

Gambaran Histologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Dipaparkan Asap Rokok Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha*)

Rizka Alya Razan Situmorang¹, Husnarika Febriani², dan Syukriah³

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

Jl. Lapangan Golf, Durin Jangak, Medan Tuntungan, Kota Medan, 20353 Indonesia

e-mail: rizkaalyarazan@gmail.com

Abstrak

Paparan asap rokok diketahui meningkatkan stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan struktur histologi testis dan gangguan spermatogenesis, sementara tingginya prevalensi merokok di Indonesia menjadikan perlindungan fungsi reproduksi jantan sebagai persoalan kesehatan yang mendesak. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah daun sembung rambat (*Mikania micrantha*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) terhadap Indeks Gonad Somatik (IGS), jumlah sel spermatogonium, spermatosit, spermatid, serta diameter dan luas tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang dipaparkan asap rokok. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol rokok (asap rokok 3 batang/hari), serta tiga kelompok perlakuan yang diberikan asap rokok dan ekstrak daun sembung rambat dengan dosis 100, 200, dan 300 mg/kg BB. Pemaparan asap rokok dilakukan selama 30 hari, sedangkan pemberian ekstrak dimulai pada hari ke-8 selama 22 hari. Preparat histologi dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin, lalu dianalisis menggunakan uji *One Way* ANOVA dilanjutkan uji Duncan ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kg BB merupakan dosis paling efektif dalam memperbaiki kerusakan histologis testis akibat paparan asap rokok, dengan nilai IGS, jumlah sel spermatogenik, serta diameter dan luas tubulus seminiferus yang tidak berbeda nyata dengan kontrol normal. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun sembung rambat berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami untuk membantu melindungi fungsi reproduksi jantan dari stres oksidatif akibat paparan asap rokok.

Kata Kunci: asap rokok, *Mikania micrantha*, sel spermatogenik, testis

Abstract

Cigarette smoke exposure is known to increase oxidative stress, which can damage the histological structure of the testes and disrupt spermatogenesis, while the high smoking prevalence in Indonesia makes protecting male reproductive function an urgent health concern. One plant with potential as a natural antioxidant is climbing hempweed (*Mikania micrantha*). This study aimed to determine the effect of *Mikania micrantha* leaf extract on the Gonadosomatic Index (GSI), the number of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids, and the diameter and area of the seminiferous tubules in white rats (*Rattus norvegicus* L.) exposed to cigarette smoke. The study used a Completely Randomized Design (CRD) with five groups: normal control, cigarette smoke control (3 cigarettes/day), and three treatment groups exposed to cigarette smoke and administered *Mikania micrantha* leaf extract at doses of 100, 200, and 300 mg/kg body weight. Cigarette smoke exposure was conducted for 30 days, while the extract was administered from day 8 for 22 days. Histological preparations were made using the paraffin method with Hematoxylin-Eosin staining and analyzed using *One Way* ANOVA followed by Duncan test ($p < 0.05$). The results showed that a dose of 200 mg/kg body weight was the most effective in repairing histological testicular damage caused by cigarette smoke exposure, with GSI, spermatogenic cell counts, and tubule diameter and area not significantly different from the normal control. These findings indicate that *Mikania micrantha* leaf extract has the potential to be developed as a natural antioxidant source to help protect male reproductive function from oxidative stress caused by cigarette smoke exposure.

Keywords: cigarette smoke, *Mikania micrantha*, spermatogenic cells, testes

I. PENDAHULUAN

Rokok merupakan hasil olahan dari tembakau yang dihirup asapnya dengan cara dibakar (Tooy et al., 2016). Asap rokok yang dihasilkan oleh perokok aktif kemudian dihirup oleh orang-orang di sekitarnya yang bukan perokok (perokok pasif), dan mengandung zat berbahaya seperti nikotin, tar, dan karbon monoksida yang

memiliki potensi karsinogenik. Berdasarkan data World Health Organization (2024), lebih dari 8 juta orang di seluruh dunia meninggal karena penyebab yang berkaitan dengan tembakau, termasuk lebih dari 1,3 juta orang bukan perokok yang terkena dampak asap rokok pasif dan 1,4 juta pria yang menghadapi masalah reproduksi (infertilitas). Indonesia memiliki salah satu tingkat konsumsi tembakau tertinggi di dunia,

dengan 35,4% penduduk dewasa menggunakan tembakau, dan sekitar 7,04% penduduk di bawah usia 18 tahun merokok setiap hari (Badan Pusat Statistik Indonesia, 2024).

Asap rokok mengandung radikal bebas yang dapat berdampak buruk pada sistem reproduksi, menyebabkan penurunan kadar testosteron akibat penghambatan sel Leydig, kerusakan tubulus seminiferus testis, dan gangguan spermatogenesis (Mutia et al., 2024). Paparan asap rokok memperkenalkan senyawa beracun yang mengurangi jumlah sel spermatogenik, sel Leydig, dan sel Sertoli, sekaligus memicu apoptosis pada testis sehingga memperburuk infertilitas. Penelitian Mutia et al., (2024) menunjukkan bahwa tikus putih yang terpapar asap rokok selama 30 hari memperlihatkan sel spermatogenik yang longgar, kerusakan struktural, dan lumen tubulus seminiferus yang tampak kosong. Untuk menghambat pembentukan reaksi radikal bebas dibutuhkan antioksidan, baik dari jalur sintesis maupun bahan alami seperti sembung rambat (*Mikania micrantha*) (Budiarti et al., 2019).

Sembung rambat (*Mikania micrantha*) tersebar luas di Sumatera Utara, Indonesia, dan dapat ditemukan dalam jumlah banyak di habitat alaminya sehingga mudah diperoleh untuk pengobatan tradisional (Sumantri et al., 2020). Tanaman ini secara tradisional digunakan untuk mengobati gatal-gatal dan ruam, serta dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antibakteri, koagulan (Perawati et al., 2019), antidiabetik, antioksidan, antifungi, antiinflamasi, penyembuh luka, antikanker, dan terapeutik (Sheam et al., 2020).

Pada tikus, efek antioksidan kuat daun sembung rambat digunakan sebagai antidiabetik dengan dosis efektif 200 mg/kg BB untuk melawan stres oksidatif akibat toksisitas radikal bebas (Ibrahim et al., 2020). Potensi antioksidan ekstrak daun sembung rambat antara lain flavonoid sebesar $20,63 \pm 0,16$ mg Quercetin Equivalent (QE) (Sumantri et al., 2020) dan fenolik sebesar $19,05 \pm 0,19$ mg Gallic Acid Equivalent (GAE) (Budiarti et al., 2019). Senyawa flavonoid dan polifenol berperan preventif terhadap stres oksidatif dengan menghambat kerja enzim xantin oksidase serta

oksidase NADPH sebagai pelindung terhadap toksisitas ROS (Bondonno et al., 2019).

Tingginya prevalensi perokok di Indonesia dan besarnya beban infertilitas pria menjadikan upaya perlindungan fungsi reproduksi jantan sebagai persoalan yang mendesak. Di sisi lain, *Mikania micrantha* merupakan gulma yang sangat melimpah dan selama ini dianggap invasif, sehingga pemanfaatannya sebagai sumber antioksidan alami berpotensi memberikan solusi yang murah, mudah diperoleh, dan bernilai guna. Kebaruan penelitian ini terletak pada kajian komprehensif pengaruh ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) terhadap gambaran histologi testis secara menyeluruh, meliputi Indeks Gonad Somatik (IGS), jumlah sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatid, serta diameter dan luas tubulus seminiferus sekaligus dalam satu kerangka penelitian. Berbeda dengan penelitian terdahulu yang umumnya menggunakan tanaman antioksidan lain (misalnya Mutia et al., (2024) yang memakai biji putat air) atau hanya menguji satu parameter, penelitian ini juga menetapkan dosis optimal di antara 100, 200, dan 300 mg/kg BB. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang dipaparkan asap rokok setelah pemberian ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) serta menentukan dosis yang paling efektif dalam memperbaiki kerusakan tersebut.

II. METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok dan masing-masing terdiri dari 4 ulangan berdasarkan perhitungan rumus Federer, sehingga total sampel adalah 20 ekor tikus. Kelompok penelitian terdiri dari kontrol normal (KN), kontrol rokok (KR), serta tiga kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3). Perbedaan utama antara kontrol normal dan kontrol rokok terletak pada pemberian paparan asap rokok. KN tidak dipapar asap rokok dan hanya diberi pakan serta air minum sehingga mewakili kondisi fisiologis normal, sedangkan KR dipapar asap rokok 3 batang/hari tanpa pemberian ekstrak sehingga

berfungsi sebagai model kerusakan (kontrol positif) akibat paparan asap rokok. Adapun tiga kelompok perlakuan adalah P1 (asap rokok + ekstrak daun sembung rambat 100 mg/kg BB), P2 (asap rokok + ekstrak 200 mg/kg BB), dan P3 (asap rokok + ekstrak 300 mg/kg BB), yang seluruhnya dipapar asap rokok 3 batang pada pagi hari selama 30 hari dan diberi ekstrak dari hari ke-8 sampai hari ke-30.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain selang, air pump, kandang modifikasi, korek api, timbangan digital, *rotary evaporator*, kapas, sonde, kertas saring, alat bedah (*dissecting set*), cawan petri, bak parafin, mikroskop, gelas ukur, *object glass*, *cover glass*, *staining jar*, *embedding cassette*, oven, blender, spuit, mikrotom, aplikasi *ImageJ*, dan alat dokumentasi. Bahan yang digunakan antara lain tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) galur Wistar, daun sembung rambat (*Mikania micrantha*), rokok kretek, etanol 70%, akuades, CMC Na 0,5%, NaCl 0,9%, *Neutral Buffered Formalin* 10%, parafin cair, alkohol bertingkat 80–96%, *xylol*, pewarna *Hematoxylin-Eosin*, dan entelan.

C. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur Wistar jantan berusia 2–3 bulan dengan berat 180–200 gram sebanyak 20 ekor. Tikus dipilih sebagai hewan model karena memiliki kemiripan fisiologis sistem reproduksi dengan mamalia tingkat tinggi dan umum digunakan dalam uji toksikologi reproduksi. Galur Wistar dipilih karena karakteristik genetiknya stabil dan seragam sehingga hasil penelitian lebih reproduksibel. Jenis kelamin jantan dipilih karena penelitian menasar sistem reproduksi jantan (spermatogenesis dan jaringan testis). Usia 2–3 bulan mewakili tikus dewasa muda yang telah matang secara seksual dengan aktivitas spermatogenesis yang stabil. Kisaran berat 180–200 gram mewakili tikus dewasa sehat sehingga keseragaman bobot tubuh antarindividu tetap terjaga. Tikus dipelihara dalam kandang standar *Animal House* yang bersih, diberi sekam, serta dilengkapi wadah pakan dan minum dengan pencahayaan dan sirkulasi udara yang baik, lalu diaklimatisasi selama 7 hari dengan pakan secara

ad libitum. Tikus yang digunakan harus dalam kondisi sehat dengan berat badan dalam kisaran normal (180–200 gram) dan bulu tidak rontok. Bulu yang tidak rontok dijadikan kriteria karena kerontokan bulu (*alopecia*) menandakan adanya stres, malnutrisi, infeksi/parasit, atau gangguan hormonal, kondisi-kondisi tersebut dengan sendirinya meningkatkan stres oksidatif sehingga dapat menjadi perancu dan mengaburkan pengaruh perlakuan terhadap jaringan testis.

D. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat

Daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) diperoleh dari daerah Tuntungan, Medan. Sebanyak 4 kg daun ditimbang, dicuci, dirajang, dan diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung, kemudian setelah kering dihaluskan menggunakan grinder hingga diperoleh serbuk simplisia (Kurniati et al., 2025). Simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sambil diaduk selama 3×24 jam dengan perbandingan 1:10, lalu disaring; ampasnya diremaserasi dengan prosedur yang sama. Etanol dipilih karena mampu melarutkan senyawa polar, semipolar, maupun nonpolar (Suwarni & Cahyadi, 2016). Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menghasilkan ekstrak kental (Kurniati et al., 2024). Ekstrak kental inilah yang selanjutnya disiapkan dalam tiga tingkat dosis, yaitu 100, 200, dan 300 mg/kg BB.

E. Perlakuan Hewan Uji

Setelah diaklimatisasi 7 hari, tikus ditimbang untuk mengetahui berat badannya. Pemaparan asap rokok menggunakan rokok kretek merek X dengan kadar nikotin 2,3 mg sebanyak 3 batang setiap pagi pukul 09.00 WIB selama 30 hari (Dewanto et al., 2017) di dalam kandang berukuran 50×40×20 cm dengan sirkulasi udara sebagian tertutup. Asap dialirkan menggunakan selang yang dihubungkan dengan air pump.

Ekstrak diberikan secara oral menggunakan sonde setiap sore mulai hari ke-8 hingga hari ke-30 (selama 23 hari) setelah dicampur dengan larutan CMC Na 0,5%. Dosis dihitung berdasarkan berat badan masing-masing tikus dengan rumus: dosis (mg) = dosis (mg/kg BB) × berat badan (kg). Berdasarkan kisaran berat 180–

200 g, dosis nyata yang diterima setiap ekor per hari adalah 18–20 mg pada P1 (100 mg/kg BB), 36–40 mg pada P2 (200 mg/kg BB), dan 54–60 mg pada P3 (300 mg/kg BB), yang masing-masing dilarutkan dalam 2 ml CMC Na 0,5%. Penghitungan dilakukan secara individual mengikuti berat badan setiap tikus (bukan sekadar contoh) agar dosis yang diterima benar-benar proporsional terhadap bobot tubuh. CMC Na 0,5% dibuat dengan melarutkan 0,5 g serbuk CMC dalam 100 ml akuades dan dipanaskan hingga homogen. Selama perlakuan tikus diberi pakan secara *ad libitum*.

F. Pembedahan Hewan Uji

Pada hari ke-31, tikus dieutanasi dengan inhalasi kloroform lalu diterminasi dengan teknik *cervical dislocation*. Organ testis diambil, diletakkan dalam larutan NaCl 0,9%, dibersihkan dari lemak, dikeringkan, ditimbang, dan dihitung IGS-nya. Sampel preparat hanya menggunakan testis kanan untuk menjaga keseragaman (Pranadya et al., 2019). Preparat histologi dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*, meliputi fiksasi dalam *Neutral Buffered Formalin* 10% (maksimal 3 hari), trimming ±3 mm, dehidrasi seri alkohol dan *xylene*, *clearing*, impregnasi parafin 65°C, *embedding*, *blocking*, *sectioning* setebal 3–4 µm dengan mikrotom, pewarnaan, dan mounting dengan entelan serta cover glass.

G. Pengamatan IGS dan Preparat Histologi Testis

Indeks Gonad Somatik (IGS) dihitung dengan rumus: $IGS = (\text{berat basah testis (g)} / \text{berat badan (g)}) \times 100$, dengan berat basah testis diperoleh dengan mengurangi 6,5% dari berat kotor testis yang berkaitan dengan albuginea (de Oliveira et al., 2022). Pengamatan histologi dilakukan pada perbesaran 40×10 menggunakan aplikasi *ImageJ* pada tubulus berbentuk bulat yang dipilih acak. Sel spermatogonium, spermatisit, dan spermatid dihitung pada lima lapang pandang terbaik tiap perlakuan dan ulangan, lalu dirata-ratakan. Spermatogonium berbentuk bulat dengan inti lonjong di dekat membran basal, spermatisit berinti besar dan berwarna lebih pekat karena banyak kromatin, sedangkan spermatid berukuran kecil, lonjong, memiliki ekor, dan

mengarah ke lumen (Pramesemara, 2017). Diameter tubulus seminiferus diukur dengan menarik dua garis (terpanjang dan terpendek) pada tepi terluar tubulus lalu dirata-ratakan (Munaya et al., 2018), sedangkan luas tubulus dihitung dengan rumus $Luas = \pi D^2/4$, dengan $\pi = 3,14$ dan D adalah rata-rata diameter (Naidu et al., 2024).

H. Analisis Data

Analisis data menggunakan SPSS versi 25 dengan uji *One Way* ANOVA untuk mengetahui perbedaan rata-rata antarkelompok pada taraf signifikansi $p < 0,05$, dilanjutkan uji Duncan (DMRT) untuk melihat perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Indeks Gonad Somatik (IGS)

Berdasarkan uji *One Way* ANOVA diperoleh nilai rata-rata IGS pada masing-masing kelompok dengan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p = 0,000$). Hasil uji lanjut Duncan pada taraf 5% menunjukkan kelompok kontrol normal ($0,72 \pm 0,06$) berbeda nyata dengan kelompok kontrol rokok ($0,35 \pm 0,06$) dan kelompok perlakuan, sehingga terdapat pengaruh paparan asap rokok terhadap nilai IGS (Tabel 1).

Tabel 1. Indeks Gonad Somatik (IGS) Testis Tikus Putih

Kelompok	Rata-Rata IGS (%) ± SD	P-Value
KN	0,72 ± 0,06c	
KR	0,35 ± 0,06a	0,000
P1	0,53 ± 0,06b	
P2	0,71 ± 0,07c	
P3	0,46 ± 0,04b	

Keterangan: SD (Standar Deviasi); huruf superskrip berbeda (a, b, c, d, e) pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); KN (Kontrol Normal, hanya pakan dan minum); KR (Kontrol Rokok, paparan asap rokok 3 batang/hari); P1 (asap rokok + ekstrak 100 mg/kg BB); P2 (asap rokok + ekstrak 200 mg/kg BB); P3 (asap rokok + ekstrak 300 mg/kg BB).

Hasil ini sesuai dengan Saygın et al., (2023) yang menyatakan bahwa asap rokok dapat menurunkan nilai IGS hingga 0,33. Berat testis berkorelasi kuat dengan fungsi spermatogenesis, sehingga penurunan kepadatan sel spermatogenik akibat paparan asap rokok menekan spermatogenesis dan menurunkan IGS. Senyawa toksik seperti tar, nikotin, dan karbon monoksida memicu stres oksidatif yang merusak sel

penyusun testis, termasuk sel Sertoli dan sel Leydig. Kerusakan sel Leydig menurunkan produksi testosteron yang berdampak langsung pada spermatogenesis dan berat testis (Tooy et al., 2016). Kandungan PAH dan nikotin juga menghambat kerja GnRH sehingga menurunkan FSH dan LH dan menyebabkan atrofi testis (Choudhury et al., 2025).

Pemberian ekstrak daun sembung rambat (P1, P2, P3) meningkatkan nilai IGS dibandingkan KR. Kelompok P2 ($0,71 \pm 0,07$) mendekati nilai kontrol normal, menunjukkan efek protektif terhadap kerusakan testis akibat asap rokok. Tidak adanya perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antara KN dan P2 mengindikasikan bahwa dosis 200 mg/kg BB efektif menekan dampak stres oksidatif, diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid dan fenolik membantu dalam meringankan infertilitas dengan mengurangi stres oksidatif dan mengembalikan kadar hormon reproduksi serta reproduksi sperma yang mengacu pada kenaikan bobot testis. Antioksidan secara efektif menghentikan reaksi berantai

radikal bebas, sehingga memastikan proses spermatogenesis normal di tubulus seminiferus dengan menyumbangkan atom hidrogen untuk mengubah radikal peroksil menjadi radikal yang kurang reaktif dan tidak merusak (Andarheta et al., 2024).

Sebaliknya, pada P3 (dosis tertinggi) nilai IGS justru menurun menjadi $0,46 \pm 0,04$, mengindikasikan respons dosis yang tidak linear (hormesis) dan kemungkinan adanya senyawa antifertilitas seperti saponin yang menekan sintesis testosteron pada sel Leydig (Octavyani et al., 2021).

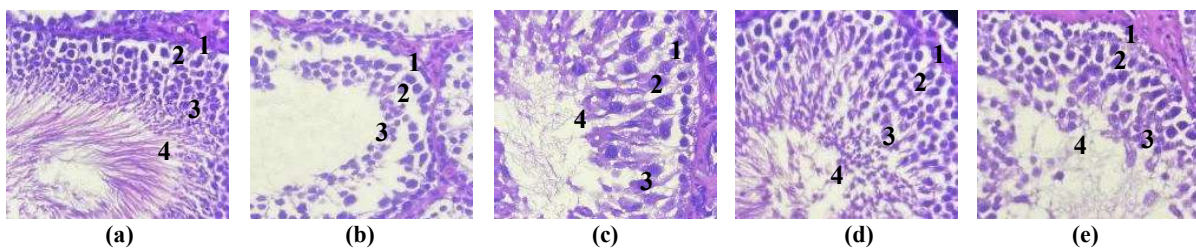
B. Jumlah Rata-Rata Sel Spermatogonium, Spermatisit, dan Spermatid

Hasil perhitungan jumlah sel spermatogonium, spermatisit, dan spermatid tikus putih yang dipaparkan asap rokok setelah pemberian ekstrak daun sembung rambat disajikan pada Tabel 2 dan gambaran histologisnya pada Gambar 1.

Tabel 2. Jumlah Rata-Rata Sel Spermatogonium, Spermatisit, dan Spermatid

Kelompok	Sel Spermatogonium ± SD	Sel Spermatisit ± SD	Sel Spermatid ± SD	P-Value
KN	141,30 ± 20,31c	172,15 ± 5,81e	198,55 ± 12,26c	0,000
KR	64,35 ± 5,45a	55,75 ± 5,74a	53,40 ± 4,66a	
P1	99,55 ± 4,25b	115,85 ± 6,79c	117,00 ± 17,77b	
P2	139,10 ± 15,59c	161,40 ± 3,39d	189,15 ± 7,69c	
P3	82,35 ± 2,53b	66,85 ± 6,08b	72,95 ± 1,68a	

Keterangan: SD (Standar Deviasi); huruf superskrip berbeda (a, b, c, d, e) pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); KN (Kontrol Normal, hanya pakan dan minum); KR (Kontrol Rokok, paparan asap rokok 3 batang/hari); P1 (asap rokok + ekstrak 100 mg/kg BB); P2 (asap rokok + ekstrak 200 mg/kg BB); P3 (asap rokok + ekstrak 300 mg/kg BB).



Gambar 1. Gambaran tubulus seminiferus tikus setelah paparan asap rokok dan ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*). (a) Kontrol Normal; (b) Kontrol Rokok; (c) dosis 100 mg/kg BB; (d) dosis 200 mg/kg BB; (e) dosis 300 mg/kg BB. 1 = spermatogonia, 2 = spermatisit, 3 = spermatid, 4 = spermatozoa.

Berdasarkan Tabel 2 terdapat perbedaan yang signifikan pada tiap kelompok. Uji *One Way ANOVA* menghasilkan nilai $p = 0,000$, menunjukkan bahwa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak daun sembung rambat berpengaruh nyata terhadap jumlah sel

spermatogonium, spermatisit, dan spermatid ($p < 0,05$). Uji lanjut Duncan 5% memberikan perbedaan nyata antara kontrol normal dan kontrol rokok.

Tubulus seminiferus sehat (a) menunjukkan sel-sel spermatogenik yang tersusun rapat sesuai

alurnya, sebaliknya tubulus yang rusak akibat paparan asap rokok (b) memperlihatkan susunan sel yang renggang, spermatogonium tidak pada bagian basal, dan lumen tampak kosong. Pada kelompok perlakuan (c, d, e) tampak perbaikan pada setiap tahapan sel spermatogenik karena pemberian ekstrak. Penurunan jumlah sel spermatogenik disebabkan radikal bebas yang mengganggu spermatogenesis. Hal ini sesuai dengan Zhong et al., (2023) bahwa gambaran tubulus seminiferus dengan susunan sel spermatogenik yang longgar dan tidak teratur, lumen tubulus mengandung spermatisit dan spermatisid yang lebih sedikit setelah terkena paparan asap rokok. He et al., (2016) juga menyebutkan pemaparan asap rokok selama 30 hari menimbulkan gangguan pada berbagai tahapan spermatogenesis serta pengurangan spermatogonium, spermatisit, spermatisid, sel interstisial, dan sel Sertoli.

PAH menyebabkan atrofi testis dan menghambat spermatogenesis, sedangkan nikotin merangsang medula adrenal melepaskan katekolamin yang mengganggu sistem saraf pusat (Esakky & Moley, 2017). Senyawa ROS dan Nitric Oxide (NO) menurunkan jumlah sel germinal di tubulus seminiferus. ROS yang berlebihan menyebabkan stres oksidatif dan peroksidasi lipid yang merusak membran sel spermatogenik (Antinozzi et al., 2025). Sementara NO menurunkan biosintesis testosteron pada sel Leydig. Stres oksidatif memengaruhi sekresi GnRH yang menurunkan LH dan FSH sehingga menghambat produksi testosteron dan *Androgen Binding Protein* (ABP) (Ramírez et al., 2016).

Penurunan jumlah sel spermatogenik juga dapat disebabkan apoptosis. Penurunan

testosteron memicu apoptosis pada sel spermatogenik di tubulus seminiferus (Esteves & Humaidan, 2025). Peningkatan kadar *malondialdehid* (MDA) sebagai produk akhir peroksidasi lipid berhubungan erat dengan apoptosis melalui aktivasi *caspase-3* dan kerusakan mitokondria (Asadi et al., 2021). Behrouz et al., (2024) menyatakan bahwa paparan asap rokok selama 30 menit sehari selama 4 minggu menyebabkan peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar enzim *Catalase* (CAT) dan *Glutathione peroxidase* (GSH-Px). Pemberian ekstrak daun sembung rambat pada P1, P2, dan P3 mampu meningkatkan jumlah sel spermatogenik karena antioksidan yang dikandungnya mendonorkan elektron dan menghentikan reaksi berantai radikal bebas, sehingga spermatogenesis di tubulus seminiferus dapat berlangsung normal.

Kandungan flavonoid seperti quercetin memperbaiki kerusakan testis melalui penurunan stres oksidatif, penguatan sistem antioksidan endogen, dan penghambatan jalur apoptosis (Bostancieri et al., 2022). *Quercetin* menurunkan MDA serta meningkatkan aktivitas superoksida dismutase (SOD), *Catalase* (CAT), dan *Glutathione peroksidase* (GSH-Px), sehingga mengurangi kerusakan oksidatif pada jaringan testis dan memperbaiki tampilan histologis tubulus seminiferus serta struktur sel spermatogenik (Kanter et al., 2016).

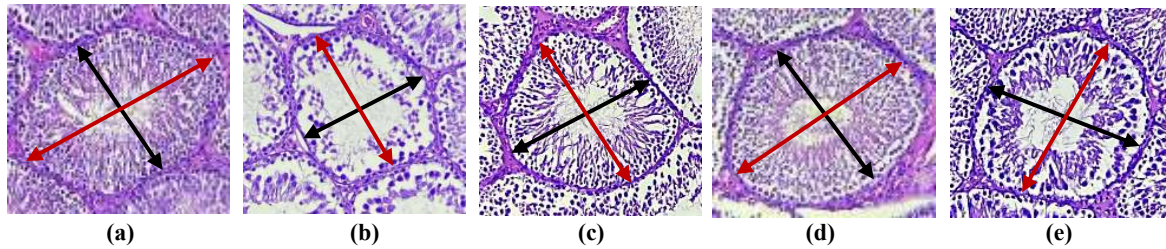
C. Diameter dan Luas Tubulus Seminiferus

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan ukuran diameter dan luas tubulus seminiferus berdasarkan dosis ekstrak daun sembung rambat yang diberikan, sebagaimana disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Diameter dan Luas Tubulus Seminiferus Tikus Putih

Kelompok	Rata-Rata Diameter Tubulus Seminiferus (µm) ± SD	Rata-Rata Luas Tubulus Seminiferus (µm ²) ± SD	P-Value
KN	323,399 ± 17,32d	82.526 ± 9,33d	0,000
KR	187,980 ± 14,89a	27.580 ± 5,14a	
P1	292,279 ± 9,58c	65.227 ± 5,50c	
P2	304,899 ± 8,37cd	75.872 ± 5,34d	
P3	247,638 ± 20,20b	48.638 ± 7,69b	

Keterangan: SD (Standar Deviasi); huruf superskrip berbeda (a, b, c, d, e) pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); KN (Kontrol Normal, hanya pakan dan minum); KR (Kontrol Rokok, paparan asap rokok 3 batang/hari); P1 (asap rokok + ekstrak 100 mg/kg BB); P2 (asap rokok + ekstrak 200 mg/kg BB); P3 (asap rokok + ekstrak 300 mg/kg BB).



Gambar 2. Gambaran diameter tubulus seminiferus tikus setelah paparan asap rokok dan ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*). (a) Kontrol Normal; (b) Kontrol Rokok; (c) dosis 100 mg/kg BB; (d) dosis 200 mg/kg BB; (e) dosis 300 mg/kg BB.

Uji *One Way* ANOVA untuk diameter tubulus seminiferus menghasilkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Uji lanjut Duncan 5% memberikan perbedaan sangat nyata antara kelompok normal ($323,399 \pm 17,32 \mu\text{m}$) dan kelompok rokok ($187,980 \pm 14,89 \mu\text{m}$). Hal ini sesuai dengan Iring et al., (2023) bahwa paparan asap rokok menurunkan diameter tubulus seminiferus, serta Bilondatu et al., (2016) yang melaporkan nilai normal rata-rata $320,70 \mu\text{m}$. Pengurangan diameter menandakan atrofi tubulus seminiferus dan terhambatnya spermatogenesis akibat penurunan jumlah sel Leydig dan penurunan kadar testosteron yang dipicu stres oksidatif (Mescher, 2024).

Pemberian ekstrak meningkatkan diameter tubulus seminiferus, yaitu P1 ($292,279 \mu\text{m}$), P2 ($304,899 \mu\text{m}$), dan P3 ($247,638 \mu\text{m}$). Pembesaran ini menunjukkan ekstrak dapat mengurangi kerusakan sel Sertoli dan menciptakan lingkungan yang kondusif untuk spermatogenesis. Senyawa terpenoid bergugus asam pada daun sembung rambat berinteraksi dengan hormon steroid dan reseptor androgen sehingga meningkatkan testosteron dan menghambat peroksidasi lipid membran sel, serta memengaruhi sel Leydig dalam sintesis testosteron melalui interaksi dengan GnRH dan LH (Li et al., 2021).

Luas tubulus seminiferus mencerminkan integritas epitel germinal dan kepadatan sel spermatogenik. Hasil *One Way* ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan antarkelompok ($p = 0,000$). Kelompok kontrol normal memiliki luas tertinggi ($82.526 \pm 9,33 \mu\text{m}^2$), lebih besar dari Owembabazi et al., (2023) sebesar $78.939 \mu\text{m}^2$. Kelompok kontrol rokok mengalami penurunan signifikan ($27.580 \pm 5,14 \mu\text{m}^2$) akibat akumulasi ROS yang memicu peroksidasi lipid, kerusakan DNA, dan apoptosis

sel spermatogenik sehingga epitel germinal menipis dan luas tubulus berkurang.

Kelompok P1 ($65.227 \pm 5,50 \mu\text{m}^2$) mulai menunjukkan efek protektif, namun belum menyamai KN. Kelompok P2 menunjukkan hasil paling optimal ($75.872 \pm 5,34 \mu\text{m}^2$) dan secara statistik tidak berbeda nyata dengan KN, menunjukkan dosis 200 mg/kg BB paling efektif mempertahankan dan memperbaiki struktur histologis tubulus seminiferus karena antioksidan bekerja optimal menekan stres oksidatif tanpa mengganggu keseimbangan redoks sel. Adapun pada P3 luas tubulus lebih rendah dibanding P2, sejalan dengan Jodynis-liebert & Kujawska, (2020) bahwa fitokimia pada dosis tinggi dapat menginduksi efek prooksidan dan menurunkan efektivitas perlindungan seluler, sehingga terjadi kerusakan ringan epitel germinal dan peningkatan apoptosis sel spermatogenik.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan penurunan kualitas histologi testis tikus putih, yang ditandai dengan penurunan Indeks Gonad Somatik (IGS), jumlah sel spermatogonium, spermatisit, dan spermatid, serta diameter dan luas tubulus seminiferus. Pemberian ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha*) dengan dosis optimal 200 mg/kg BB terbukti memperbaiki nilai IGS, meningkatkan jumlah rata-rata sel spermatogenik, serta meningkatkan diameter dan luas tubulus seminiferus hingga tidak berbeda nyata dengan kontrol normal. Hasil analisis mendalam menunjukkan bahwa efektivitas optimal pada dosis 200 mg/kg BB berkaitan dengan kerja antioksidan flavonoid dan fenolik yang menetralkan ROS secara seimbang,

sementara dosis 300 mg/kg BB justru menurun akibat respons dosis nonlinear (hormesis) dan potensi efek prooksidan serta senyawa antifertilitas. Temuan ini berimplikasi bahwa ekstrak daun sembung rambat berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami yang murah dan mudah diperoleh untuk melindungi fungsi reproduksi jantan dari stres oksidatif akibat asap rokok, sekaligus berkontribusi memberikan bukti penentuan dosis efektif yang dapat menjadi dasar bagi penelitian standarisasi dan pengujian lanjutan ke arah pemanfaatan terapeutik.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarheta, N. D., Lukiswanto, B. S., Triakoso, N., Wurlina, W., Hidajati, N., Yustinasari, L. R., Ntoruru, J. M., & Luqman, E. M. (2024). The effect of methanol extract of cloves (*Syzygium aromaticum*) on vimentin expression in the testes of rats (*Rattus norvegicus*) with induced cryptorchidism. *Advancements in Life Sciences – International Quarterly Journal of Biological Sciences*, 11(1), 56–60.
- Antinozzi, C., Di Luigi, L., Sireno, L., Caporossi, D., Dimauro, I., & Sgrò, P. (2025). Protective Role of Physical Activity and Antioxidant Systems During Spermatogenesis. *Biomolecules*, 15(4), 1–19.
- Asadi, A., Ghahremani, R., Abdolmaleki, A., & Rajaei, F. (2021). Role of sperm apoptosis and oxidative stress in male infertility: A narrative review. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 19(6), 493–504.
- Badan Pusat Statistik Indonesia. (2024). *Persentase Penduduk Berumur Kurang Dari Sama Dengan 18 Tahun yang Merokok Tembakau selama Sembulan Terakhir Menurut Jenis Kelamin (Persen)*, 2024. <https://www.bps.go.id>. Diakses pada 21 Februari 2025.
- Behrouz, S., Mohammadi, M., Sarir, H., & Boskabady, M. H. (2024). The effects of camel milk in systemic inflammation and oxidative stress of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease model in rat. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1–11.
- Bilondatu, R. S. S., Durry, M., & Lintong, P. (2016). Gambaran Histopatologik Testis Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemberian Monosodium Glutamate (Msg). *Jurnal E-Biomedik*, 4(2).
- Bondonno, N. P., Dalgaard, F., Kyrø, C., Murray, K., Bondonno, C. P., Lewis, J. R., Croft, K. D., Gislason, G., Scalbert, A., Cassidy, A., Tjønneland, A., Overvad, K., & Hodgson, J. M. (2019). Flavonoid intake is associated with lower mortality in the Danish Diet Cancer and Health Cohort. *Nature Communications*, 10(1), 1–10.
- Bostancıeri, N., Taşlıdere, A., Elbe, H., & Taşlıdere, E. (2022). Protective effects of quercetin against testis damage caused by cisplatin. *Biotechnic and Histochemistry*, 97(3), 180–184.
- Budiarti, E., Batubara, I., & Ilmiawati, A. (2019). The potency of Asteraceae plants extracts as antioxidant and antiglycation agent. *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(3), 103–111.
- Choudhury, B. P., Das, S., Kar, K. K., Slama, P., Kolesarova, A., Rosas, I. M., & Roychoudhury, S. (2025). Endocrine Disruption as a Mediator of Declining Semen Quality in Smokers. *Cells*, 14(17), 1–18.
- de Oliveira, J. S., Silva, A. A. do N., Dias, F. C. R., de Oliveira, E. L., de Oliveira Filho, E. F., Soares, P. C., Ferreira, C. M. de O., & da Silva Junior, V. A. (2022). Histomorphometric and oxidative evaluation of the offspring's testis from type 2 diabetic female rats treated with metformin and pentoxifylline. *International Journal of Experimental Pathology*, 103(5), 174–189.
- Dewanto, H. N., Lisdiana, & Isnaeni, W. (2017). Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kualitas Sperma Tikus yang Terpapar Asap Rokok. *Life Science*, 6(2), 62–68.
- Esakky, P., & Moley, K. H. (2017). Paternal smoking and germ cell death: a mechanistic link to the effects of cigarette smoke on spermatogenesis and possible long-term sequelae in offspring. *Mol and Cellular Endocrinology*, 435, 85–93.
- Esteves, S. C., & Humaidan, P. (2025). The role of luteinizing hormone activity in spermatogenesis: from physiology to clinical practice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 23(Suppl 1), 1–20.
- He, L., Gong, H., Zhang, J., Zhong, C., Huang, Y., Zhang, C., & Aqeel Ashraf, M. (2016). Interaction of exposure concentration and duration in determining the apoptosis of testis in rats after cigarette smoke inhalation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(4), 531–541.
- Ibrahim, A., Shafie, N. H., Esa, N. M., Shafie, S. R., Bahari, H., & Abdullah, M. A. (2020). Mikania micrantha Extract Inhibits HMG-CoA Reductase and ACAT2 and Ameliorates Hypercholesterolemia and Lipid Peroxidation in High Cholesterol-Fed Rats. *Nutrients*, 13(3077), 1–16.
- Iring, A. R., Rambung, E., & Winarso, H. (2023). Differences in diameter and thickness of the

- seminiferous tubules of male wistar rats (*rattus norvegicus*) after being exposed to e-cigarette smoke and conventional cigarettes. *Malahayati International Journal of Nursing and Health Science*, 6(5), 367–373.
- Jodynys-liebert, J., & Kujawska, M. (2020). Biphasic dose-response induced by phytochemicals: Experimental evidence. *Journal of Clinical Medicine*, 9(3).
- Kanter, M., Aktoz, T., Aktas, C., Ozen, F., Yarali, O., & Kanter, B. (2016). Role of quercetin in cadmium-induced oxidative stress, testicular damage, and apoptosis in rats. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 38(1), 45–51.
- Kurniati, R., Kurniati, M. D. A. P. B., & Medi Hendra. (2025). Pengaruh Ekstrak Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Terhadap Keteraturan Siklus Estrus dan Bobot Organ Reproduksi (Ovarium dan Uterus) Mencit (*Mus musculus* L.). *Biosfer: Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*, 10(2), 176–181.
- Kurniati, R., Regina Yudith Simanungkalit, & Retno Aryani. (2024). Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Takokak (*Solanum torvum* S.) terhadap Jumlah Folikel Ovarium dan Bobot Uterus pada Mencit Betina (*Mus musculus* L.). *Biosfer: Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*, 9(2), 119–125.
- Li, X., Zhu, Q., Wen, Z., Yuan, K., Su, Z., Wang, Y., Zhong, Y., & Ge, R. S. (2021). Androgen and Luteinizing Hormone Stimulate the Function of Rat Immature Leydig Cells Through Different Transcription Signals. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 1–13.
- Mescher, A. L. (2024). *Junquiera's Basic Histology Text and Atlas, 17th Edition* (17th ed.). McGraw Hill LLC.
- Munaya, N., Brahmadi, A., & Budi Handoyo Sakti, Y. (2018). Efek Stres Puasa terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus *Rattus norvegicus*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 18(1), 1–7.
- Mutia, R., Dasrul, D., Salim, M. N., Thasmi, C. N., Rahmi, E., Zainuddin, Z., & Harris, A. (2024). Gambaran Histologi Sel Spermatogenik Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Dipaparkan Asap Rokok Setelah Pemberian Ekstrak Biji Putat Air (*Barringtonia Racemosa*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 8(4), 159–168.
- Naidu, E. C., Olojede, S. O., Lawal, S. K., & Azu, O. O. (2024). Histomorphometric changes in testis following administration of tenofovir nanoparticles in an animal model. *Discover Nano*, 19(1).
- Octavyani, G. K., Kuswanti, N., & Khaleyla, F. (2021). Pengaruh Ekstrak Daun Sawo Manila (*Manilkara zapota* L.) terhadap Jumlah Sel Leydig dan Spermatogenik Mencit Diabetes. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(1), 113–121.
- Owembabazi, E., Nkomozezi, P., & Mbajjorgu, E. F. (2023). Impact of Concurrent Exposure of Diabetic Male Sprague Dawley Rats to Alcohol and Combination Antiretroviral Therapy (cART) on Reproductive Capacity. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(8).
- Perawati, S., Andriani, L., Pratama, S., & Humayroh, H. (2019). Aktivitas Koagulan Ekstrak dan Fraksi Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth.). *Chempublish Journal*, 4(1), 30–37.
- Pramesemara, G. N. (2017). Pemberian growth hormone meningkatkan jumlah sel spermatogenesis, sel leydig, dan sel sertoli pada mencit (*mus musculus*) tua. *Medicina Journal*, 48(1), 13.
- Pranadya, N. M. E., Setyawati, I., & Yulihastuti, D. A. (2019). Number of spermatogenic cells and testes histology of mice (*Mus musculus* L.) after treated with different times and intervals of red calliandra (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) leaf extract. *Jurnal Biologi Udayana*, 23(1), 34.
- Ramírez, C., Alonso, J. R., Jiménez, P., Reyes, R., Ramis, J., Gris, J. M., & Aulesa, C. (2016). Estandarización en la técnica de pretratamiento y tinción para la realización de la morfología espermática humana automatizada tipo asma (assisted sperm morphometry analysis). *Revista Internacional de Andrología*, 14(4), 123–130.
- Saygın, H., Korgali, E., Koç, T., & Doğan, K. (2023). The effect of smoking and electronic cigarettes on rat testicles. *Revista Internacional de Andrología*, 21(3).
- Sheam, M. M., Haque, Z., & Nain, Z. (2020). Towards the antimicrobial, therapeutic and invasive properties of *mikania micrantha* knuth: A brief overview. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 3(2), 92–101.
- Sumantri, I. B., Wahyuni, H. S., & Mustanti, L. F. (2020). Total phenolic, total flavonoid and phytochemical screening by FTIR spectroscopic of standardized extract of *Mikania micrantha* leaf. *Pharmacognosy Journal*, 12(6), 1395–1401.
- Suwarni, E., & Cahyadi, K. C. (2016). Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang Dengan Metode DPPH (Free-Radical Scavenging Activity Of Etanol Kecombrang Flowers (*Etlingera elatior*) With

- The DPPH Method). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 2(2), 2356–4814.
- Tooy, M., Tendean, L., & Satiawati, L. (2016). Perbandingan kualitas spermatozoa tikus wistar (*rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap rokok dengan asap rokok elektronik Miscal Tooy Kandidat skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Penga. *Jurnal E-Biomedik (EBm)*, 4(2).
- World Health Organization. (2024). *WHO calls for bold, decisive legislative action to protect young people from tobacco industry interference*. <https://www.who.int>. Diakses pada 22 Februari 2025.
- Zhong, Y., Wei, X., Yasin, Z., Huang, Y., & He, L. (2023). Cigarette smoke exposure disrupts the blood–testis barrier and negatively impacts reproductive capacity in mice. *Elsevier*, 228, 4–25.