

Pengaruh Ekstrak Bunga Kincung *Etlingera elatior* J. Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih Yang Terpapar Asap Rokok

Nurul Miftahul Jannah (1), Kartika Manalu (2), Efrida Pima Sari Tambunan (3)

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

nurulmiftah811@gmail.com (1), kartikamanalu@uinsu.ac.id (2) efridapima@gmail.com (3)

ABSTRAK

Salah satu sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogenus) diantaranya adalah asap rokok. Radikal bebas ini dapat merusak membran sel spermatogenik. Kincung (*Etlingera elatior* J.) merupakan tanaman keluarga temu-temuan yang sering digunakan secara tradisional di daerah Sumatera Utara sebagai penambah cita rasa masakan terutama pada bagian bunga. Bunga *Etlingera elatior* J. mengandung senyawa dan bioaktivitas, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Secara medis, *Etlingera elatior* J. digunakan sebagai obat seperti antioksidan, antibakteri, antikanker, larvasida, hepatoprotektif, serta penolak serangga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis ekstrak kincung (*Etlingera elatior* J.) yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih yang terpapar asap rokok. Pengelompokan dibagi menjadi 5 kelompok dan 5 kali pengulangan. Pemberian dosis ekstrak bunga *Etlingera elatior* J. sebanyak 30, 60, 90 mg/kg BB dilakukan selama 30 hari. Hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak bunga *Etlingera elatior* J. meningkatkan jumlah rata-rata sel spermatosit sebesar 66,9 melampaui angka pada kelompok K(+) yaitu 63,1. Pemberian dosis 90 mg/kg BB (P3) adalah dosis paling berpengaruh dalam memperbaiki histologi tubulus seminiferus yang rusak jika dibandingkan P1 dan P2.

Kata Kunci : Asap Rokok, Bunga Kincung (*Etlingera elatior* J.), Histologi Tubulus Seminiferus

ABSTRACT

One source of free radicals that come from outside the body (exogenous) is cigarette smoke. These free radicals can damage spermatogenic cell membranes. Kincung (*Etlingera elatior* J.) is a family plant that is often used traditionally in North Sumatra as a flavor enhancer, especially in the flower part. *Etlingera elatior* J. flowers contain compounds and bioactivity, such as flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids. Medically, *Etlingera elatior* J. is used as a drug such as antioxidant, antibacterial, anticancer, larvicidal, hepatoprotective, and insect repellent. This study aims to determine the dose of kincung extract (*Etlingera elatior* J.) which has the most effect on the improvement of histology of seminiferous tubules in white rats exposed to cigarette smoke. The grouping was divided into 5 groups and 5 repetitions. The dose of *Etlingera elatior* J. flower extract was given as much as 30, 60, 90 mg/kg BW for 30 days. The results showed that the flower extract of *Etlingera elatior* J. increased the average number of spermatocytes by 66.9, exceeding the figure in group K(+) which was 63.1. The dose of 90 mg/kg BW (P3) was the most influential dose in repairing the histology of damaged seminiferous tubules when compared to P1 and P2.

Keywords : Cigarette smoke, Kincung Flower (*Etlingera elatior* J.), Histology of seminiferous tubules

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Merokok merupakan salah satu pemicu munculnya radikal bebas yang dapat mengganggu kenyamanan lingkungan. Asap yang dikeluarkan dari sebatang rokok mengandung 4.000 bahan kimia yang bersifat toksik (Boyle *et al*, 2004). *Tobacco Atlas edisi ke-6* menyebutkan data prevalensi paparan asap rokok di Indonesia ada lebih dari 80% orang terpapar asap rokok restoran, 78% orang terpapar asap rokok rumah, dan 45% terkena saat bekerja. Analisis akibat paparan asap rokok sejauh ini berfokus terutama pada endapan nikotin sebagai indikator resiko kesehatan. Salah satu resiko yang disebabkan oleh paparan asap rokok adalah infertilitas. Berdasarkan data *HIFERI*, (2013) menyatakan bahwa infertilitas diketahui sebanyak 2.647.695 kasus dari 238 juta penduduk Indonesia. Infertilitas adalah ketidakmampuan sepasang suami istri mendapatkan kehamilan dalam jangka waktu 12 bulan. Sebesar 30-40% laki-laki merupakan faktor penyebab terjadinya infertilitas. Sudharma, (2012) menyatakan bahwa merokok berkaitan dengan testosteron, laki-laki perokok mempunyai faktor protektif terhadap testosteron yang rendah dibandingkan dengan laki-laki yang bukan perokok. Testis merupakan salah satu organ reproduksi jantan yang terdiri dari tubulus seminiferus sebagai tempat memproduksi sperma (Mescher, 2016). Nikotin pada asap rokok menghambat sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron serta terjadinya kerusakan pada tubulus seminiferus seperti lumen sel spermatogenik melebar tak beraturan (Hargono *et al*, 2013). Kincung (*Etilingera elatior* J.) adalah tanaman famili Zingiberaceae yang mengandung senyawa antioksidan flavonoid. Bunga kincung berfungsi sebagai agen terapeutik untuk melawan toksisitas radikal bebas penyebab stres oksidatif. Potensi flavonoid pada ekstrak bunga kincung adalah 772 ± 34 mg dan fenolik sebesar 424 ± 62 mg *gallic acid equivalent* (GAE) (Jackie, 2011). Senyawa flavonoid, terpenoid dan tanin pada ekstrak etanol bunga kincung mempunyai aktivitas antiradikal bebas yang sangat kuat dengan nilai $IC_{50} = 7,82$ ppm (Suwarni *et al*, 2016). Kandungan flavonoid yang tinggi pada bunga kincung membantu *superoksida dismutase* (SOD) antioksidan alami tubuh yang bekerja menghambat peroksidasi lipid penghasil radikal peroksil dengan menghentikan reaksi rantai radikal bebas sehingga bunga kincung dapat dikatakan sebagai antioksidan non enzimatis yang mampu memperbaiki kerusakan sel spermatogenik akibat asap rokok (Halliwell & Guttridge, 2015).

2. Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini berapakah dosis ekstrak bunga kincung (*Etilingera elatior* J.) yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih yang terpapar asap rokok.

3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis bunga kincung (*Etilingera elatior* J.) yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih yang terpapar asap rokok.

4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini nantinya dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang kandungan dan kegunaan tanaman kincung sebagai obat kesehatan reproduksi pria

Miftahul Jannah N, Manalu K, Prima Sari Tambunan E : Pengaruh Ekstrak Bunga Kincung *Etlingera elatior* J. Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih Yang Terpapar Asap Rokok

II. METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2020 – Februari 2021 di laboratorium Biologi UINSU Medan dan Laboratorium Patologi Balai Veteriner Medan.

Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian menggunakan alat dan bahan yaitu kandang modifikasi, selang, *air pump*, korek api, sonde, timbangan digital, bak parafin, alat bedah (*disetting set*), cawan petri, kertas saring, *rotary evaporator*, gelas ukur, spatula, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *staining jar*, *embedding cassette*, mikrotom, blender, spuit, tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), bunga kincung (*Etlingera elatior* J.), rokok kretek, etanol 70%, aquades, *Neutral buffered formalin* 10%, NaCl 0,9%, alkohol bertingkat 80-95%, xylol, entelan, dan *Hematoxylin-Eosin*.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), sebagai berikut:

K+ : kelompok tikus yang hanya diberi pakan dan aquades.

K - : kelompok tikus yang diberi pakan, aquades serta paparan asap rokok.

P1 : kelompok tikus yang diberi pakan, aquades, paparan asap rokok 3 btg/hari dan diberi ekstrak bunga kincung dengan dosis 30 mg/kg BB.

P2 : kelompok tikus yang diberi pakan, aquades, paparan asap rokok 3 btg/hari dan diberi ekstrak bunga kincung dengan dosis 60 mg/kg BB.

P3 : kelompok tikus yang diberi pakan, aquades, paparan asap rokok 3 btg/hari dan diberi ekstrak bunga kincung dengan dosis 90 mg/kg BB.

Prosedur Kerja

Ekstraksi Bunga Kincung

Bunga kincung segar dicuci bersih dan dirajang. Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur tanpa sinar matahari. Bunga kincung kering dihaluskan lalu diayak hingga menjadi serbuk simplisia. Kemudian simplisia dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil filtratnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak kental.

Pemberian Perlakuan

Paparan tiga batang rokok perhari dilakukan tiap pagi hari dengan kandang modifikasi berukuran 50x40x20 cm dihubungkan dengan *airpump* listrik. Dosis ekstrak bunga kincung diberikan pada sore hari 30mg/kg BB, 60mg/kg BB dan 90 mg/kg BB. Perhitungan dosis diberikan sesuai dengan bobot tubuh tikus. Bobot tikus = 250 gr, Ekstrak kental 500 mg diambil kemudian dilarutkan ke dalam 100 ml CMC Na 0,5%. Contoh perhitungan dosis:

$$\begin{aligned} \text{misal, dosis 1} &= 30 \text{ mg}/1000 \times 250 \text{ gr} \\ &= 250/1000 \text{ gr} \times 30 \text{ mg} \\ &= 7,5 \text{ mg} \\ &= 0,75 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Pembedahan Hewan

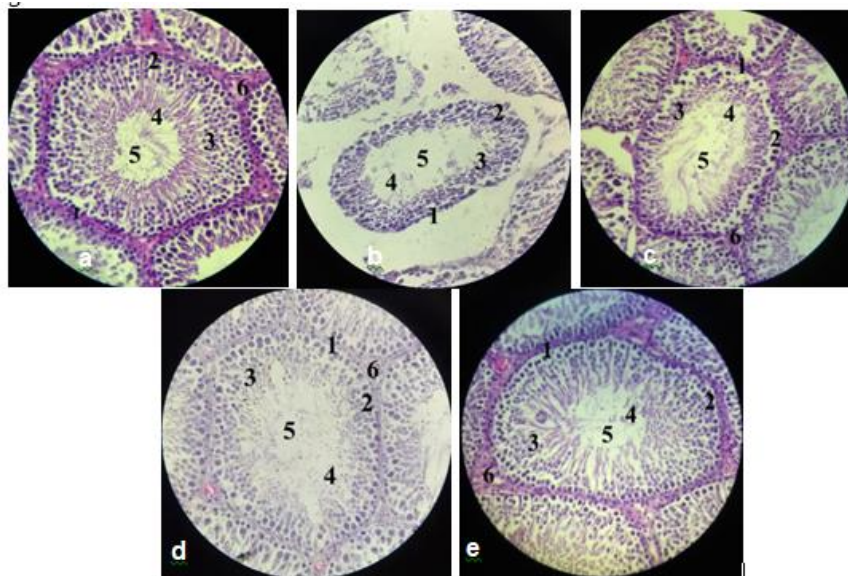
Pada hari ke-31 tikus diterminasi dengan cara *cervical dislocation*. Organ testis tikus diambil kemudian dicuci dengan NaCl 0,9%. setelah ditiriskan kemudian dipotong setebal $\pm 0,05$ cm lalu dimasukkan ke botol organ yang berisi BNF 10%.

Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus

setelah testis difiksasi, kemudian dilanjutkan dengan tahap *trimming*, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *sectioning*, sampai tahap pewarnaan dan *mounting*. Pembacaan preparat histologi dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dibagi menjadi 3 lapang pandang. Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah sel spermatosit primer dan diameter sel yang rusak akibat terpapar asap rokok serta sel-sel yang diperbaiki setelah pemberian ekstrak bunga kincung (*Etltingera elatior* J.) melalui aplikasi *ImageJ*. Sel yang yang dipilih adalah sel yang dianggap bulat dan dipilih secara acak lalu diamati struktur susunan spermatogennya kemudian dirata-ratakan. Analisis data menggunakan uji statistik *Anova* dengan nilai $p \leq 0,05$.

III. HASIL PENELITIAN

Hasil pengamatan menunjukkan perubahan jumlah sel spermatosit primer dapat dilihat pada gambar dibawah ini



Gambar 1. Gambaran tubulus seminiferus pada tiap kelompok perlakuan dengan potongan melintang dan pewarnaan H&E perbesaran 400x. Ket: (1) Spermatogonium (2) Spermatosit Primer (3) Spermatid (4) Spermatozoa (5) Lumen (6) Sel Leydig

Berdasarkan hasil pengamatan gambaran tubulus seminiferus pada gambar 1 diperoleh perbedaan tubulus seminiferus yang normal pada K+, tidak normal K-, dan setelah terjadi perbaikan (P1, P2, P3). Keadaan tubulus seminiferus sehat (a) menampilkan perkembangan sel spermatogenik tersusun sesuai alurnya, sebaliknya tubulus seminiferus yang rusak akibat paparan asap rokok (b) menunjukkan perkembangan sel spermatogenik yang longgar, spermatogonium tidak berada di kompartemen basal sehingga berjarak dengan sel spermatosit primer serta lumen yang semestinya berisi sel spermatozoa kini tampak kosong. Pada kelompok perlakuan (c, d, e) terjadi perbaikan pada seluruh tahapan sel spermatogenik yang disebabkan karena pemberian ekstrak bunga kincung. Menurut Wu *et al*, (2019) menyatakan bahwa bahan karsinogenik utama dari asap rokok yaitu senyawa *nitrosamine keton* (NNK) di dalam tembakau mempengaruhi reaksi stres oksidatif dalam tubuh sehingga radikal bebas menurunkan biomarker disfungsi mitokondria untuk memproduksi ATP. Selain itu, nikotin memicu medula adrenal melepaskan katekolamin yang mempengaruhi sistem saraf pusat, sehingga menyebabkan mekanisme umpan balik antara hipotalamus dan hipofisis anterior akibatnya spermatogenesis terganggu (Anita,

2004). Menurut Haw *et al*, (2015) menyatakan bahwa kincung berpotensi baik melawan radikal bebas berdasarkan histopatologi tubulus seminiferus menunjukkan gambaran normal dengan sel-sel spermatogenik yang memadai. Membran basal tampak normal, tidak terjadi penebalan pada membran basal serta tidak ditemukan area fibrosis. Jumlah sel sertoli dan sel leydig yang sehat berada didalam penampang tubulus seminiferus.

Perbedaan jumlah rata-rata sel spermatis primer pada tiap kelompok dapat dilihat pada tabel berikut :

Kelompok	Jumlah Sel Spermatis Primer
K (+)	63,1
K (-)	43,5
P1 (30 mg/kg BB)	54,6
P2 (60 mg/kg BB)	58,7
P3 (90 mg/kg BB)	66,9

Pada penelitian ini K+ merupakan acuan jumlah rata-rata spermatis primer yang sehat adalah 63,1 sel. Adapun K- mempunyai nilai rata-rata terendah yaitu 43,5 sel. Pada kelompok pemberian ekstrak (P1, P2, P3) menunjukkan bahwa P3 memiliki jumlah tertinggi yaitu 66,9 sedangkan dengan P1 adalah 54,6 dan P2 sebesar 58,7 sel. Peningkatan jumlah sel spermatis primer yang rusak dilihat dari jumlah kelompok P1, P2, dan P3 yang mendekati jumlah dari K+. Hal ini menunjukkan bahwa P1, P2, dan P3 memiliki mekanisme yang hampir mirip, namun demikian P3 mempunyai jumlah rata-rata sel spermatis primer yang paling baik, artinya dosis 90 mg/kg BB adalah dosis paling baik untuk memperbaiki kerusakan tubulus seminiferus yang disebabkan oleh paparan asap rokok. HIFERI, (2013) menyatakan bahwa kualitas semen dipengaruhi oleh rokok. Asap rokok mengganggu fase pembelahan miosis manusia dimana pada saat komponen rokok berikatan dengan DNA, beberapa bahan kimia tambahan dari zat rokok menimbulkan kerusakan pramutasi. Peningkatan sepuluh kali lipat kadar kadmium plasma semen pada perokok memiliki kaitan dengan meningkatnya rasio infertilitas pasangan infertil yang sedang menjalani evaluasi dan manajemen infertilitas dengan rasio 5,88 kali lipat (Bernhard, 2011). Penentuan fertil atau infertilnya seseorang lebih ditekankan pada motilitas dan morfologi sperma, karena sel spermatozoa yang motil dapat melakukan pembuahan (fertil) dibandingkan dengan yang tidak motil meskipun didapat dalam jumlah yang banyak (Maula, 2014). Peningkatan kualitas spermatozoa didorong oleh senyawa alkaloid pada kincung yang bekerja dengan menghambat siklus *nukleotida fosfodiesterasi* serta mempengaruhi kadar intrasel (Dja'afara *et al*, 2015).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga kincung (*Etltingera elatior* J.) dengan dosis 90 mg/kg BB adalah paling berpengaruh dalam memperbaiki kerusakan histologi tubulus seminiferus dan meningkatkan jumlah rata-rata sel spermatis primer tikus putih yang rusak akibat terpapar asap rokok.

Miftahul Jannah N, Manalu K, Prima Sari Tambunan E : Pengaruh Ekstrak Bunga Kincung *Etilingera elatior* J. Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih Yang Terpapar Asap Rokok

DAFTAR PUSTAKA

- Anita, N. 2004. Perubahan Sebaran Stadia Epitel Seminiferous, Penurunan Jumlah Sel-sel Spermatogenik Dan Kadar Hormone Testosteron Total Mencit (*Mus musculus* L) Galur DDY Yang diberi Asap Rokok Kretek. (Tesis). Universitas Indonesia, Jakarta.
- Ayuningtyas, Frizka. 2018. Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) Terhadap Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus*) Jantan Yang Diinduksi Siklofosfamid (Skripsi). Universitas Pendidikan Indonesia, Jakarta.
- Bernhard, David. 2011. Cigarette Smoke Toxicity: Linking Individual Chemical To Human Diseases. Germany: Wiley-VCH.
- Bondonno, Nicola, P., Dalgaard, Frederik, Kyro, Cecilie, Murray, Kevin, Bondonno, Cathrine, P., & Lewis, Joshua, R., Croft, Keviin, D., Gislason, Gunnar, Scalbert, Augustin, Cassidy, Aedin, Tjonneland, Anne, Overvad, Kim & Hodgson, Jonathan, M. 2019. Flavonoid Intake Is Associated With Lower Mortality In The Danish Diet Cancer And Health Cohort. Article Of Nature Communications. Vol. 10.
- Boyle, P., Gray, N., Henningfield, J., & Zatonski, W. 2004. Tobacco Science, Policy, And Public Health. Oxford University Press, New York.
- David, A. V., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. 2016. Overviews Of Biological Importance Of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. Pharmacognosy Review. 10 (20): 84-89.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Rahmat, A., & Ashkani, S. 2015. Secondary Metabolites Constituents And Antioxidant, Anticancer And Antibacterial Activities Of *Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm Grown In Different Locations Of Malaysia. Biomed Central. (15): 1-10.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. 2015. Free Radicals In Biology & Medicine Fifth Edition. Oxford University Press, United Kingdom.
- Haw, K. Y., Chakravarthi, Srikumar, Haleagraha, Nagaraja, & Rao, M. 2012. Effects Of *Etilingera elatior* Extracts On Lead Acetate-Induced Testicular Damage: A Morphological And Biochemical Study. Experimental and Therapeutic Medicine. Vol. 3: 99-104.
- HIFERI. 2013. Konsensus Penanganan Infertilitas. Himpunan Endokrinologi Reproduksi Dan Fertilitas Indonesia.
- Jackie, T., Haleagraha, Nagaraja., & Chakravarthi, Srikumar. 2011. Antioxidant Effects Of *Etilingera elatior* Flower Extract Against Lead Acetate - Induced Perturbations In Free Radical Scavenging Enzymes And Lipid Peroxidation In Rats. BMC Research Notes. Vol. 4: 6.
- Maimulyati, A., & Prihadi, A. R. 2015. Chemical Composition, Phytochemical And Antioxidant Activity From Extract Of *Etilingera elatior* Flower From Indonesia. Journal Of Pharmacognosy and Phytochemistry. Vol. 3 (6): 233-238.
- Mescher, Anthony, L. 2016. Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas, 14th Edition. Alih bahasa dr. Jan Tambayong. Jakarta: EGC.
- Omotoso, G. O., Hambolu, O. Z., & Alabi, A. S. 2017. Cigarette Smoke Alters Testicular And Epididymal Histology In Adult Wistar Rats. Journal Of Experimental And Clinical Anatomy. Vol: 16 (1): 25-28.
- Saifudin, Azis. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep Dan Teknik Pemurnian. Yogyakarta: Deepublish.

Miftahul Jannah N, Manalu K, Prima Sari Tambunan E : Pengaruh Ekstrak Bunga Kincung *Etilingera elatior* J. Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih Yang Terpapar Asap Rokok

Sen, C., K., Packer, L., and Hanninen, O. 2000. Handbook Of Oxidants And Antioxidants In Exercise. Netherland: Elvesier.

Sudharma, N. I. 2012. Faktor Eksternal Yang Berhubungan Dengan Kadar Hormon Testosteron Pada Laki-laki Usia 40 Tahun Ke Atas Di Kecamatan Cilandak Jakarta Selatan (Analisis Data Sekunder Penelitian Payung Andropause Universitas Trisakti Puskesmas Kecamatan Cilandak Th 2011) (Tesis). Universitas Indonesia, Jakarta.

Suwarni, E., & Cahyadi, K. D. 2016. Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) Dengan Metode DPPH. *Medicamento*. Vol. 2 (2): 39- 45.

Wu, S., Meng, S., Fung, T., Chan, A., T., Liang, G., Giovannucci, E., Vivo, I., D., Lee, J., H. and Nan, H. 2019. Fruit And Vegetable Consumption, Cigarette Smoke, And Leukocyte Mitochondrial DNA Copy Number. USA: American Society For Nutrition. 109.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
20 Desember 2021	23 Desember 2021	01 Januari 2022	Ya