gambar 2.4 Kelainan morfologi spermatozoa (Sumber : Kruger, 1993)

#### b) Jumlah spermatozoa

Jumlah sperma yang berkualitas adalah spermatozoa yang memiliki jumlah sekitar lebih dari 20 juta/ml ejakulat. Apabila jumlahnya kurang maka bisa dikatakan spermatozoanya tidak berkualitas. Jumlah sperma yang dihasilkan oleh testis sangat tergantung kepada spermatogenesis ditubulus seminiferus. Apabila prosesnya berjalan baik maka jumlah sperma yang dihasilkan akan normal (Rugh, 1968). Jumlah spermatozoa dihitung dengan menggunakan kamar hitung Neubauer hemasitometer (WHO, 2002).

#### c) Motilitas spermatozoa

Menurut Dethan *et al.* (2010), motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu aspek penting dalam analisis kualitas spermatozoa karena motilitas menentukan kemampuan spermatozoa masuk ke dalam sistem reproduksi betina untuk membuahi ovum. Pergerakan spermatozoa didukung oleh struktur yang dimilikinya yaitu flagellum (ekor), yang mana energi pergerakan tersebut bangkitkan oleh mitokondria yang berkumpul di daerah proksimal flagellum membentuk bagian menebal yang dikenal sebagai bagian tengah.

d) Viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa dapat diartikan sebagai kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup di lingkungan tertentu. Viabilitas spermatozoa dapat diketahui dengan perbedaan warna pada sel spermatozoa ketika diberi zat warna eosin. Sel spermatozoa yang hidup akan berwarna jernih atau tidak berwarna karena tidak menghisap zat warna, sedangkan sel spermatozoa yang mati akan menghisap zat warna sehingga di bawah mikroskop terlihat sangat kontras sesuai dengan zat warna yang diberikan (Partodiharjo, 1982).

Viabilitas spermatozoa tidak dapat dilakukan atas dasar motil atau tidaknya. Hal ini karena spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati sehingga tidak menghisap zat warna. Spermatozoa yang hidup dan bergerak mungkin juga mempunyai cacat pada dinding selnya, sehingga dapat menghisap wana (Partodiharjo, 1982).

## 2.7 Tinjauan tentang Kurma

Kurma (*Phoenix dactylifera*) adalah jenis tanaman palem berasal dari kawasan Irak. Banyak ditanam di Timur Tengah dan Afrika Utara (Rostita, 2009). Kurma merupakan sejenis tumbuhan palem yang buahnya dapat dimakan karena rasanya manis. Pohon kurma memiliki tinggi sekitar 15-25 meter dan daun yang menyirip dengan panjang 3-5 meter (Satuhu, 2000).

Klasifikasi tanaman kurma sebagai berikut (Integrated Taxonomic Information System, 2010) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Orde	: Arecales
Family	: Arecaceae
Genus	: Phoenix L.
Spesies	: <i>Phoenix dactylifera</i> L.

Buah kurma memiliki karakteristik bervariasi, antara lain memiliki panjang 3-7 cm, diameter 2-7 cm dan ketika matang berwarna antara merah sampai kuning cerah. Kurma mengandung biji dengan panjang 2-2.5 cm dan tebal 6-8 mm serta dapat dengan mudah tumbuh dari biji. Kurma mengandung 70% gula terutama glukosa, fruktosa, sukrosa dan sedikit protein dan lemak. Buahnya kaya akan zat besi, kalium, tembaga, magnesium, natrium, sulfur danelenium dan zink. Buah kurma juga mengandung flavonoid, asam fenolik dan karotenoid (Ateeq *et al.*, 2013).

Kurma memiliki banyak khasiat lain untuk kesehatan diantaranya (Satuhu, 2010) :

- a) Kurma mengandung asam salisilat yang bersifat mencegah pembekuan darah, antiinflamasi, dan menghilangkan rasa ngilu ataupun rasa nyeri.
- b) Kandungan kalium sangat bermanfaat bagi kesehatan jantung dan pembuluh darah karena berfungsi untuk menstabilkan denyut jantung, mengaktifkan kontraksi otot jantung, sekaligus mengatur tekanan darah. Oleh karena itu, kalium bermanfaat dalam mencegah penyakit stroke.
- c) Kurma mengandung banyak serat yang baik bagi usus, sehingga mencegah sembelit dan melancarkan buang air besar.
- d) Serat juga dapat menurunkan kolesterol dalam darah.
- e) Kurma dapat membantu pertumbuhan tulang karena mengandung kalsium, fosfor, dan magnesium yang sangat diperlukan untuk memelihara kesehatan tulang dan gigi.
- f) Kurma juga mengandung vitamin yang dapat membantu menguatkan saraf, melancarkan peredaran darah, membersihkan usus, serta memelihara dari radang dan infeksi.

Kandungan total fenolik buah kurma antara 507,03 - 225,02 mg setara dengan asam galat dan aktivitas antioksidan antara 1400,00 sampai 228,06  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{g ABTS}$  (Al-Turki, 2008). Kandungan senyawa antioksidannya adalah karoten, fenolik dan flavonoid (Biglari *et al.*, 2008; Vayalil, 2012).

Kandungan selenium pada kurma juga mempunyai efek sebagai antioksidan. Beberapa studi menyatakan bahwa *selenocysteine* dapat menjadi konstituen ROS-

*detoxifying selenoenzymes*, ini berarti selenium juga dapat menangkap radikal bebas (Steinbrenner and Sies, 2009).

Saat ini, buah kurma banyak diproduksi dalam bentuk sari kurma. Salah satu penelitian tentang sari kurma dilakukan oleh zen *et al* .(2013) yang menyatakan bahwa sari buah kurma dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada dosis 1,6 ml/200 g BB tikus. Penelitian tentang sari buah kurma sebagai antioksidan masih terbatas sehingga penelitian tersebut di jadikan acuan dosis pada penelitian ini.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium (*true experimental laboratories*).

#### 3.1.2 Tempat Penelitian

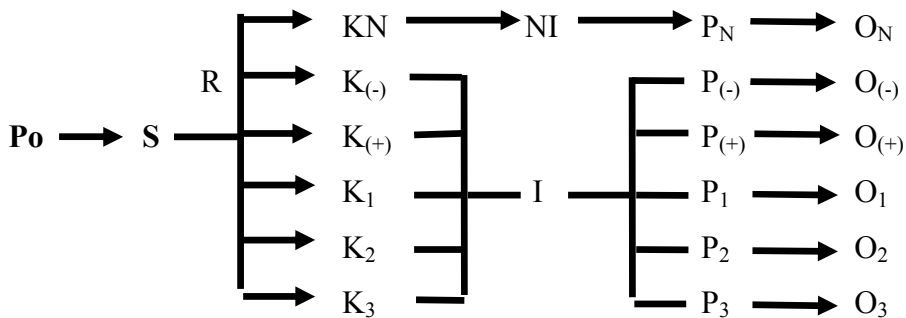
Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

#### 3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan November 2016.

### 3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *post test only-control group design* dengan mencit sebagai subjek penelitian. Mencit diberi perlakuan berupa pemberian sari kurma dengan tiga peringkat dosis yaitu 5, 10, 20 ml/kg BB setelah dipapar asap rokok. Parameter perlakuan berupa kuantitas dan kualitas spermaoza mencit. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 skema rancangan penelitian

Keterangan :

Po : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kelompok

NI : Pemaparan udara lingkungan

I : Induksi dengan pemaparan asap rokok sebanyak satu batang setiap hari selama 14 hari

P : Perlakuan

N : Normal, mencit diberikan aquadest secara per oral

(-) : Kontrol negatif, mencit diberikan aquadest secara per oral

(+) : Kontrol positif, mencit diberikan larutan vitamin C dosis 33 mg/kgBB/hari secara per oral

1 : Perlakuan dosis I, mencit diberikan larutan sari kurma dosis 5 ml/kgBB/hari secara per oral

2 : Perlakuan dosis II, mencit diberikan larutan sari kurma dosis 10 ml/kgBB/hari secara per oral

3 : Perlakuan dosis III, mencit diberikan larutan sari kurma dosis 20 ml/kgBB/hari secara per oral

O : Pengamatan terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit pada masing-masing kelompok.

### 3.3 Jumlah Sampel

Sampel di kelompokkan dengan cara *simple random sampling* menjadi enam kelompok. Estimasi besar sampel dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer yaitu (Rini *et al.*, 2013):

$$(p-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

n : jumlah sampel

p : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

jika,  $p = 6$

maka,  $\{(6-1)(n-1)\} \geq 15$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah empat (4) ekor mencit untuk tiap kelompok perlakuan.

### **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1 Alat**

Alat yang digunakan adalah kandang mencit, mikroskop cahaya (Olympus BX53F), kamar hitung *neubauer haemocytometer*, pipet pengencer thoma, timbangan hewan (Ohaus), timbangan analitik (Ohaus), *smoking pump*, *smoking chamber*, korek api, spuit, sonde (OneMed), alat-alat gelas, cawan petri, papan bedah, pisau bedah, gunting, pinset, pipet tetes, *micropipet*, vial, *cover glass*, dan *deck glass* (Citoplus).

#### **3.4.2 Bahan**

Bahan uji berupa produk sari buah kurma X yang terdaftar di Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dengan nomor registrasi MD 16570900XXXX, rokok kretek non filter, vitamin C farmasetis, larutan fisiologis NaCl 0,9 %, eosin 1%, dan akuades.

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis sari kurma yaitu 5 ml/kgBB, 10 ml/kgBB, dan 20 ml/kgBB yang diberikan secara per oral pada kelompok perlakuan.



### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel Terikat pada penelitian ini adalah kuantitas (jumlah spermatozoa) dan kualitas (motilitas, viabilitas dan morfologi) spermatozoa.

### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel Terkendali dalam penelitian ini adalah jenis hewan coba yakni mencit jantan galur *Balb/c*, sehat, umur 8-10 minggu, berat badan 20-30 gram, dan lama perlakuan.

## 3.6 Definisi Operasional

Definisi Operasional pada penelitian ini adalah :

- a. Paparan asap rokok dilakukan dengan membakar rokok yang telah dipasang di *smoking pump* sehingga asap rokok masuk ke dalam *smoking chamber* dan dihirup oleh mencit yang berada di dalamnya.
- b. Kuantitas spermatozoa adalah jumlah spermatozoa, sedangkan kualitas spermatozoa yang diamati dalam penelitian ini meliputi motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa.
- c. Sari kurma dikatakan memiliki pengaruh perbaikan jika kuantitas dan kualitas spermatozoa pada kelompok perlakuan sari buah kurma lebih baik dibandingkan kelompok kontrol negatif.

## 3.7 Prosedur

### 3.7.1 Penyiapan Hewan Coba

Sebelum dilakukan percobaan, mencit jantan galur *Balb/c* diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan diberikan pakan dan minum *ad libitum*. Selanjutnya, semua mencit dibagi menjadi enam kelompok secara acak. Masing-masing berisi empat ekor mencit dengan perlakuan berbeda pada setiap kelompoknya.

### 3.7.2 Pengenceran Sari Buah Kurma

Sari buah kurma diencerkan terlebih dahulu untuk memudahkan pemberian pada mencit. Pengenceran dilakukan dengan perbandingan sari buah kurma dan aquadest adalah 2:1. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada lampiran 5.2.

### 3.7.3 Perlakuan Hewan Coba

Dilakukan pemaparan asap rokok dengan *smoking pump* pada 6 ekor mencit dari tiap kelompok yang ditempatkan pada *smoking chamber* sebanyak satu batang/hari selama 14 hari. Tiga puluh menit setelah pemaparan, kelompok kontrol negatif diberikan akuades, kelompok kontrol positif diberikan vitamin C dan kelompok perlakuan diberikan sari buah kurma secara per oral sesuai dosisnya. Kelompok normal, dipapar dengan udara lingkungan kemudian diberikan akuades secara per oral. Pada hari ke-15, mencit dikorbankan dan dibedah untuk memperoleh semen dari epididimis dengan cara menjepit bagian ujung epididimis kemudian ditekan searah. Semen yang didapatkan diletakkan di dalam cawan petri.

### 3.7.4 Perhitungan Jumlah Spermatozoa

Semen di pipet menggunakan pipet thoma sampai skala 0,2 kemudian di tambah larutan NaCl 0,9 % hingga tanda 101 lalu dikocok sampai homogen. Larutan semen tersebut kemudian diteteskan pada kamar hitung *improved neubauer* lalu ditutup menggunakan *cover glass*. Sediaan tersebut dibiarkan kurang lebih 5 menit supaya sel-sel spermatozoa mengendap, sehingga memudahkan perhitungan. Pemeriksaan dilakukan dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 200x. Hasil perhitungan kemudian dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah spermatozoa} = N \times 500 \times 10^4 \text{ juta/ml}$$

Keterangan :

N : Jumlah sperma yang dihitung dalam kamar hitung

500 : Faktor pengenceran

$10^4$  : Volume *chamber hemocytometer* (Knox, 2012)

### 3.7.5 Perhitungan Motilitas Spermatozoa

Satu tetes semen diletakkan di atas kaca benda lalu ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 200 kali. Pengamatan dilakukan terhadap 100 spermatozoa untuk satu hewan uji dihitung spermatozoa yang motil (dalam %). Semen yang normal menunjukkan 50% atau lebih spermatozoa mengalami *progressive motility* (PR)(Nuraini *et al.*, 2002). Klasifikasi motilitas spermatozoa berdasarkan presentase motilitas dengan tiga macam kategori motilitas, untuk spermatozoa menurut WHO (2010) sebagai berikut:

- a. *progressive motility* (PR), jika spermatozoa bergerak aktif, baik secara linier atau dalam lingkaran besar;
- b. *non-progressive motility* (NP), jika spermatozoa berenang dalam lingkaran kecil, kekuatan flagel tidak mampu mendorong kepala, atau hanya flagel yang bergetar;
- c. *immotility* (IM), jika spermatozoa tidak ada gerakan.

Perhitungan persentase motilitas spermatozoa :

$$\% \text{ sperma} = \frac{\text{Jumlah Sperma Kategori PR}}{100} \times 100\%$$

### 3.7.6 Perhitungan Viabilitas Spermatozoa

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nuraini *et al.* (2012), banyaknya spermatozoa hidup tetapi tidak motil menunjukkan adanya kelainan struktur pada flagel. Uji viabilitas dilakukan dengan cara semen diambil dengan

menggunakan pipet sebanyak satu tetes kemudian diletakkan pada gelas objek, lalu diteteskan larutan eosin satu tetes kemudian ditutup dengan gelas penutup, dibiarkan sampai agak kering, baru kemudian diamati menggunakan mikroskop yang dihubungkan dengan komputer. Uji ini dilakukan terhadap 100 ekor spermatozoa yang dipilih secara acak. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepala tidak berwarna dan spermatozoa yang mati dilihat dari kepala berwarna merah atau gelap. Nilai viabilitas spermatozoa dinyatakan dalam persen dengan menggunakan rumus (Rezha, 2013) :

$$\% \text{ sperma} = \frac{\text{Jumlah sperma yang tidak terwarnai eosin}}{100} \times 100\%$$

### 3.7.7 Perhitungan Morfologi Spermatozoa

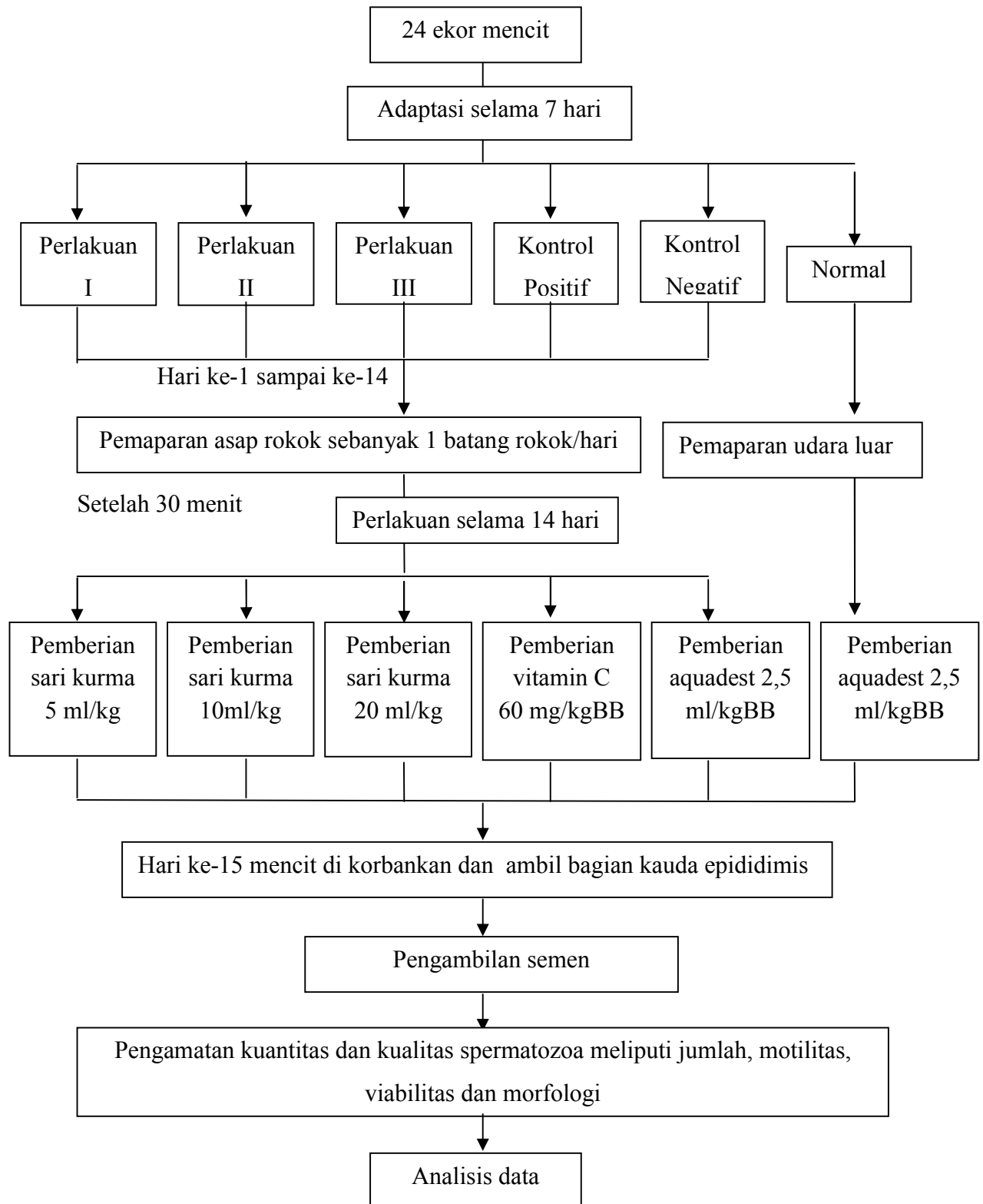
Pemeriksaan morfologi spermatozoa dilakukan dengan membuat suspensi sperma, lalu diwarnai dengan eosin 1 %. Kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Pengamatan dilakukan dengan membedakan bentuk sperma normal dan abnormal dari setiap 100 sperma yang diamati, hingga diperoleh data bentuk sperma dalam persen. Sperma yang normal, memiliki bagian kepala terkait berbentuk bulan sabit dan bagian ekor panjang tidak bergulung, sedangkan sperma yang abnormal dapat diklasifikasikan berdasarkan bentuk kepala dan ekornya (Nuraini *et al.*, 2012). Bentuk spermatozoa abnormal pada mencit dari bentuk kepala seperti kepala ganda, kepala *amorfi*, kepala mikro, kepala bebas tanpa ekor, sedangkan berdasarkan ekor seperti ekor membentuk sudut, ekor membentuk *loop*, ekor ganda (Rahmi, 2012). Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Presentase Morfologi spermatozoa :

$$\% \text{ sperma} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa normal}}{100} \times 100\%$$

### 3.8 Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh meliputi jumlah spermatozoa, motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa. Untuk data jumlah spermatozoa, motilitas dan viabilitas dianalisis menggunakan *Anova*. Sebelumnya data yang didapat diuji dengan Uji *Shapiro-Wilk* dan Uji Homogenitas, jika data yang didapat homogen dan terdistribusi normal dilanjutkan dengan Uji *One-Way Anova* dengan taraf kepercayaan 95%. Selanjutnya data hasil analisis dilanjutkan dengan *Post Hoc Tests* menggunakan *LSD* (Santoso, 2003). Jika data tidak homogen atau tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan Uji *Mann Whitney*. Untuk data abnormalitas morfologi spermatozoa disajikan dalam bentuk mikrofoto dan dianalisis secara deskriptif.

### 3.9 Alur Penelitian



Gambar 3. 2 Kerangka kerja percobaan

## **BAB 5. PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut.

- a. Pemberian sari buah kurma dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas spermatozoa yang terpapar asap rokok.
- b. Pemberian sari buah kurma dosis 20 ml/kgBB memiliki pengaruh lebih besar dibandingkan dosis 5 ml/kgBB dan dosis 10 ml/kgBB dalam meningkatkan kuantitas dan kualitas spermatozoa yang dipapar asap rokok.

### **5.2 Saran**

Saran yang dapat peneliti berikan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah sari buah kurma masih mampu memperbaiki kuantitas dan kuantitas spermatozoa dengan pemaparan asap rokok lebih lama.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas sari buah kurma untuk mengevaluasi batas keamanannya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., Saleh R.A dan Bedaiwy, M.A. 2003. Role of Reacive Oxygen Species in the Pathophysiology of Human Reproduction. *Fertility and Sterility*. Vol. 79(4) : 829-34.
- Agarwal, S dan Said, T.M. 2005. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *British Journal of Urology International*. Vol 95: 502-507.
- Ahmadnia, Ghanbari, Moradi, dan Khaje-Doluee. 2007. Effect of Cigarette Smoke on Spermatogenesis in Rats. *Urology Journal*. Vol. 4(3): 159-163.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press UIN Jakarta.
- Al-Farsi, Alasalvar, Morris, Baron, dan Shahidi. 2005. Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53(19): 7592-7599.
- Al-Turki SM. 2008. "Antioxidant Properties of Date Palm Cultivars". *Disertasi*. U.K : Colorado State University.
- Ateeq, Sumil, Varun, dan Santosh. 2013. *Phoenix dactylifera* Linn. (Pind Kharjura): a review. *International Journal of Reseach. Ayurveda Pharm*. Vol. 4 (3): 447-451.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Balitbangkes Kemenkes RI.
- Baliga, Baliga, Kandhatil, Bhat, dan Vayalil. 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International*. Vol 44 : 1812-1822.
- Biglari, Karkhi, A., dan Easa, 2008. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Various Date Palm (*Phoenix dactylifera*) Fruits from Iran. *Food Chemistry*. Vol. 107(4): 1636-1641.
- Bizzarro, Acevedo, Carbrera, Mussali-Galante, Pasos, Avilacosta, dan Fortoul. 2003. Ultrastructural Modification in the Mitochondrion of Mouse Sertoli Cells after Inhalation of lead, Cadmium, or Lead-Cadmium Mixture. *Reproduction Toxicology*, Vol. 17: 567-566.



- Cahyadi, W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Bumi Aksara.
- Chaira, Ferchichi, Mrabet, dan Sghairoun. 2007. Chemical Composition of The Flesh and The Pit of Date Palm Fruit and Radical Scavenging Activity of Their Extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Vol. 10(13): 2202-2207.
- Champell, N. A, Reece ., dan Michell. 2004. *Biology Concept and Connection*. Fifth Edition. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Chitta, Tambe, Kherde, dan Aggarwal. 2016. Effect of Cigarette Smoking on Semen Quality Parameters in Male Partners of Infertile Couple: A Cross Sectional Study. *Journal of Dental and Medical Sciences*. Vol. 15(9):112-116.
- Christijanty, W. 2009. Penurunan Jumlah dan Motilitas Spermatozoa Setelah Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Kajian Potensi Biji Pepaya sebagai Bahan Kontrasepsi Alternatif). *Jurnal Biosaintifika*. Vol 1(1): 19-26.
- Dahlan, M.S., dan Tjokronegoro, A. 2008. Oxidative stress and male infertility : Pathophysiology and clinical implication. *Jurnal Kedokteran Yarsi*.
- David dan Arkeman, H. 2008. Evaluation of The Oral Toxicity of Formaldehyde in Rats. *Universa Medicina* , Vol. 27(3): 106-111.
- Dethan, A.A., Kustono dan Hartadi, H. 2010. Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Bligon Jantan yang Diberi Pakan Rumput Gajah dengan Supplementasi Tepung Darah. *Buletin Peternakan*. Vol.34 (3): 145-153.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell funcion. *Physiol Rev*.82.
- Eriksen, Mackay, Schluger, Gomeshtapeh, dan Drope. 2015. *The Tobacco Atlas*. Fifth Edition. China: The American Cancer Society, Inc.
- Ermayanti, N.G.A.M. dan Suarni, N.M.R. 2010. Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Perlakuan Infus Kayu Amargo (*Quassia amara* Linn.) dan Pemulihannya. *Jurnal Biologi*. Vol. 14 (1): 45-49.
- Erris dan Harahap, I. 2014. Pengaruh Kebisingan terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Dewasa. *Medica Litbangkes*. Vol. 24(3): 123-128.

- Faranita, O.V. 2009. "Kualitas Spermatozoa Pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Melitus". Tidak diterbitkan. *Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah*. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Fitriani., Eriani K dan Sari W. 2010. The effect of cigarettes smoke exposed *Mus musculus*. *Jurnal Natural*. Vol 10 (2):15- 16.
- Fowles, J., dan Bates, M. 2000. *The Chemical Constituents in Cigarette and Cigarette Smoke*. Porirua : ESR Kenepuru Science Center.
- Ganong, M.D., dan William F. 2012. Terjemahan Ken Ariadi. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Ghani, Qazzar, Dabdoub, Muhammad, dan Ghani. 2014. Studies on Cigarette smoke induced oxidative DNA Damage and Reduced Spermatogenesis in Rats. *Journal of Environmental Biology*. Vol. 35: 943-947.
- Gheldof, N., Xiao-Hong, W dan Engeseth, N.J. 2002. Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 50: 5870-5877.
- Guyton, A. C., dan Hall, J. E. 2011. *Reproductive and Hormonal Functions of The Male (and Function of The Pineal Gland)*. Textbook of Medical Physiology. Philadelphia : W. B. Saunders.
- Guyton, A. C., dan John, E. H. 1996. Terjemahan Irawati Setiawan. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC Kedokteran.
- Hardinsyah, Briawan, Sulaeman, Rimbawan, Aries, dan Dewi. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Indeks Glikemik Sari Kurma serta Efikasinya terhadap Stamina. *Semnas PAGI 2013*. halaman 345-357.
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia. *Journal MIPA*. Vol 14 (1): 52-60.
- Integrated taxonomic Information System. 2010. *ITIS Report*. [Serial Online]. [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=42458](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42458) [20 Mei 2016].
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Dan Kelley. R.O. 2002. Terjemahan oleh Jan Tambayong. *Histologi Dasar*. Edisi VIII. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Karyadi, E., 1997. Uji Aktivitas Antiradikal Dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Daun Keladi Tikus (*Thyponium divaricatum* (Linn) Decne). *Pharmakon*. Vol. 6(2) : 51-56.

- Knox, R. 2012. *Semen Processing, Extending & Storage For Artificial Insemination In Swine*. Chicago : University of Illinois.
- Kumar, L., Cotran, R. S., dan Robbins, S. L. 2005. Robbins Basic Pathology, In : Cellular Injury Adaptation and Death. Philadelphia : W. B Saunders.
- Koentjahja HC. 2001. Changes of body weight and response of tracheal smooth muscle of adult guinea pigs due to chronic exposure to cigarette smoke and supplementation of vitamin C. *Jurnal Natural*, Vol. 21(1): 22.
- Lafuente, A., dan Esquifino, A. I. 1999. Cadmium Effects on Hypothalamic Activity and Pituitary Hormone Secretion in the Male. *Toxicology Lett*, Vol. 110: 209-218.
- Lara, Pasqualotto, Borges, Braga, Salvador dan Pasqualotto. 2008. Flavonoid may Increase Semen Quality in Infertile Men with Oligospermia. *Fertility and Sterility*. Vol. 90 (1) : 190-191.
- Ma'rifah, F. 2015. Pengaruh Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.,.) Urban ) terhadap Kualitas Spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-c. Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Mehraban, Jafari, Toori, Sadeghi, Joodi, Mostafazade dan Sadeghi, 2014. Effects of date palm pollen (*Phoenix dactylifera* L.) and *Astragalus ovinus* on sperm parameters and sex hormones in adult male rats. *Iran Journal of Reproduction Medicine*. Vol. 12 (10) : 705-712.
- Musfiroh, M., Muslim, R., dan Wijayahadi, N. 2012. Pengaruh Minyak *Nigella sativa* terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar yang Terpapar Asap Rokok. *Journal of Indonesian Medicinal Association*. Vol. 62 (5): 178-182.
- Nisa'ina, A. 2015. "Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Strain Balb-C dan Pemanfaatannya sebagai Buku". Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Nuraini, T. K. 2012. Penyuntikan Ekstrak Biji *Carica papaya* L. Varietas Cibinong Pada *Macaca fascicularis* L. dan Kualitas Spermatozoa serta Kadar Hormon Testosteron. *Makara Kesehatan*. Vol.16 (1) : 9-16.
- Nururrahmah. 2014. Pengaruh Rokok terhadap Kesehatan dan Pembentukan Karakter Manusia. *Prosiding Seminar Nasional*. Vol. 1 (1) :77-84.

- Oyeyipo, Raji, Emikpe, Dan Bolarinwa. 2011. Effect of Nicotine on Sperm Characteristics and Fertility Profile in Adult Male Rats : A Possible Role of Cessation. *Journal Reproduction Infertility*. Vol.12(3):201-207.
- Partodiharjo, S. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara.
- Pham-Huy, L. A. P. H. dan Pham-Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*. Vol 4: 89-96.
- Pereira, Valentao, Pereira dan Andrade. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*. Vol. 14 (1): 2202-2211.
- Pietrick, R.H., dan H.Dejong. 2008. Viability spermatozoa of spermatogenesis. Philadelphia : W.B. Saunders.
- Primurdia, E. G., dan Kusnadi, J. 2014. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix Dactilyfera L.*) Dengan Isolat *L. Plantarum* Dan *L. Casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 2 (3): 98-109.
- Purwaningsih, E. 1996. Morfologi Spermatozoa Adakah Kaitannya dengan Keberhasilan Kehamilan. *Jurnal Kedokteran YARSI*. Vol. 4(1):54-65.
- Putra, Y. 2014. Pengaruh Rokok terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*, Strain Jepang). *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol. 6(1): 30-42.
- Rahmi, N. 2012. "Pengaruh Pemberian Jus Buah Jambu Biji (*Psidium guajava*) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit Jantan Diinduksi Asap Rokok". Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Rana, S.V., dan Verma, Y. 2005. Biochemical toxicity of benzene. *Journal of Environment Biological*. Vol. 26(2):157-68.
- Rasekh, Jashni, Rahmanian, dan Jahromi. 2015. Effect of Palm Pollen on Sperm Parameters of Infertile Man. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Vol. 18 (24):196-199.
- Rezha. 2013. "Pengaruh Vitamin E terhadap Kualitas Sperma Tikus Putih yang Dipapar Timbal". Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Rini, A.R., Hairrudin., dan Sugiyanta. 2013. Efektivitas Ekstrak Putri Malu (*Mimosa pudica* Linn.) sebagai Nefroprotektor pada Tikus Wistar yang

- Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 1 (1): 15-19.
- Rodgman, A., dan Perfetti, T.A. 2009. *The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke*. USA : CRC Press. Taylor and Francis Group.
- Rostita. 2009. *Khasiat dan Keajaiban Kurma*. Bandung : Qanita Mizan Pustaka.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its Reproduction and Developmental*. Minneapolis : Burgess Publishing Company.
- Ruslan, G. 2000. Efek Merokok Terhadap Rongga Mulut. *Cermin Dunia Kedokteran*. Vol. 113: 41-43.
- Sadikin, M. 2001. Pelacakan Dampak Radikal Bebas Terhadap Makromolekul dalam *Kumpulan Makalah Pelatihan : Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Saleh, E., Tawfik, M., dan Abu-Tarboush, H. 2011. Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Various Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruits from Saudi Arabia. *Food and Nutrition Sciences*. Vol. 2(10): 1134-1141.
- Saleh, R.A., Agarwal, A., Nada, E.A., El-Tonsy, M.H., Sharma, R.K., Meyer, A., Nelson, D.R. dan Thomas, A.J. 2003. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertility and Sterility*. Vol. 79(3):1597-605.
- Santoso, S. 2003. *SPSS Mengolah Data Statistik Secara Profesional*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Sari, P.D. 2014. Effect of Cigarette Smoke In Quality and Quantity Spermatozoa. *Journal of Majority*. Vol 3 (7):102-106.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R., dan Gosh, A. K. 2010. Free Radical and Their Role in Different Clinical Conditions : An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. Vol. 1(3): 185-192.
- Satuhu, S. 2010. *Kurma Kasiat dan Olahannya*. Ed I. Jakarta : Penebar Swadaya.3-5
- Setiadi. 2007. *Anatomi dan Fisiologi Manusia*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exerimental p Physiol*. Vol. 82(2): 291-5.

- Sitepoe. 2000. *Kekhususan Rokok Indonesia*. Jakarta: PT Gramedia Widia Sarana Indonesia.
- Steinbrenner, H., dan Sies, H. 2009. Protection against reactive oxygen species by selenoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol 1790 : 1478–1485.
- Sujoko, H., Setiadi, M.A., dan Boediono, A. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi *Gradien Densitas Percoll*. *Jurnal Veteriner*. Vol 10 (3):125-132.
- Suryohudoyo, P. 2000. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Perpustakaan Nasional RI. Jakarta : Penerbit CV Sagung Seto.
- Susanna, Dewi., Budi Hartono, dan Hendra Fauzan. 2003. *Penentuan Kadar Nikotin Dalam Asap Rokok*. Depok:Universitas Indonesia.
- Tremellen, K. 2008. *Oxidatif Stress And Male Infertility-A Clinical Perspective*. Available From : <http://humupd.oxfordjournal.org/cgi/content/full/14/3/23>. Accessed : Mei,10th 2016.
- Vayalil, P. 2002. Antioxidant and Antimutagenic Properties of Aqueous Extract of Date Fruit (*Phoenix dactylifera* L. Arecaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 50(3): 610-617.
- Winarsi, Herry. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- World Health Organization. 2002. *Manual on Basic Semen Analysis-Final Version*. NAFA and ESHRE-SIGA.
- World Health Organization. 2008. *WHO Report on The Global Tobacco Epidemic*. Brazil: WHO.
- World Health Organization. 2010. *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen 5th Edition*. Brazil: Courtesy Switzerland.
- World Health Organization. 2013. *WHO Report: the global tobacco epidemic*. Indonesia: World Health Organization.
- Yang, H. S., Han, D. K., dan Kim, J. R. 2006. Effect of Tocopherol on Cadmium-Induced Toxicity in Rats Testis and Spermatogenesis. *Journal of Korean Medicine Science*. Vol. 21: 445-451.
- Yatim. 1996. *Histologi*. Bandung : Tarsito.

- Yeh, C. T., Ching, L. C., dan Yen, G. C. 2008. Inducing gene expression of cardiac antioxidant enzymes by dietary phenolic acids in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. Vol. 20 : 163–171.
- Zalke, M. M., Pazare, P., dan Bhimani, N. 2014. Effect of Cigarette Smoking on Physical Characteristics of Semen. *International Journal of Healthcare and Biomedical Research*. Vol. 2(4):100-112.
- Zavos, Correa, Antypas, Zarmakoupis, dan Zavos. 1998. The effect of seminal plasma from cigarette smokers on sperm viability and longevity. *American Society for Reproductive Medicine: Elsevier Science Inc*.
- Zen, A., Pertiwi, D., dan Chodidjah. 2013. Pengaruh pemberian sari buah kurma (*phoenix dactylifera*) terhadap kadar hemoglobin: studi eksperimental pada tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet rendah zat besi (Fe). *Sains Medika*. Vol. 5(1): 17-19.

## LAMPIRAN

### Lampiran 5.1 Perhitungan Dosis Bahan Uji yang Diberikan pada Hewan Coba

#### 5.1.1 Kelompok kontrol positif

Dosis vitamin C pada marmut = 15 mg

Konversi dosis marmut ke dosis mencit = 0,08

Dosis vitamin C pada mencit (20 g) =  $0,08 \times 15 \text{ mg} = 1,2 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$   
mencit = 60 mg/kg BB/hari

#### 5.1.2 Kelompok perlakuan dosis I

Dosis yang digunakan pada mencit =  $\frac{1}{2} \times \text{dosis II} = \frac{1}{2} \times 10 \text{ ml/kg BB/hari}$   
= 5 ml/kg BB/hari.

#### 5.1.3 Kelompok perlakuan dosis II

Dosis sari buah kurma sebagai peningkat hemoglobin pada tikus = 1,6 ml/200g BB.

Konversi dosis tikus ke mencit = 0,14

Dosis yang digunakan pada mencit (20 g) =  $0,14 \times 1,6 \text{ ml} = 0,224 \text{ ml}/20 \text{ g BB}$   
mencit  $\approx 0,2 \text{ ml}/20 \text{ g} = 10 \text{ ml/kg BB/hari}$

#### 5.1.4 Kelompok perlakuan dosis I

Dosis yang digunakan pada mencit =  $2 \times \text{dosis II} = 2 \times 10 \text{ ml/kg BB/hari} = 20 \text{ ml/kg BB/hari}$ .



## Lampiran 5.2 Perhitungan Pengenceran Bahan Uji

### 5.2.1 Kelompok kontrol positif

Kelarutan vitamin C = 1 dalam 3 air

Untuk memudahkan pemipetan, 500 mg vitamin C dilarutkan dalam 100 ml air

Volume vitamin C yang diberikan :  $60 \text{ mg/kg BB} \times 1 \text{ ml/6 mg} = 10 \text{ ml/kg BB}$

### 5.2.2 Kelompok perlakuan dosis I

Dosis yang digunakan adalah 5 ml/kg BB/hari.

Pengenceran antara sari kurma dan aquadest adalah 2 : 1

Volume aquadest yang diberikan untuk 1 kg BB adalah  $\frac{1}{2} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$

Total volume yang diberikan adalah  $5 \text{ ml} + 2,5 \text{ ml} = 7,5 \text{ ml/kg BB}$

### 5.2.3 Kelompok perlakuan dosis II

Dosis yang digunakan adalah 10 ml/kg BB/hari.

Pengenceran antara sari kurma dan aquadest adalah 2 : 1

Volume aquadest yang diberikan untuk 1 kg BB adalah  $\frac{1}{2} \times 10 \text{ ml} = 5 \text{ ml}$

Total volume yang diberikan adalah  $10 \text{ ml} + 5 \text{ ml} = 15 \text{ ml/kg BB}$

### 5.2.4 Kelompok perlakuan dosis I

Dosis yang digunakan adalah 20 ml/kg BB/hari.

Pengenceran antara sari kurma dan aquadest adalah 2 : 1

Volume aquadest yang diberikan untuk 1 kg BB adalah  $\frac{1}{2} \times 20 \text{ ml} = 10 \text{ ml}$

Total volume yang diberikan adalah  $20 \text{ ml} + 10 \text{ ml} = 30 \text{ ml/kg BB}$

### Lampiran 5.3 Hasil Pengamatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa

#### 5.3.1 Data Jumlah Spermatozoa (juta/ml)

Replikasi	1	2	3	4	Rata-rata $\pm$ SD
Normal	29	25	31	26	27,75 $\pm$ 2,75
Kontrol Negatif	18	15	16	16	16,25 $\pm$ 1,26
Kontrol Positif	33	39	32	35	34,75 $\pm$ 3,09
Dosis 5 ml/kgBB	27	28	26	31	28 $\pm$ 2,16
Dosis 10 ml/kgBB	30	32	37	31	32,5 $\pm$ 3,11
Dosis 20 ml/kgBB	30	38	40	34	35,5 $\pm$ 4,43

#### 5.3.2 Data Motilitas Spermatozoa (%)

Replikasi	1	2	3	4	Rata-rata $\pm$ SD
Normal	54	57	63	61	58,75 $\pm$ 4,03
Kontrol Negatif	47	45	43	42	44,25 $\pm$ 2,22
Kontrol Positif	58	57	67	63	61,25 $\pm$ 4,64
Dosis 5 ml/kgBB	52	55	60	55	55,5 $\pm$ 3,31
Dosis 10 ml/kgBB	67	61	66	65	64,75 $\pm$ 2,63
Dosis 20 ml/kgBB	72	75	73	69	72,25 $\pm$ 2,5

#### 5.3.3 Data Viabilitas Spermatozoa (%)

Replikasi	1	2	3	4	Rata-rata $\pm$ SD
Normal	76	69	61	70	69 $\pm$ 6,16
Kontrol Negatif	65	58	61	55	59,75 $\pm$ 4,27
Kontrol Positif	84	81	82	80	81,75 $\pm$ 1,71
Dosis 5 ml/kgBB	71	77	70	73	72,75 $\pm$ 3,09
Dosis 10 ml/kgBB	75	78	70	78	75,25 $\pm$ 3,77
Dosis 20 ml/kgBB	78	84	80	82	81 $\pm$ 2,16

## 5.3.4 Data Morfologi Spermatozoa (%)

Replikasi	1	2	3	4	Rata-rata $\pm$ SD
Normal	66	61	65	57	62,25 $\pm$ 4,11
Kontrol Negatif	39	34	37	31	35,25 $\pm$ 3,5
Kontrol Positif	68	79	70	75	73 $\pm$ 4,96
Dosis 5 ml/kgBB	67	71	67	69	68,5 $\pm$ 1,91
Dosis 10 ml/kgBB	76	72	78	73	74,75 $\pm$ 2,75
Dosis 20 ml/kgBB	82	81	80	78	80,25 $\pm$ 1,44

## Lampiran 5.4 Hasil Analisa Data

### 5.4.1 Jumlah spermatozoa

#### Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah P1	.237	4	.	.939	4	.650
P2	.329	4	.	.895	4	.406
P3	.218	4	.	.920	4	.538
P4	.250	4	.	.927	4	.577
P5	.314	4	.	.854	4	.240
P6	.214	4	.	.963	4	.798

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Jumlah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.537	5	18	.228

#### ANOVA

Jumlah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1010.375	5	202.075	22.985	.000
Within Groups	158.250	18	8.792		
Total	1168.625	23			

## Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound

P1	P2	11.50000*	2.09662	.000	7.0952	15.9048
	P3	-7.00000*	2.09662	.004	-11.4048	-2.5952
	P4	-.25000	2.09662	.906	-4.6548	4.1548
	P5	-4.75000*	2.09662	.036	-9.1548	-.3452
	P6	-7.75000*	2.09662	.002	-12.1548	-3.3452
P2	P1	-11.50000*	2.09662	.000	-15.9048	-7.0952
	P3	-18.50000*	2.09662	.000	-22.9048	-14.0952
	P4	-11.75000*	2.09662	.000	-16.1548	-7.3452
	P5	-16.25000*	2.09662	.000	-20.6548	-11.8452
	P6	-19.25000*	2.09662	.000	-23.6548	-14.8452
P3	P1	7.00000*	2.09662	.004	2.5952	11.4048
	P2	18.50000*	2.09662	.000	14.0952	22.9048
	P4	6.75000*	2.09662	.005	2.3452	11.1548
	P5	2.25000	2.09662	.297	-2.1548	6.6548
	P6	-.75000	2.09662	.725	-5.1548	3.6548
P4	P1	.25000	2.09662	.906	-4.1548	4.6548
	P2	11.75000*	2.09662	.000	7.3452	16.1548
	P3	-6.75000*	2.09662	.005	-11.1548	-2.3452
	P5	-4.50000*	2.09662	.046	-8.9048	-.0952
	P6	-7.50000*	2.09662	.002	-11.9048	-3.0952
P5	P1	4.75000*	2.09662	.036	.3452	9.1548
	P2	16.25000*	2.09662	.000	11.8452	20.6548
	P3	-2.25000	2.09662	.297	-6.6548	2.1548
	P4	4.50000*	2.09662	.046	.0952	8.9048
	P6	-3.00000	2.09662	.170	-7.4048	1.4048
P6	P1	7.75000*	2.09662	.002	3.3452	12.1548
	P2	19.25000*	2.09662	.000	14.8452	23.6548
	P3	.75000	2.09662	.725	-3.6548	5.1548
	P4	7.50000*	2.09662	.002	3.0952	11.9048
	P5	3.00000	2.09662	.170	-1.4048	7.4048

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## 5.4.2 Motilitas spermatozoa

## Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Motilitas P1	.212	4	.	.963	4	.796
P2	.214	4	.	.963	4	.798
P3	.258	4	.	.917	4	.519
P4	.310	4	.	.916	4	.515
P5	.288	4	.	.887	4	.369
P6	.210	4	.	.982	4	.911

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variances

Motilitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.220	5	18	.340

## ANOVA

Motilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1769.208	5	353.842	31.727	.000
Within Groups	200.750	18	11.153		
Total	1969.958	23			

## Multiple Comparisons

Motilitas

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	14.50000*	2.36144	.000	9.5388	19.4612

	P3	-2.50000*	2.36144	.304	-7.4612	2.4612
	P4	3.25000	2.36144	.186	-1.7112	8.2112
	P5	-6.00000*	2.36144	.020	-10.9612	-1.0388
	P6	-13.50000*	2.36144	.000	-18.4612	-8.5388
P2	P1	-14.50000*	2.36144	.000	-19.4612	-9.5388
	P3	-17.00000*	2.36144	.000	-21.9612	-12.0388
	P4	-11.25000*	2.36144	.000	-16.2112	-6.2888
	P5	-20.50000*	2.36144	.000	-25.4612	-15.5388
	P6	-28.00000*	2.36144	.000	-32.9612	-23.0388
P3	P1	2.50000	2.36144	.304	-2.4612	7.4612
	P2	17.00000*	2.36144	.000	12.0388	21.9612
	P4	5.75000*	2.36144	.026	.7888	10.7112
	P5	-3.50000	2.36144	.156	-8.4612	1.4612
	P6	-11.00000*	2.36144	.000	-15.9612	-6.0388
P4	P1	-3.25000	2.36144	.186	-8.2112	1.7112
	P2	11.25000*	2.36144	.000	6.2888	16.2112
	P3	-5.75000*	2.36144	.026	-10.7112	-.7888
	P5	-9.25000*	2.36144	.001	-14.2112	-4.2888
	P6	-16.75000*	2.36144	.000	-21.7112	-11.7888
P5	P1	6.00000*	2.36144	.020	1.0388	10.9612
	P2	20.50000*	2.36144	.000	15.5388	25.4612
	P3	3.50000	2.36144	.156	-1.4612	8.4612
	P4	9.25000*	2.36144	.001	4.2888	14.2112
	P6	-7.50000*	2.36144	.005	-12.4612	-2.5388
P6	P1	13.50000*	2.36144	.000	8.5388	18.4612
	P2	28.00000*	2.36144	.000	23.0388	32.9612
	P3	11.00000*	2.36144	.000	6.0388	15.9612
	P4	16.75000*	2.36144	.000	11.7888	21.7112
	P5	7.50000*	2.36144	.005	2.5388	12.4612

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## 5.4.3 Viabilitas spermatozoa

## Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
viabilitas P1	.250	4	.	.963	4	.795
P2	.159	4	.	.993	4	.970
P3	.192	4	.	.971	4	.850
P4	.218	4	.	.920	4	.538
P5	.267	4	.	.841	4	.199
P6	.151	4	.	.993	4	.972

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variances

viabilitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.753	5	18	.595

## ANOVA

viabilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1347.500	5	269.500	18.033	.000
Within Groups	269.000	18	14.944		
Total	1616.500	23			

## Multiple Comparisons

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	9.25000*	2.73354	.003	3.5071	14.9929



	P3	-12.75000*	2.73354	.000	-18.4929	-7.0071
	P4	-3.75000	2.73354	.187	-9.4929	1.9929
	P5	-6.25000*	2.73354	.035	-11.9929	-.5071
	P6	-12.00000*	2.73354	.000	-17.7429	-6.2571
P2	P1	-9.25000*	2.73354	.003	-14.9929	-3.5071
	P3	-22.00000*	2.73354	.000	-27.7429	-16.2571
	P4	-13.00000*	2.73354	.000	-18.7429	-7.2571
	P5	-15.50000*	2.73354	.000	-21.2429	-9.7571
	P6	-21.25000*	2.73354	.000	-26.9929	-15.5071
P3	P1	12.75000*	2.73354	.000	7.0071	18.4929
	P2	22.00000*	2.73354	.000	16.2571	27.7429
	P4	9.00000*	2.73354	.004	3.2571	14.7429
	P5	6.50000*	2.73354	.029	.7571	12.2429
	P6	.75000	2.73354	.787	-4.9929	6.4929
P4	P1	3.75000	2.73354	.187	-1.9929	9.4929
	P2	13.00000*	2.73354	.000	7.2571	18.7429
	P3	-9.00000*	2.73354	.004	-14.7429	-3.2571
	P5	-2.50000	2.73354	.373	-8.2429	3.2429
	P6	-8.25000*	2.73354	.007	-13.9929	-2.5071
P5	P1	6.25000*	2.73354	.035	.5071	11.9929
	P2	15.50000*	2.73354	.000	9.7571	21.2429
	P3	-6.50000*	2.73354	.029	-12.2429	-.7571
	P4	2.50000	2.73354	.373	-3.2429	8.2429
	P6	-5.75000*	2.73354	.050	-11.4929	-.0071
P6	P1	12.00000*	2.73354	.000	6.2571	17.7429
	P2	21.25000*	2.73354	.000	15.5071	26.9929
	P3	-.75000	2.73354	.787	-6.4929	4.9929
	P4	8.25000*	2.73354	.007	2.5071	13.9929
	P5	5.75000*	2.73354	.050	.0071	11.4929

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## 5.4.4 Morfologi spermatozoa

## Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Morfologi P1	.248	4	.	.925	4	.564
P2	.191	4	.	.979	4	.894
P3	.227	4	.	.952	4	.726
P4	.283	4	.	.863	4	.272
P5	.237	4	.	.939	4	.650
P6	.192	4	.	.971	4	.850

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variances

Morfologi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.475	5	18	.071

## ANOVA

Morfologi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5175.333	5	1035.067	91.329	.000
Within Groups	204.000	18	11.333		
Total	5379.333	23			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Morfologi

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound

P1	P2	27.00000*	2.38048	.000	21.9988	32.0012
	P3	-10.75000*	2.38048	.000	-15.7512	-5.7488
	P4	-6.25000*	2.38048	.017	-11.2512	-1.2488
	P5	-12.50000*	2.38048	.000	-17.5012	-7.4988
	P6	-18.00000*	2.38048	.000	-23.0012	-12.9988
P2	P1	-27.00000*	2.38048	.000	-32.0012	-21.9988
	P3	-37.75000*	2.38048	.000	-42.7512	-32.7488
	P4	-33.25000*	2.38048	.000	-38.2512	-28.2488
	P5	-39.50000*	2.38048	.000	-44.5012	-34.4988
	P6	-45.00000*	2.38048	.000	-50.0012	-39.9988
P3	P1	10.75000*	2.38048	.000	5.7488	15.7512
	P2	37.75000*	2.38048	.000	32.7488	42.7512
	P4	4.50000	2.38048	.075	-.5012	9.5012
	P5	-1.75000	2.38048	.472	-6.7512	3.2512
	P6	-7.25000*	2.38048	.007	-12.2512	-2.2488
P4	P1	6.25000*	2.38048	.017	1.2488	11.2512
	P2	33.25000*	2.38048	.000	28.2488	38.2512
	P3	-4.50000	2.38048	.075	-9.5012	.5012
	P5	-6.25000*	2.38048	.017	-11.2512	-1.2488
	P6	-11.75000*	2.38048	.000	-16.7512	-6.7488
P5	P1	12.50000*	2.38048	.000	7.4988	17.5012
	P2	39.50000*	2.38048	.000	34.4988	44.5012
	P3	1.75000	2.38048	.472	-3.2512	6.7512
	P4	6.25000*	2.38048	.017	1.2488	11.2512
	P6	-5.50000*	2.38048	.033	-10.5012	-.4988
P6	P1	18.00000*	2.38048	.000	12.9988	23.0012
	P2	45.00000*	2.38048	.000	39.9988	50.0012
	P3	7.25000*	2.38048	.007	2.2488	12.2512
	P4	11.75000*	2.38048	.000	6.7488	16.7512
	P5	5.50000*	2.38048	.033	.4988	10.5012

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

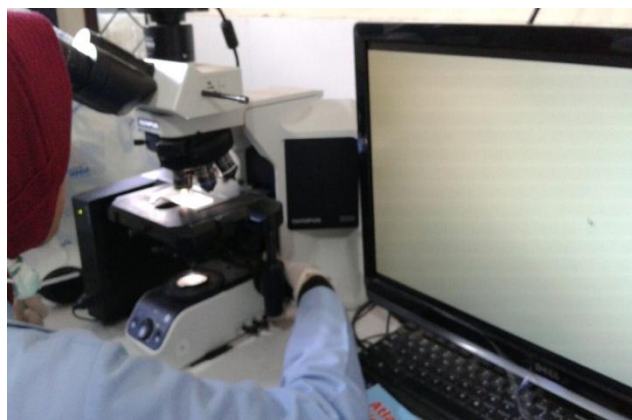
### Lampiran 5.5 Dokumentasi



Gambar 1 dan 2. Proses Pemaparan Asap Rokok dan Pemberian Sari Kurma



Gambar 3 dan 4 Pembedahan dan Pengambilan Semen



Gambar 5. Pengamatan Mikroskop