

**PENGARUH EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM HIJAU
(*Amaranthus Hybridus L*) TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA
(Studi pada Tikus Wistar Jantan dengan Paparan Asap Rokok)**

***EFFECTS OF GREEN SPINACH LEAVES ETHANOL EXTRACT
(Amaranthus Hybridus L) ON MOTILITY SPERMATOZOA (Study on
Male Wistar Rats with Exposure to Cigarette Smoke)***

Diah Nauvalia Mulyani¹, Yekti Hediningsih², Yanuarita Tursinawati^{3*}

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang

³Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang
Jl. Kedungmundu No.18, Kedungmundu, Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah

ABSTRAK

Asap rokok mengandung radikal bebas pemicu stres oksidatif menyebabkan penurunan motilitas sperma. Penurunan motilitas disebabkan akibat penurunan antioksidan. Antioksidan terdapat di sayuran pada ekstrak daun bayam hijau berfungsi sebagai antioksidan mencegah stres oksidatif dan peningkatan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS). Tujuan studi ini ialah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) terhadap motilitas spermatozoa. Penelitian quasi eksperimen ini menggunakan 25 ekor tikus *Rattus norvegicus* jantan yang menggunakan strategi *post-test only control group design* dan pendekatan simple random sampling. Tahap awal dalam analisis data adalah uji normalitas. Uji *Levene One Way ANOVA* kemudian dilakukan, dan uji *Post Hoc LSD* digunakan untuk membandingkan hasilnya. Berdasarkan hasil penelitian, kelompok ekstrak etanol daun bayam hijau mempunyai motilitas maksimum pada dosis 588 mg/KgBB (82%) dan terendah pada dosis 147 mg/KgBB (64%). Kelompok Kn- dan Kn+ (0,000), Kn- dan P1 (0,000), Kn+ dan P2 (0,009), Kn+ dan P3 (0,005), P1 dan P2 (0,009), serta P1 dan P3 (0,005) berbeda nyata dengan satu sama lain. Ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) mempengaruhi motilitas spermatozoa dan perbedaan yang signifikan terlihat di antara lima kelompok yang diteliti.

Kata kunci: *Spermatozoa, Motilitas, Bayam Hijau, Asap Rokok, Reactive Oxygen Species*

ABSTRACT

Cigarette smoke contains free radicals that trigger oxidative stress causing decreased sperm motility. A decrease in antioxidants causes reduced motility. Antioxidants found in vegetables in green spinach leaf extract function as antioxidants to prevent oxidant stress and increase levels of Reactive Oxygen Species (ROS). The aim of this study was to determine the effect of ethanol extract of green spinach leaves (Amaranthus hybridus L.) on spermatozoa motility. This quasi-experimental research used 25 male Rattus norvegicus

mice using a post-test only control group design strategy and a simple random sampling approach. The initial stage in data analysis is the normality test. The Levene One Way ANOVA test was then performed, and the Post Hoc LSD test was used to compare the results. Based on the research results, the ethanol extract group of green spinach leaves had maximum motility at a dose of 588 mg/KgBW (82%) and the lowest at a dose of 147 mg/KgBW (64%). The groups Kn- and Kn+ (0.000), Kn- and P1 (0.000), Kn+ and P2 (0.009), Kn+ and P3 (0.005), P1 and P2 (0.009), and P1 and P3 (0.005) are significantly different from each other. Ethanol extract of green spinach leaves (*Amaranthus hybridus* L.) affected spermatozoa motility, and significant differences were seen among the five groups studied.

Keywords: Spermatozoa, Motility, Green Spinach, Cigarette Smoke, Reactive Oxygen Species

Penulis korespondensi:

*Yanuarita Tursinawati

Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang

Jl. Kedungmundu No.18, Kedungmundu, Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah

Email: yanuarita_tursina@unimus.ac.id

PENDAHULUAN

Tiongkok dan India masing-masing merupakan negara dengan populasi perokok terbanyak dan Indonesia berada di peringkat ketiga (Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta, 2022). Menurut Badan Pusat Statistik (BPS), seseorang merokok dimulai usia lebih dari 15 tahun dengan persentase 28,26% tahun 2022 dan menurun 0,70% dari tahun 2021 sebanyak 28,96% (Ridhwan, 2022). Rokok terdiri lebih dari 2.500 komponen kimia tembakau. Berdasarkan data dari Rodgman dan Perfetti, ada 1.100 komponen terbakar tanpa diubah oleh pembakaran, sisanya membusuk/ membelah, bereaksi dan membentuk komponen baru. Tar, CO (karbon monoksida), TSNA (nitrosamine spesifik tembakau), BaP (*benzo A pyrene*), residu pestisida, serta zat lain merupakan komponen penyusun rokok. Selain itu, terdapat senyawa seperti persenyawaan nitrogen (*Å-pyridyl-N-methyl pyrrolidine*), senyawa karbohidrat dan lain-lain (Tirtosastro and Murdiyati, 2016). Rokok memiliki dampak berbahaya bagi kesehatan terutama mengakibatkan keseriusan gangguan pada sistem reproduksi (Kalemben, 2016).

Rokok berdampak buruk pada penurunan secara kualitas dan motilitas *spermatozoa* (Fatmawati, Isradji and Yusuf, 2016). Karena merokok meningkatkan kadar Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dan menurunkan kadar antioksidan dalam air mani, stres oksidatif dari rokok dapat menyebabkan masalah terkait spermatogenesis (Unitly, Nindatu and Reaso, 2022). Secara fisiologis sperma mengandung radikal bebas sebagai proses pertahanan endogen, yang berfungsi sebagai anti radikal bebas. Radikal bebas muncul disebabkan oleh gas rokok yang berdampak merusak *Dexyribonucleicacid* (DNA) dan apoptosis *spermatozoa*.

Senyawa rokok juga menghasilkan aglutinasi yang dapat memicu adanya penurunan motilitas sperma (Gunawan, Turalaki and Tendean, 2017).

Motilitas sperma merupakan kemampuan pergerakan sperma. Motilitas sperma dapat menurun disebabkan adanya stres oksidatif yang meningkat dan pertahanan antioksidan yang buruk pada lingkungan mikro epididimis akan dapat membahayakan sperma. *Spermatozoa* rentan terhadap stres oksidatif karena membrannya mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang berlebihan (Dcunha *et al.*, 2022). Dalam penelitiannya mengenai hubungan infeksi organ reproduksi, status gizi, beban kerja, dan paparan asap rokok dengan masalah infertilitas di RSI Sultan Agung Semarang, Halimah (2018) menemukan proporsi pasien infertilitas di RSI Sultan Agung yang terpapar rokok lebih besar (53,3%) dibandingkan pasien dengan faktor lain (Jumiati, Fitria and Rahmawati, 2021). Hal ini menandakan bahwa rokok menjadi salah satu pemicu terjadinya penurunan motilitas *spermatozoa* akibat peningkatan stres oksidatif dan antioksidan yang buruk didalam tubuh (Dcunha *et al.*, 2022).

Menghambat oksidasi bahan kimia penghasil radikal bebas merupakan salah satu fungsi antioksidan. Antioksidan juga mencegah stres oksidatif. Ada dua jenis antioksidan: antioksidan sintetik (buatan) dan antioksidan alami. Antioksidan alami dapat menghentikan peroksidasi lipid dalam makanan, menghentikan penyakit degeneratif, menghentikan kelainan perkembangan sperma dan oosit, serta melindungi organisme dari kerusakan akibat molekul oksigen reaktif. Bayam hijau merupakan salah satu senyawa antioksidan alami (Adi Parwata, 2015).

Bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*), salah satu tanaman pangan *famili Amaranthaceae*, merupakan sumber zat besi yang penting. Protein, mineral, kalsium, zat besi, vitamin, dan metabolit sekunder (*sterol, tokoferol, tanin, flavonoid dan saponin*) semuanya ada di dalamnya (Dheny R, 2017). Bayam hijau juga mengandung tujuh belas asam amino, *tokoferol* golongan *terpenoid* dan mengandung antioksidan (Maryani, 2018). *Tokoferol* merupakan salah satu antioksidan yang terdapat pada bayam hijau. Bentuk vitamin E yang paling umum dalam aliran darah adalah *tokoferol*. Kelas vitamin E yang disebut alfa-*tokoferol* terlibat dalam ekspresi gen, menjaga homeostasis seluler, dan bertindak sebagai antioksidan untuk menangkal sejumlah penyakit degeneratif serta kemandulan sperma (Harlen, Muchtadi and Palupi, 2018). Karena merupakan antioksidan, vitamin E menghabiskan radikal lipid peroksidil dan melindungi dari radikal bebas dengan memberikan atom hidrogen spesies oksigen reaktif. Selain itu, ia berkontribusi terhadap regulasi, pembelahan sel, dan ekspresi gen (Lamid, 2016).

Menurut Rani, et.al (2021) menunjukkan bahwa mencit jantan wistar yang dipaparkan asap rokok setelah diberikan ekstrak etanol daun bayam merah memiliki kandungan total antioksidan tinggi mampu meningkatkan motilitas dan morfologi *spermatozoa* (Aryani and Widyaningrum, 2016). Kualitas morfologi, motilitas, dan konsentrasi *spermatozoa* pada kelompok perlakuan yang diberi dosis 147 mg/KgBB, dosis 294 mg/KgBB, dosis 588 mg/KgBB, dan mempunyai efektivitas meningkatkan motilitas *spermatozoa* terhadap paparan asap rokok semuanya membaik, menurut Leni (2020). Tikus wistar jantan dipapar asap rokok sebanyak empat kali sehari selama 21 hari setelah mendapat ekstrak etanol bayam merah (Leni, 2020).

Menurut Alquran, Allah SWT menyatakan bahwa manusia adalah keturunan air rendah atau germfah. Proses menggabungkan setetes air mani pria dan wanita disebut germfah. Q.S. Al-Insaan:2 berisi penjelasan ini (Muchtaromah, 2018). Menurut ayat tersebut, setetes air mani (sperma) yang mengandung jutaan sel *spermatozoa* beserta sel telur (ovum) dibentuk oleh Allah SWT. *Spermatozoa* sebagaimana memiliki peranan penting bagi makhluk hidupnya yaitu sebagai proses reproduksi. Oleh karena itu *spermatozoa* penting

dalam proses pembelahan, pembentukan dan pematangan sel gamet. Apabila terdapat kerusakan akibat dari paparan rokok akan menyebabkan immotilitas pada sel.

Berdasarkan konteks yang telah dijelaskan sebelumnya. Hingga saat ini, penelitian yang sama terkonsentrasi pada daun bayam merah dibandingkan daun bayam hijau, yang belum diteliti. Penulis bermaksud untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) terhadap motilitas *spermatozoa* dengan menggunakan percobaan pada tikus wistar jantan yang dipapar asap rokok.

METODE PENELITIAN

Studi ini ialah desain kelompok kontrol yang semata-mata untuk *post-test* dalam setting laboratorium kuasi-eksperimental. Populasi penelitian adalah tikus putih jantan strain Wistar (*Rattus norvegicus*) berumur 2-3 bulan. Sebanyak dua puluh tikus, ditambah lima tikus putih Wistar jantan lainnya yang berusia antara dua dan tiga bulan dan dibagi menjadi lima kelompok, dijadikan sebagai subjek uji. Di mana akan menangani setiap kelompok kecil secara unik. Prosedur pengambilan sampel acak langsung dengan kriteria inklusi dan eksklusi merupakan strategi pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini.

Alat dan Bahan

Alat

- a. Kandang tikus khusus 5 unit dilengkapi tempat makan dan minum
- b. Sonde lambung
- c. Sput 3cc
- d. Timbangan elektrik
- e. Alat ekstraksi (gelas ukur, *erlenmeyer*, batang pengaduk, hot plate, blander, dll)
- f. *Rotary evaporator*
- g. Alat pembedahan (gunting, pisau bedah, scalpel, loop dll)
- h. Alat analisis motilitas (cawan petri, pipet tetes, objek glass, *deck glass*, mikroskop, kertas label, gelas ukur dan mikroskop)
- i. Kloroform
- j. *Smoking tool*

Bahan

- a. Tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar usia 2-3 bulan sejumlah 25 ekor
- b. Rokok konvensional
- c. Etanol
- d. Daun bayam hijau
- e. *Aquadest*
- f. Pakan dan minum tikus
- g. Larutan NaCl fisiologis, asam pikrat jenuh, asam asetat glasial

Jalannya Penelitian

1. Membuat ekstrak etanol daun bayam

Menyortir daun bayam hijau dengan benar merupakan langkah awal dalam pembuatan ekstrak etanolnya. Setelah disortir, daun dibersihkan, diangin-anginkan, lalu dijemur. Untuk membuat bubuk halus, daun kering digabungkan dan diayak dengan saringan mesh (nomor 40). Serbuk simplisia tersebut kemudian ditimbang. Bubuk daun bayam hijau

dimasukkan ke dalam botol berbentuk mulut (maserator), kemudian ditambahkan etanol 96% hingga bubuk terendam seluruhnya. Setelah 6 jam, daun bayam hijau direndam selama 24 jam sambil diaduk sesekali. Maserat kemudian dibagi menggunakan kain. Setidaknya dua kali prosedur penyaringan dilakukan dengan menggunakan jenis dan volume pelarut yang sama. Maserat yang telah terkumpul seluruhnya diuapkan dalam alat penguap putar vakum dengan suhu maksimum 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C hingga tercapai berat yang konsisten, dan ditimbang.

2. Perhitungan dosis daun bayam hijau

Tabel 1. Konversi dosis hewan percobaan menurut Laurence dan Bacharach

	Mencit 20g	Tikus 200g	Marmut 400g	Manusia 70 kg
Mencit (20g)	1,0	7,0	12,23	387,9
Tikus (200g)	0,14	1,0	1,74	56,0
Marmut (400g)	0,08	0,57	1,0	31,50
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	1,0

Dosis ekstrak daun bayam hijau

Pada penelitian ini menggunakan 3 dosis yang berbeda yaitu:

Dosis PI : 147 mg/KgBB

Dosis PII : 294 mg/KgBB

Dosis PIII : 588 mg/KgBB

3. Pemberian ekstrak etanol daun bayam hijau

Ekstrak etanol daun bayam hijau dibuat dengan melarutkan komponen uji dalam air suling mengikuti dosis pengobatan yang dianjurkan. Perlakuan pertama, ekstrak etanol daun bayam hijau 147 mg/KgBB dilarutkan dalam 10 mL akuades steril; tahap kedua, ekstrak etanol daun bayam hijau 294 mg/KgBB dilarutkan dalam 10 mL air suling steril; dan tahap ketiga, daun bayam hijau KgBB sebanyak 599 mg/KgBB dilarutkan dalam 10 mL aquades steril. Setelah itu larutan ekstrak etanol daun bayam hijau yang sudah dilarutkan dengan aquades diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung dan diberikan bertingkat pada setiap kelompok dalam sehari sekali selama 21 hari.

4. Pemberian dosis rokok

Subyek uji ditempatkan dalam sangkar unik berbentuk kotak yang dikenal sebagai "*smoke chamber*", yang memiliki satu bukaan di atasnya tempat asap rokok dapat masuk dan dihembuskan menggunakan jarum suntik 50 cc. Tikus wistar menghirup asap rokok hingga rokoknya benar-benar hilang. Asap rokok diperoleh dengan menyalakan satu batang rokok konvensional, dihirup melalui alat suntik berukuran 50 cc, kemudian dihembuskan ke dalam ruang asap. Dua kali sehari, sekali pada pagi hari dan sekali pada sore hari, rokok ini dipaparkan. Asap rokok diberikan selama 21 hari.

5. Pengambilan sampel tikus

a. Anestesi tikus dengan kloroform

b. Lakukan laparotomi

c. Potong daerah duktus deferens

d. Selanjutnya, keluarkan sperma dengan memijat kedua duktus deferens yang telah dipotong dan letakkan di dalam gelas arloji.

6. Pemeriksaan *motilitas spermatozoa*

a. Teteskan stok sperma sebanyak 1 tetes yang sudah tersedia ke atas objek glass

b. Tutup objek glass yang terdapat sampel dengan *deck glass*

- c. Letakkan di atas mikroskop dengan perbesaran 200x lalu memperhatikan berapa persentase *spermatozoa* dengan motilitas progresif atau non-progresif dari *spermatozoa* (Cao *et al.*, 2018).
- d. Kemudian hitung motilitas minimal dalam total 200 sperma, kecuali bila total *spermatozoa* sangat sedikit maka dilakukan dihitung seluruh lapangan pandang (Unimus, 2022).

Analisis Data

Analisis bivariat dan univariat merupakan teknik yang digunakan untuk analisis data. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun bayam hijau berdampak terhadap motilitas sperma tikus Wistar (*Rattus norvegicus*), dilakukan analisis univariat terhadap data yang dikumpulkan. Hasil pemeriksaan laboratorium akan dimasukkan kedalam tabel distribusi yang akan diprogram komputer. Tabel distribusi frekuensi adalah tampilan selanjutnya untuk hasil ini. Sementara itu, analisis bivariat digunakan untuk memastikan bagaimana masing-masing variabel mempengaruhi variabel lainnya. Data motilitas dianalisis menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui normalitas. Dengan menggunakan nilai signifikan $p > 0,05$ maka uji *One Way ANOVA* dilakukan jika data menunjukkan nilai yang berdistribusi teratur. Tes *LSD post hoc* kemudian dilakukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Univariat

Tabel 2. Hasil Analisis Motilitas Spermatozoa Mencit Jantan

Perlakuan	N	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Rata-Rata	Standar Deviasi
Kn-	5	0	90%	68%	38%
Kn+	5	50%	80%	64%	12%
P1	5	50%	80%	64%	12%
P2	5	77%	87%	80%	4%
P3	5	77%	90%	82 %	5%

Kelompok perlakuan 3 (P3) tampil lebih baik dibandingkan kelompok perlakuan 1 (P1), 2 (P2), dan 3 (Kn-) masing-masing sebesar 68%, 64%, dan 68% pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif. Rata-rata nilai motilitas spermatozoa yang paling tinggi adalah 82%.

Analisis Normalitas

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas

Kelompok	ρ Value	Keterangan
Kontrol negative	0,758*	Normal
Kontrol positif	0,884*	Normal
Perlakuan 1	0,884*	Normal
Perlakuan 2	0,421*	Normal
Perlakuan 3	0,314*	Normal

Keterangan: * Normal ($p > 0,05$)

Berdasarkan tabel sebelumnya diketahui nilai signifikansi masing-masing kelompok lebih besar dari 0,05. Temuan ini menunjukkan bahwa distribusi data tiap kelompok tersebar secara normal.

Analisis Homogenitas

Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas

Kelompok	Rata-rata±SD (%)	p [†]	Interpretasi
Kontrol -	68±38	p= 0,073*	Homogen
Kontrol +	64±12		
Perlakuan 1	64±12		
Perlakuan 2	80±4		
Perlakuan 3	82 ±5		

Keterangan : * Normal (p > 0,05)

Tabel di atas menampilkan temuan uji homogenitas dengan menggunakan uji Levene, dengan tingkat signifikansi sebesar 0,073 atau nilai p > (0,05). Temuan ini menunjukkan adanya variansi data yang seragam dalam data penelitian.

Analisis Bivariat

Tabel 5. Hasil uji analisis *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*

Kelompok Perlakuan	One Way ANOVA	Post Hoc				
		Kn-	Kn+	P1	P2	P3
Kn-		-	0,000*	0,000*	0,203	0,294
Kn+		0,000*	-	1,000	0,009*	0,005*
P1	0,001*	0,000*	1,000	-	0,009*	0,005*
P2		0,203	0,009*	0,009*	-	0,813
P3		0,294	0,005*	0,005*	0,813	-

Keterangan: * Nilai Signifikan (p < 0,05)

Tabel di atas yang menunjukkan hasil analisis statistik uji *Post Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok Kn- dan Kn+ (0,000), Kn- dan P1 (0,000), Kn+ dan P2 (0,009) , Kn+ dan P3 (0,005), P1 dan P2 (0,009), serta P1 dan P3 (0,005).

PEMBAHASAN

Studi pada tikus Wistar jantan yang diberi ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) mengungkapkan bahwa ekstrak tersebut mempengaruhi motilitas *spermatozoa*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberi paparan asap rokok dan ekstrak etanol daun bayam hijau dengan dosis 588 mg/KgBB mengalami perubahan motilitas *spermatozoa* yang paling nyata. Selain itu, kelompok perlakuan 1 (P1) yang mendapat ekstrak etanol daun bayam hijau dengan dosis 147 mg/KgBB dan asap rokok mengalami sedikit perubahan pada motilitas *spermatozoa*.

Berdasarkan penelitian Leni Kusturlani (2020), luaran yang diperoleh menunjukkan kesamaan yaitu penelitian yang menggunakan ekstrak etanol daun bayam hijau dan merah mempunyai efek positif yang sama dengan penelitian yang menggunakan dosis 588 mg/KgBB, yaitu paling efektif dalam membesarkan Tikus. *Spermatozoa* yang terpapar asap rokok mempunyai persentase motilitas yang cukup besar yaitu sebesar 53%, dosis 294 mg/KgBB berada pada urutan kedua sebesar 26% dan dosis 147 mg/KgBB sebesar 14% mempunyai persentase terendah. Persamaan pengaruh disebabkan adanya kandungan senyawa antioksidan pada kedua daun bayam tersebut yang terdapat senyawa flavonoid sebagai antioksidan, namun daun bayam hijau terdapat senyawa antioksidan tambahan yang lain seperti terdapat kandungan saponin dan tokoferol sebagai antioksidan (Handayani *et al.*, 2023). Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas *spermatozoa* dapat ditingkatkan dan diturunkan pada tikus Wistar yang terpapar asap rokok dengan pemberian ekstrak etanol daun bayam hijau (Leni, 2020)

Penelitian Setia Arum, Kuswanto and Runidin (2021) telah menunjukkan bahwa pemberian daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) sebagai ekstrak etanol dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa. Ini menunjukkan bahwa motilitas *spermatozoa* meningkat menjadi 80,2% setelah beberapa dosis ekstrak dan paparan asap dari rokok. Berdasarkan penelitian yang dilangsungkan oleh Pradila Desty Sari (2019), bahwa penyebab dari perubahan motilitas spermatozoa yang signifikan pada tikus wistar jantan disebabkan adanya peningkatan konsentrasi sperma yang disebabkan paparan asap rokok yang mengandung adanya nikotin (Desty Sari, 2019). Nikotin dapat menurunkan jumlah atau konsentrasi sperma dengan mengganggu respirasi seluler mitokondria, yang menyebabkan produksi ROS seperti hidrogen peroksida dan anion superoksida dan selanjutnya meningkatkan stres oksidatif (Sanggamale, Rumbajan and Tendean, 2020). Mengurangi stres oksidatif dapat dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol daun bayam hijau yang kaya akan antioksidan seperti flavonoid, tokoferol dan saponin. Antioksidan ini bekerja sebagai mekanisme pertahanan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas berlebih yang disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif (Yuniasari, 2022).

Hasil penelitian ini juga didapatkan hasil yang berdistribusi normal dan didapatkan bahwa motilitas *spermatozoa* pada kelompok Kn- terdapat perbedaan signifikan atas kelompok Kn+ dan P1. Motilitas *spermatozoa* kelompok Kn+ sangat bervariasi antara kelompok P2 dan P3, sedangkan motilitas *spermatozoa* kelompok P1 sangat berbeda dengan kelompok P2 dan P3. Variasi ini mungkin disebabkan oleh perbedaan perlakuan setiap kelompok ketika diberikan dosis ekstrak daun bayam hijau. Berdasarkan penelitian yang dilangsungkan oleh Leni Kusturlani (2020), didapatkan bahwa terdapat adanya perbedaan motilitas *spermatozoa* tikus wistar masing-masing perlakuan. Perbedaan dosis penggunaan ekstrak etanol daun bayam hijau apabila semakin meningkat dosis yang digunakan akan meningkat juga efektivitas pengaruhnya. Peningkatan efektivitas suatu dosis disebabkan adanya konsentrasi dan respon suatu zat. Apabila dosis yang tinggi akan sebanding langsung dengan efektivitasnya serta dapat memaksimalkan hasil dari kinerjanya (Katzung, 2010).

Lebih lanjut, hasil penyelidikan ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata antara kelompok Kn+ dan kelompok P1. Tidak ditemukan adanya perbedaan menurut penelitian yang dilakukan oleh Immanuel VDB (2017) dkk, bahwa adanya penurunan konsentrasi spermatozoa diakibatkan zat kimia pada paparan asap rokok yang menjadikan kerusakan serta penurunan integritas membran sperma menyebabkan penurunan frekuensi motilitas spermatozoa (Batubara, Wantouw and Tendean, 2017). Menurut Yanulia, dkk

(2023) menjelaskan mengenai ekstrak etanol daun bayam hijau apabila dosis yang diberikan semakin kecil maka kandungan konsentrasi senyawa antioksidan (IC50) pada bayam juga akan semakin kecil dan akan sama konsentrasinya dengan senyawa yang dipergunakan sebagai pembanding (Handayani *et al.*, 2023).

Motilitas spermatozoa bervariasi tergantung pada pengobatan karena sejumlah alasan. Pertama, zat seperti asap rokok dapat mengubah cara radikal bebas, khususnya radikal bebas OH, berpartisipasi dalam reaksi oksidatif. Reaksi-reaksi ini dapat merusak membran sel normal dan integritas struktural area sekitarnya. DNA rusak dan menurunkan integritas membran sperma, yang menurunkan motilitas dan memungkinkan mutasi serta meningkatkan peroksidasi lipid (Desty Sari, 2019)·(Eni, 2017) Kedua, ekstrak daun *Amaranthus hybridus L.*, atau bayam hijau, merupakan sayuran rendah kalori, padat nutrisi, kaya akan vitamin, mineral, dan fitonutrien lainnya (Salsabela, 2022).

Amaranthus hybridus L., atau bayam hijau, mengandung flavonoid dengan kualitas antioksidan yang membantu melindungi tubuh dari radikal bebas berbahaya. Bayam hijau memiliki 52,73 miligram vitamin C per 100 gram (Yuniasari, 2022). Antioksidan yang terdapat pada daun bayam hijau mempunyai kemampuan menangkalkan kemampuan radikal bebas penyebab kerusakan DNA dan pembentukan ROS yang berlebihan (Maryani, 2018). Penelitian yang dirujuk oleh Yanulia dkk. (2023) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam hijau mengandung konsentrasi komponen antioksidan (IC50) yang mampu menghambat oksidasi sebesar 50%; Semakin kuat aktivitas antioksidan maka semakin rendah nilai IC50; sebaliknya semakin tinggi nilai IC50 maka aktivitas antioksidannya semakin rendah (Handayani *et al.*, 2023). Oleh karena itu, bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan dan membantu melindungi tubuh dari radikal bebas berbahaya.

Bayam hijau, memiliki kandungan kuinon, tanin, tokoferol, dan flavonoid yang tinggi. Kelas vitamin E yang disebut alfa-tokoferol terlibat dalam ekspresi gen, menjaga homeostasis seluler, dan bertindak sebagai antioksidan untuk menangkalkan sejumlah penyakit degeneratif serta kemandulan sperma (Harlen, Muchtadi and Palupi, 2018). Banyak dari kuinon dan tanin ini memiliki kualitas antioksidan dan anti-inflamasi yang kuat. Flavonoid yang merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada bayam hijau dapat berfungsi sebagai sumber antioksidan untuk menghentikan produksi radikal bebas (Machfudloh, Awaliyah and Takwanto, 2019).

KESIMPULAN

Berdasarkan temuan penelitian yang menyelidiki dampak ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) terhadap motilitas *spermatozoa*, dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut berdampak pada proses tersebut. Tikus wistar yang hanya diberi makanan biasa dan tidak terpapar asap rokok konvensional menunjukkan motilitas *spermatozoa* normal, sedangkan *spermatozoa* dari tikus yang terpapar asap rokok konvensional menunjukkan perubahan motilitas yang nyata, ditemukan perubahan yang signifikan motilitas spermatozoa dengan dosis ekstrak daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) dengan efektifitas paling rendah untuk mempengaruhi motilitas spermatozoa tikus wistar jantan dengan dosis 147 mg/KgBB, menemukan bahwa dosis ekstrak daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) secara signifikan mengubah motilitas *spermatozoa*, dan efek ini cukup efektif dalam mempengaruhi motilitas *spermatozoa* tikus Wistar jantan pada dosis 294 mg/KgBB. Ekstrak daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) digunakan untuk mengukur motilitas *spermatozoa* tikus wistar jantan. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelima kelompok, dengan dosis 588 mg/KgBB yang memberikan pengaruh paling besar. Khususnya, terdapat perbedaan yang signifikan antara

kelompok Kn dan Kn+ dan P1, kelompok Kn+ dan P2 dan P3, serta kelompok P1 dan P2 dan P3. Selain itu, tidak ada variasi nyata yang ditemukan antara kelompok Kn+ dan P1. Berdasarkan temuan penelitian ini, penting untuk melakukan penyelidikan lanjutan atau mencari sumber informasi tambahan mengenai waktu terbaik pengobatan motilitas *spermatozoa* yang mempengaruhi ekstrak daun bayam hijau. Selain itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan dampak ekstrak daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) serta paparan asap rokok terhadap kualitas dan kuantitas. Diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat menggunakan variasi dosis ekstrak etanol daun bayam hijau lainnya untuk mendapatkan hasil yang lebih signifikan dan mendalam mengenai *spermatozoa*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang, serta tempat penelitian, atas kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi Parwata (2015) ‘Bahan Ajar Uji Bioaktivitas : Antioksidan’, *Universitas Udayana*, (4), pp. 1–51.
- Aryani, R. P. and Widyaningrum, T. (2016) ‘Pengaruh Dosis Ekstrak Air Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L.*) terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*): sebagai Sumber Belajar Biologi SMA Kelas XI pada Materi Pembelajaran Sistem Sirkulasi pada Manusia’, *Jurnal Bioedukatika*, 1(1), p. 72. doi: 10.26555/bioedukatika.v1i1.4096.
- Batubara, I. V. D., Wantouw, B. and Tendean, L. (2017) ‘Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*)’, *Jurnal e-Biomedik*, 1(1), pp. 330–337.
- Cao, X. W. *et al.* (2018) ‘[A review of WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th edition)].’, *Zhonghua nan ke xue = National journal of andrology*, 17(12), pp. 1059–1063.
- Dcunha, R. *et al.* (2022) ‘Current Insights and Latest Updates in Sperm Motility and Associated Applications in Assisted Reproduction’, *Reproductive Sciences. Reproductive Sciences*, 29(1), pp. 7–25. doi: 10.1007/s43032-020-00408-y.
- Desty Sari, P. (2019) ‘Effect of Cigarette Smoke in Quality and Quantity Spermatozoa’, *J Majority*, 3(7), pp. 102–106.
- Dheny R (2017) ‘Uji Laboratorium Pengukuran Kandungan Zat Besi (Fe) pada Ekstrak Bayam Hijau (*Amaranthus hybridus L.*)’, *Jurnal Maternal*, 11(2), pp. 154–159. doi: <https://doi.org/10.54877/maternal.v2i2.569>.
- Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta (2022) ‘HTTS 2022: Seberapa Besar Populasi Perokok di Indonesia?’, *Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta*.
- Eni, W. (2017) ‘Oksidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioksidan’. Semarang: Bagian Kimia-Biokimia FK Unissula Semarang.
- Fatmawati, D., Isradji, I. and Yusuf, I. (2016) ‘Kualitas Spermatozoa Mencit Balb /c Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Buah Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Sperm Quality of Male Balb / C Mice after Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Fruit Extract

- Administration', *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(3), pp. 155–159.
- Gunawan, P. P., Turalaki, G. L. A. and Tendean, L. E. N. (2017) 'Pengaruh Pemberian Pasta Tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Terpapar Asap Rokok', *Jurnal e-Biomedik*, 5(2). doi: 10.35790/ebm.5.2.2017.18517.
- Handayani, Y. *et al.* (2023) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bayam Hijau (*Amaranthus hybridus* L) dengan Metode Peredaman DPPH', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 7(2), pp. 103–110.
- Harlen, W. C., Muchtadi, T. R. and Palupi, N. S. (2018) 'Bioavailabilitas α -Tokoferol Minuman Emulsi Minyak Sawit dalam Plasma Darah dan Hati Tikus (*Rattus norvegicus*)', *Agritech*, 37(3), p. 352. doi: 10.22146/agritech.11683.
- Jumiati, Fitria, S. and Rahmawati, A. (2021) 'Hubungan Kebiasaan Merokok dan Berat Badan pada Pasangan Usia Subur terhadap Kejadian Infertilitas', *Prosiding SainTeKes UMRI*, 2, pp. 187–194.
- Kalemben, S. (2016) 'Perilaku Merokok pada Mahasiswi di Universitas Hasanuddin Kota Makassar', pp. 1–126.
- Katzung (2010) *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 5*. Jakarta: EGC.
- Lamid, A. (2016) 'Vitamin E sebagai Antioksidan', *Media Litbangkes*, V(01), pp. 14–18.
- Leni, K. (2020) 'Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Alternanthera amoena* Voss) terhadap Morfologi, Motilitas dan Jumlah Spermatozoa Tikus (*Rattus noevigicus*) Wistar yang Terpapar Asap Rokok'. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Machfudloh, M., Awaliyah, I. N. and Takwanto, A. (2019) 'Pengaruh Suhu Spray Drying dan Penambahan Maltodextrin terhadap Aktivitas Antioksidan (Ic50) pada Bayam Hijau (*Amaranthus Hybridus* L.)', *Distilat: Jurnal Teknologi Separasi*, 5(2). doi: <https://doi.org/10.33795/distilat.v5i2.52>.
- Maryani, E. (2018) *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayam Hijau (*Amaranthus cruentus* L.) dan Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan Metode DPPH, Prodi D3 Farmasi Poltekkes Bandung*.
- Muchtaromah, B. (2018) 'Al-Qur'an dan Material Genetik dalam Sel Kelamin Pria Penentu Jenis Kelamin Bayi', *Ulul Albab Jurnal Studi Islam*, 8(2), pp. 141–162. doi: 10.18860/ua.v8i2.6200.
- Ridhwan, M. (2022) 'Prevalensi Perokok di Indonesia Turun Jadi 23,25% pada 2022'.
- Salsabela, A. (2022) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Bayam Hijau (*Amaranthus hybridus* L.) dengan Metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Epidermis*.' Universitas Muhammadiyah Banjarmasin.
- Sanggamale, I. K., Rumbajan, J. M. and Tendean, L. E. N. (2020) 'Perbedaan Efek Pemberian Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Vitamin C pada Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Rokok', *eBiomedik*, 8(1). doi: <https://doi.org/10.35790/ebm.v8i1.28706>.
- Setia Arum, R., Kuswanto, E. and Runidin, M. (2021) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus* L.) yang Dipapar Asap Rokok'. Lampung: Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.
- Tirtosastro, S. and Murdiyati (2016) 'Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok', *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 2, pp. 33–43.
- Unimus, B. F. (2022) 'Buku Panduan Praktikum Biomedik Blok 13 FK Unimus'. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang, pp. 26–32.
- Unitly, A. J. A., Nindatu, M. and Reaso, J. (2022) 'Peningkatan Motilitas dan Viabilitas

- Spermatozoa *Rattus norvegicus* Terpapar Asap Rokok Pasca Diterapi Sirup Cengkeh', *Jurnal Biologi Edukasi*, 14(1), pp. 14–20.
- Yuniasari, F. A. (2022) *Pengaruh Pestisida Nabati Daun Tembakau terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Sayuran Bayam Hijau (Amaranthus sp)*. Universitas Katolik Soegijapranata.