

PENGARUH EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior* J.) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK

SKRIPSI

**NURUL MIFTAHUL JANNAH
0704162010**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUMATERA UTARA
MEDAN
2021**

**PENGARUH EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG (*Etlingera
elatio* J.) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI
TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus* L.) YANG DIBERI
PAPARAN ASAP ROKOK**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Sains

**NURUL MIFTAHUL JANNAH
0704162010**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUMATERA UTARA
MEDAN
2021**

PERSETUJUAN SKRIPSI

Hal : Surat Persetujuan Skripsi

Lamp : -

Kepada Yth:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sumatera Utara Medan

Assalamualaikum Wr, Wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi saudara,

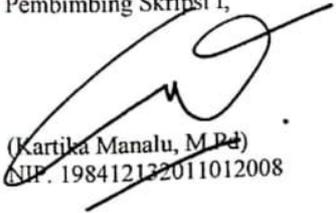
Nama : Nurul Miftahul Jannah
Nomor Induk Mahasiswa : 0704162010
Judul : Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior J.*) Terhadap Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok

dapat disetujui untuk dapat segera *dimunaqasyahkan*. Atas perhatiannya kami ucapkan terimakasih.

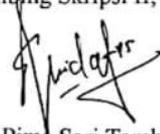
Medan, 31 Maret 2021 M
17 Sya'ban 1442 H

Komisi Pembimbing

Pembimbing Skripsi I,


(Kartika Manalu, M.Pd)
NIP. 198412122011012008

Pembimbing Skripsi II,


(Efrida Pima Sari Tambunan, M.Pd)
NIB. 1100000066

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Nurul Miftahul Jannah
Nomor Induk Mahasiswa : 0704162010
Program Studi : Biologi
Judul : Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang
(*Etilingera elatior* J.) Terhadap Gambaran
Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih
(*Rattus norvegicus* L.) Yang Diberi Paparan
Asap Rokok.

menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, kecuali beberapa kutipan dan ringkasan yang masing-masing disebutkan sumbernya. Apabila dikemudian hari ada pengaduan dari pihak lain karena di dalam skripsi ini ditemukan plagiat karena kesalahan saya sendiri, maka saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi lainnya sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Medan, 31 Maret 2021



Nurul Miftahul Jannah
NIM. 0704162010



**KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUMATERA UTARA MEDAN
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

Jl. IAIN No. 1 Medan 20235
Telp. (061) 6615683-6622925, Fax. (061) 6615683
Url : <http://saintek.uinsu.ac.id>, E-mail : saintek@uinsu.ac.id

PENGESAHAN SKRIPSI

Nomor : B.074/ST/ST.V.2/PP.01.1/04/2021

Judul : Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang
(*Etilingera elatior* J.) Terhadap Gambaran
Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih
(*Rattus norvegicus* L.) Yang Diberi Paparan
Asap Rokok

Nama : Nurul Miftahul Jannah

Nomor Induk Mahasiswa : 0704162010

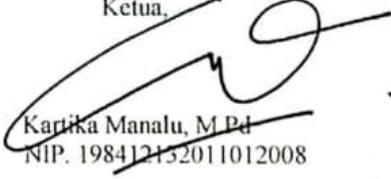
Fakultas : Sains dan Teknologi

Telah dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan dan dinyatakan **LULUS**

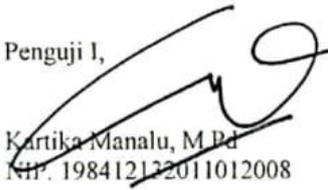
Pada hari/tanggal : Rabu, 31 Maret 2021

Tempat : Sidang *Online*

Tim Ujian Munaqasyah
Ketua,


Kartika Manalu, M.Pd
NIP. 198412132011012008

Penguji I,


Kartika Manalu, M.Pd
NIP. 198412132011012008

Dewan Penguji,

Penguji II,


Efrida Pima Sari Tambunan, M.Pd
NIB. 1100000066

Penguji III,

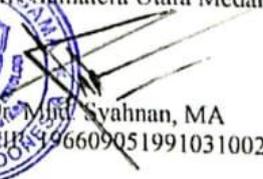

Melfa Aisyah Hutasuhut S.Pd., M.Si
NIB. 1100000065

Penguji IV,


Rahmadina, M.Pd
NIB. 1100000068

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sumatera Utara Medan,




Miftah Syahnan, MA
NIP. 196609051991031002

MOTTO

Ketika mengerjakan sesuatu selesaikanlah pekerjaanmu. Apabila rasa malas menghampirimu kala mengerjakan skripsi ingatlah wajah kedua orangtuamu.

-Where there is a will there is a way-

Allah berfirman dalam surah Al-Insyirah: 6, “Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”.

PENGARUH EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG (*Etlingera elatior* J.) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) YANG DIBERI PAPANAN ASAP ROKOK

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior* J.) terhadap jumlah rata-rata sel spermatosit primer dan diameter tubulus seminiferus serta angka dosis yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diberi paparan asap rokok. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 – Februari 2021 di tiga lokasi yaitu Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan sebagai tempat pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, Laboratorium Farmasi USU sebagai tempat pembuatan ekstrak bunga kecombrang dan laboratorium Patologi Balai Veteriner Medan sebagai tempat pembuatan preparat histologi tubulus seminiferus tikus putih. Rancangan penelitian menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pemberian dosis ekstrak bunga kecombrang 30, 60, 90 mg/kg BB. Hasil uji *One Way Anova* dan uji *Duncan* menunjukkan taraf signifikan ($p < 0,05$) yang berarti adanya perbedaan bermakna pada setiap kelompok. Berdasarkan pengamatan jumlah rata-rata sel spermatosit primer dan diameter tubulus seminiferus tikus putih diperoleh nilai tertinggi terdapat pada pemberian dosis 90 mg/kg BB yang menunjukkan jumlah rata-rata sel spermatosit primer paling banyak adalah $66,9 \pm 14,6$ dan diameter tubulus seminiferus paling besar yaitu $338,3 \pm 30,1 \mu\text{m}$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa dosis 90 mg/kg BB merupakan dosis yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus yang diberi paparan asap rokok.

Kata kunci : Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* J.), Paparan Asap Rokok, Histologi Tubulus Seminiferus.

**EFFECT OF EXTRACT OF KECOMBRANG (*Etlingera elatior*
J.) ON THE HISTOLOGICAL DESCRIPTION OF THE
SEMINIFERUS TUBULUS (*Rattus norvegicus* L.)
SMOKE EXPOSURE**

ABSTRACT

This study aims to see the effect of kecombrang flower (*Etlingera elatior* J.) extract on the average number of primary spermatocytes and seminiferous tubule diameter and the dose rate that has the most influential on the improvement of seminiferous tubule histology of white rats (*Rattus norvegicus* L.) exposed to smoke cigarette. This research was conducted in September 2020 - February 2021 in three locations, namely the Laboratory of Biology, Faculty of Science and Technology, UIN North Sumatera Medan as a place for animal care and treatment, the USU Pharmacy Laboratory as a place for extracting kecombrang flower and the Pathology Laboratory of the Medan Veterinary Center as a place for the manufacture of seminiferous tubules of white rat histological preparations. The research design used a completely randomized design (CRD) method and the dose of kecombrang flower extract was 30, 60, 90 mg/kg BW. The results of the One Way Anova test and Duncan's test showed a significant level ($p < 0,05$), which means that there were significant differences in each group. Based on the observation of the average number of primary spermatocyte cells and the diameter of the seminiferous tubules of white rats, the highest value was found at the dose of 90 mg/kg BW which showed that the average number of primary spermatocytes was $66,9 \pm 14,6$ and the diameter of the seminiferous tubules. the best is $338,3 \pm 30,1 \mu\text{m}$. The conclusion of this study is that the dose of 90 mg/kg BW is the most influential dose for the improvement of seminiferous tubule histology in rats exposed to cigarette smoke.

Keywords: Kecombrang Flower (*Etlingera elatior* J.) Extract, Exposure to Cigarette Smoke, Seminiferous Tubule Histology.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan Alhamdulillah penulis panjatkan syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala Rahmat dan karunia-Nya serta sholawat kepada baginda Muhammad Saw sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **”Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior* J.) Terhadap Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Yang Diberi Paparan Asap Rokok”** untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medan.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada pihak-pihak yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini terutama kepada:

1. Prof. Dr. Syahrin Harahap, M.A. selaku Rektor UIN Sumatera Utara Medan.
2. Dr. Mhd. Syahnan, M. A. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan.
3. Kartika Manalu, M.Pd. selaku Ketua Program Studi sekaligus Dosen Pembimbing I yang banyak memberikan bimbingan dan bantuan dalam penyusunan skripsi ini, serta dosen-dosen dan staff administrasi yang telah membantu selama proses perkuliahan.
4. Efrida Pima Sari Tambunan, M.Pd. selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan serta bersedia meluangkan waktu memberikan saran dan motivasi selama penyusunan skripsi.
5. Melfa Aisyah Hutasuhut, M.Si dan Rahmadina, M.Pd selaku Penguji Skripsi yang telah memberikan saran dan arahan dalam penyusunan skripsi.
6. Husnarika Febriani, S.Si., M.Pd selaku Kepala Laboratorium Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan yang telah memfasilitasi penelitian dalam rangka penyelesaian skripsi.

7. Bapak Drs. Khairuddin dan Ibu Sari Mauliana Hutagalung S.Ag., adik-adik tersayang Zul Aulia Fitrah, Farhatul Muhaiyah, Zahra Ramadhanur Risyifa dan Khairul Habib Maulana yang dengan penuh kasih sayang serta memberikan arti sebuah kesabaran dalam menjalani kehidupan.
8. Sarma Nusantara S.Pd dan Syawal Abdi Nasution, S.Pd., M.A sebagai wali selama penulis belajar di UIN Sumatera Utara Medan.
9. Teman seperjuangan Farhana Hasri, Tri Novita Sari Butar-Butar, Pera Widya Ningsih, Anggi Silvi Sulistia, Fadila Rahma, Sri Murni Ayu Lestari, Elidarni, Fauziah M.Z., dan Barian Adha yang senantiasa kebersamai serta memberikan dorongan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
10. Nur Khairiyah, Dinda Khairunnisa, Aisyah Suci Mahdiva, Mirna Mutiara dan seluruh keluarga Biologi I stambuk 2016 yang senantiasa memberikan tawa, duka, semangat, dan motivasi.
11. Semua pihak yang tidak dapat diucapkan satu persatu dalam memberikan dukungan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

Medan, Maret 2021

Penulis,

Nurul Miftahul Jannah

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Penelitian	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kecombrang (<i>Etilingera elatior</i> J.).....	5
2.1.1 Klasifikasi Kecombrang	5
2.1.2 Morfologi Kecombrang.....	6
2.1.3 Kegunaan Secara Tradisional.....	7
2.1.4 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas.....	7
2.2 Simplisia	8
2.3 Ekstrak	8
2.3.1 Metode Pembuatan Ekstrak.....	9
2.3.1.1 Cara Dingin.....	9
1. Maserasi	9
2. Perlokasi	9
2.3.1.2 Cara Panas	9
1. Infusa	9
2. Soxhlet	9
3. Refluks	10
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)	10
2.5 Testis	11

2.5.1 Tubulus Seminiferus	12
2.5.2 Spermatogenesis.....	13
2.5.3 Spermiogenesis.....	15
2.5.4 Hormon Pada Reproduksi Jantan	17
2.6 Radikal Bebas dan Antioksidan	17
2.7 Rokok.....	20
2.7.1 Pengertian Rokok dan Kandungan Rokok	20
2.7.2 Perokok Pasif dan Efek Asap Rokok	21

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	24
3.2.1 Alat	24
3.2.2 Bahan	24
3.3 Rancangan Penelitian	24
3.4 Prosedur Kerja	25
3.4.1 Aklimatisasi Hewan Coba	25
3.4.2 Pembuatan Ekstrak Bunga Kecombrang.....	26
3.4.3 Pemaparan Asap Rokok	26
3.4.4 Penetapan Dosis dan Pemberian Ekstrak	27
3.4.5 Pembedahan Hewan	27
3.4.6 Pembuatan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus	27
3.4.7 Pembacaan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus.....	29
3.5 Analisis Data	30
3.6 Alur Penelitian.....	31

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Skrining Fitokimia Kecombrang.....	33
4.2 Perbandingan Histologi Tubulus Seminiferus	35
4.3 Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Jumlah Rata-rata Sel Spermatosit Primer.....	37
4.4 Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus.....	40

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Bunga Kecombrang (<i>Etilingera elatior</i> J.).....	6

2.2 Potongan Melintang Tubulus Seminiferus.....	13
2.3 Spermatogenesis dan Spermiogenesis.....	15
4.1 Gambaran Tubulus Seminiferus.....	35
4.2 Diagram Batang Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer	38
4.3 Diagram Batang Diameter Tubulus Seminiferus	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul Tabel	Halaman
2.1	Data Biologis Tikus Putih	11

4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Bunga Kecombrang	34
4.2 Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer	37
4.3 Diameter Tubulus Seminiferus	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul Lampiran
1.	<i>Ethical Cleareans</i> Penelitian

2. Identifikasi Tanaman Kecombrang (*Etlingera elatior* J.)
3. Hasil Skrining Fitokimia Kecombrang (*Etlingera elatior* J.)
4. Surat Izin Penelitian Balai Veteriner Medan
5. Tabel Data Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer
6. Tabel Data Diameter Tubulus Seminiferus
7. Perhitungan Dosis Ekstrak
8. Hasil Analisis SPSS Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer
9. Hasil Analisis SPSS Diameter Tubulus Seminiferus
10. Dokumentasi Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecombrang (*Etilingera elatior* J.) adalah tanaman berupa herba besar yang membentuk rumpun dan tumbuh di ketinggian mulai dari dataran rendah hingga mendekati 1000 m atau lebih (Silalahi *et al*, 2018). Kecombrang termasuk kedalam famili Zingiberaceae dan tersebar cukup luas di Indonesia (Farida *et al*, 2016). Bagian yang paling umum digunakan adalah bunganya sebagai cita rasa pada masakan. Kecombrang mengandung beberapa senyawa antioksidan salah satunya adalah senyawa flavonoid. Kecombrang memiliki beberapa jenis minyak esensial yang memiliki sifat bioaktif, pada batang memiliki kandungan minyak esensial sebesar 0,0029%, daun 0,0735%, rimpang 0,0021% dan pada bunga sebesar 0,0334% (Jaafar *et al*, 2007).

Ekstrak asetil bunga kecombrang mengandung antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 68,24 µg/mL (Maimulyanti and Prihadi, 2015). Pada hewan uji tikus, efek antioksidan yang kuat pada bunga kecombrang digunakan sebagai agen terapeutik untuk melawan toksisitas radikal bebas penyebab stres oksidatif. Potensi antioksidan yang terdapat pada ekstrak bunga kecombrang seperti flavonoid adalah 772±34 mg dan fenolik sebesar 424±62 mg *gallic acid equivalent* (GAE) (Jackie, 2011). Selain itu, juga digunakan sebagai imunomodulator serta menurunkan persentase sel basofil, dan eosinofil dapat digunakan sebagai obat anti alergi Aldi *et al*, (2020).

Merokok merupakan salah satu aktivitas rutin dilakukan yang dapat memicu munculnya radikal bebas. Asap yang dikeluarkan dari rokok mengandung toksisitas 4.000 bahan kimia seperti nikotin, *Polynuclear Aromatic Hydrogen* (PAH), nitrogen oksida (NO_x), hidrogen sianida (HCN), karbon dioksida (CO₂), *benzene*, *methanol*, *acrolein*, *benzaldehyde*, *acetilen*, *coumarin*, *perilen*, *etilcatehol-4*, *ortokresol*, dan lainnya (Boyle *et al*, 2004). Studi tentang paparan asap rokok sejauh ini berfokus terutama pada endapan nikotin sebagai indikator resiko kesehatan. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh paparan asap rokok adalah infertilitas.

Infertilitas adalah keadaan sepasang suami istri yang telah menikah selama setahun, berhubungan seksual teratur dan tanpa menggunakan kontrasepsi tetapi belum mendapati kehamilan atau memiliki anak. Berdasarkan data *World Health Organization* (2000) ada sekitar 50-80 juta pasangan suami istri yang bermasalah dengan infertilitas dan setiap tahunnya terdapat 2 juta pasangan yang mengalami kasus infertilitas. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Sudharma, (2012) menyatakan bahwa merokok berkaitan dengan hormon testosteron, disimpulkan bahwa laki-laki yang merokok mempunyai faktor protektif terhadap hormon testosteron yang rendah dibanding dengan laki-laki yang tidak merokok.

Asap rokok mengandung nikotin sebagai penghambat terhadap sel Leydig untuk menghasilkan testosteron serta kerusakan pada tubulus seminiferus yakni lumen sel spermatogenik melebar tak beraturan (Hargono *et al*, 2013). Penurunan populasi sel spermatogenik, garis yang tidak teratur, terputusnya flagela sperma dewasa, pengurangan jumlah sel Leydig dan berkurangnya jumlah sel sperma dewasa dalam tubulus seminiferus dan ekor epididimis pada tikus yang terpapar asap rokok (Omotoso *et al*, 2017). Pemaparan asap rokok satu batang perhari merusak epitel tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus*) sehingga lumen menjadi terbuka menandakan tak berisi spermatozoa (Tias, 2019).

Radikal bebas merupakan suatu molekul tak berpasangan yang dapat merusak sel-sel tubuh. Meningkatnya radikal bebas dalam tubuh yang dipengaruhi oleh spesies oksigen reaktif (ROS) akan menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah terjadinya proses radikal bebas di dalam tubuh. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas menghambat peroksidasi lipid yang bertindak sebagai penangkap radikal peroksil untuk menghentikan reaksi berantai secara *in vitro* (Halliwell & Guttridge, 2015). Bunga kecombrang sebagai antioksidan cenderung stabil memperbaiki kualitas sperma dan mengurangi efek samping bagi mencit jantan yang diinduksi siklofosamid (Ayuningtyas, 2018). Kandungan senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan tanin pada ekstrak etanol dari bunga kecombrang mempunyai aktivitas antiradikal bebas yang sangat kuat dengan nilai $IC_{50} = 7,82$ ppm (Suwarni *et al*, 2016). Menurut

Colagate dan Molyneux (2008) suatu ekstrak dapat dikatakan memiliki potensi antikanker apabila nilai IC50-nya adalah dibawah 1000 ppm.

Ekstrak bunga kecombrang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk memperbaiki masalah kesehatan reproduksi (Ayuningtyas, 2018). Kandungan flavonoid yang tinggi pada bunga kecombrang mampu membantu *superoksida dismutase* (SOD) antioksidan alami tubuh yang bekerja menghambat peroksidasi lipid penghasil radikal peroksil dengan menghentikan reaksi rantai radikal bebas sehingga bunga kecombrang dapat dikatakan sebagai antioksidan non enzimatis yang mampu memperbaiki kerusakan sel spermatogenik akibat radikal bebas asap rokok. Oleh karena ini, maka peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior J.*) Terhadap Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok”**.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka didapatkan rumusan masalah yaitu:

1. Apakah ekstrak bunga kecombrang berpengaruh terhadap jumlah rata-rata sel spermatosit primer dan diameter histologi tubulus seminiferus tikus putih yang diberi paparan asap rokok?
2. Berapakah dosis ekstrak bunga kecombrang yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih yang diberi paparan asap rokok.

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini menghitung jumlah rata-rata sel spermatosit primer dan mengukur diameter tubulus seminiferus tikus putih yang diberi paparan asap rokok.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak bunga kecombrang terhadap jumlah rata-rata sel spermatosit primer dan diameter tubulus seminiferus.
2. Untuk mengetahui dosis yang paling berpengaruh terhadap perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih yang diberi paparan asap rokok.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Penelitian ini dapat menambah wawasan dan pengetahuan kepada pembaca tentang kandungan dan kegunaan tanaman kecombrang.
2. Hasil Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh ekstrak bunga kecombrang terhadap reproduksi pria.
3. Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh rokok terhadap kesehatan reproduksi pria.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kecombrang (*Etilingera elatior* J.)

Kecombrang termasuk ke dalam jenis jahe. Genus *Etilingera* dikenal dengan *Torch Ginger* yang dibudidayakan di seluruh daerah tropis dan digunakan dalam masakan Asia Tenggara. Genus *Etilingera* beragam secara morfologis dengan jumlah total spesies masih belum dihitung secara keseluruhan, tetapi diperkirakan ada 150-200 spesies. Semua spesies kecombrang selalu hijau dan sebagian besar ditemukan di hutan hijau sepanjang khatulistiwa, tumbuh dari dataran rendah dengan ketinggian 2.700 m (Poulsen, 2012).

Tanaman kecombrang memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerah. Di Indonesia, umumnya dikenal dengan kecombrang, di Medan disebut kincung, di Tapanuli Selatan disebut bunga rias, di Tanah Karo disebut asam sekala, di Bali disebut kecicang, di Lampung disebut kumbang sekala, di Minangkabau disebut sambuang, di Banyuwangi disebut lucu, di Bengkulu disebut unji atau honje (Silalahi *et al*, 2018) dan di Malaysia dikenal dengan nama lokal kantan (Jackie *et al*, 2011).

2.1.1 Klasifikasi Kecombrang

Menurut Tjitrosoepomo (2005), klasifikasi kecombrang yaitu:

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Sub Class	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Etilingera</i>
Spesies	: <i>Etilingera elatior</i> (Jack Smith).

2.1.2 Morfologi Kecombrang



Gambar 2.1 Bunga kecombrang (Foto Pribadi, 2020).

Kecombrang merupakan tanaman herba yang membentuk rumpun, berbatang semu, tegak, berwarna hijau dan membentuk rimpang. Kecombrang memiliki daun lebat dengan tinggi mencapai 5-6 m dengan pangkal berjarak 10-18 cm satu dengan lainnya. Daun tersusun menyilang sepanjang daun kecuali dibagian pangkal tidak berkembang, berjumlah kurang lebih 17 pasang. Panjang persimpangan daun dan tangkai daun lebih kurang 2 cm. Tangkai dari jenis ini memiliki panjang 2,5-3,5 cm, helaian daun berbentuk oblong, mencapai 81x18 cm pada anak daun paling besar dibagian tengah. Bunga kecombrang adalah bunga majemuk berbentuk bonggol, banyak bunga berjumlah 200 atau lebih, umumnya 11-13 bunga mekar secara bersamaan. Bunga dengan pinggiran tegak memiliki panjang 1,8-2 cm, lebar 0,8 cm, bunga berwarna merah dengan pinggiran berwarna kuning kecuali pada pinggir pangkal, ujung bunga berbentuk bundar. Kecombrang memiliki perbuahan yang memanjang dengan ukuran 19x10 cm dengan jumlah bunga yang masih mengering. Jumlah buah kecombrang 15-25 atau lebih, buah berbentuk bulat telur sungsang dan berwarna kuning langsung atau hijau pucat saat buah matang. Akar dari

jenis ini terletak dibawah tanah atau rimpang yang berbentuk silindris dengan diameter 3-4 cm dan kulit berwarna hijau (Silalahi *et al*, 2018).

2.1.3 Kegunaan Secara Tradisional

Masyarakat lokal Indonesia menggunakan bunga kecombrang sebagai bahan makanan seperti ubi tumbuk, arsik, sambal kincung, getah tasak telur, cipera terong dotak, gat-gat, dan gulen manuk (Purwoko *et al*, 2019). Di Malaysia, masyarakat lokal memanfaatkannya sebagai bumbu masakan seperti kari. Kecombrang juga dimanfaatkan sebagai pengawet makanan (Naufalin *et al*, 2013).

Dalam dunia medis, kecombrang digunakan untuk mengobati infeksi telinga, kurang nafsu makan, diare, dan demam tiroid. Selain itu, juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, larvasida, hepatoprotektif, inhibisi tirosinase, dan penolak serangga (Silalahi *et al*, 2018). Pada batang kecombrang digunakan untuk berbagai jenis obat untuk menyembuhkan masalah kesehatan seperti batuk, sakit mata, demam dan untuk mengobati penipisan rambut (Jaafar *et al*, 2007; Abdelwahab *et al*, 2010).

2.1.4 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas

Kecombrang mengandung protein (12,6%), lemak (18,2%), serat (17,6%), kadar asam lemak tak jenuh yang tinggi (*palmitoleic acid*) 16,4%, asam linoleat 14,5%, dan asam oleat 5,2%), asam amino esensial (leusin) sebesar 7,2 mg/100, protein dan lisin (7,9 mg/100 mg protein) serta mineral penting seperti K (1589 mg/100 g), Ca (775 mg/100g), Mg (327 mg/100 g), P (286 mg/100 g) dan S (167 mg/100 g) (Wijekoon *et al*, 2011).

Kecombrang memiliki senyawa metabolit sekunder seperti saponin, tanin, *quercetin*, *lainglikosida*, antosianin, *kaemprefol*, *quercitrin*, *ergosterol* 5,8-*peroksida*, *diarilheptanoid*, *labdane diterpenoid*, *sitostenon*, *catechin*, *kaempfrol* 3-*glukoronida*, *dekanal*, *dodekanal*, *1-tetradekana*, *detoksikurkumin*, *ester dodesil*, *sterol*, β -*cinene*, β -*farnesene* dan aneka terpen (Silalahi *et al*, 2018). Selain itu, kecombrang memiliki senyawa golongan fenolik seperti *resveratrol* dan jenis flavonoid seperti *apigenin*, *3-Hydroxy3,4'-dymethoxyflavone*, *lapachol*, *methyled*

chrysin, *4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone*, dan *6,2'-dihydroxyflavanone* (Rusanti *et al*, 2017).

Kecombrang mengandung bioaktif senyawa seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan minyak esensial yang dianggap memiliki potensi sebagai antioksidan dan juga alternatif alami sebagai bahan pengawet (Wijekoon *et al*, 2011). Batang kecombrang mengandung minyak esensial (Jaafar *et al*, 2007; Abdelwahab *et al*, 2010). Antioksidan yang kuat pada kecombrang disebabkan karena kandungan senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan tanin (Suwarni *et al*, 2016). Senyawa aktif seperti golongan polifenol, fenol, flavonoid dan terpenoid umumnya bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi. Aktivitas farmakologis terjadi dengan berbagai mekanisme kerja yang berguna dalam mengatasi berbagai penyakit (Farida *et al*, 2016).

2.2 Simplisia

Simplisia merupakan hasil pengolahan tanaman yang diduga efektif dalam wujud sampel dengan tidak mengganti sifat asli dari bahan (Widaryanto *et al*, 2018). Simplisia terbagi atas simplisia hewani, simplisia nabati serta simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati merupakan simplisia dari bahan tanaman utuh, bagian tanaman, atau isi sel tanaman yang keluar spontan dengan metode pengeluaran tertentu serta belum berbentuk unsur kimia murni (Maula, 2013). Sesi pembuatan simplisia diawali dari sortasi basah, pencucian bahan, perajangan serta pengeringan (penjemuran). Pada simplisia bunga kandungan air yaitu $\leq 5\%$. Metode pengumpulan simplisia bunga dilakukan dengan cara dipetik dengan tangan untuk memilah bunga yang masih kuncup, bunga mekar, mahkota bunga ataupun daun bunga (Widaryanto *et al*, 2018).

2.3 Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kental yang didapatkan dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati ataupun simplisia hewani dengan memakai pelarut yang cocok sesudah itu diuapkan serta serbuk ataupun massa dari simplisia memenuhi baku yang sudah ditetapkan (Yamlean, 2020). Beberapa jenis ekstrak

yaitu ekstrak kering, ekstrak cair dan ekstrak kental. Ekstrak kering adalah jika kandungan air dalam simplisia kurang dari 5%. Ekstrak cair adalah simplisia yang dilarutkan dengan etanol atau sebagai pengawet serta apabila hasil ekstraksi masih dapat dituang dan memiliki kandungan air lebih dari 30%. Ekstrak kental adalah jika kandungan air dalam simplisia antara 5-30% (Saifuddin *et al*, 2011).

2.3.1 Metode Pembuatan Ekstrak

2.3.1.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah ekstraksi sederhana dimana pengerjaannya hanya dilakukan dengan cara merendam simplisia dengan pelarut dengan cara diaduk pada suhu kamar sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan dengan senyawa simplisia. Metode ekstraksi digunakan untuk simplisia yang mengandung zat aktif mudah larut di dalam pelarut (Najib, 2018). Maserasi dan perlokasi dilakukan pada penyaringan dengan campuran etanol dan air (Yamlean, 2020).

2. Perlokasi

Perlokasi adalah ekstraksi biasanya digunakan pada pembuatan simplisia galenik yang pekat, ekstrak cair dan resin. Tahap perlokasi dimulai dari dari perlokasi biasa, perlokasi bertingkat, perlokasi bertekanan, dan perlokasi berkesinambungan (Yamlean, 2020).

2.3.1.2 Cara Panas

1. Infusa

Infusa adalah proses penyaringan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 - 20 menit (Najib, 2018).

2. Soxhlet

Soxhlet adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan simplisia ke dalam sebuah kantong ekstraksi (Najib, 2018).

3. Refluks

Refluks adalah ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya dengan waktu tertentu dan jumlah pelarut yang terbatas yang relatif konstan (Maula, 2013).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)

Menurut Myres and Armitage (2004), klasifikasi tikus putih galur wistar yaitu:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> L.

Tikus adalah hewan laboratorium yang paling umum digunakan. Tikus merupakan hewan sosial aktif yang hidup dalam kelompok dengan satu jantan dan beberapa betina (Wolfenshon and Lloyd, 2013). Kenyamanan menggunakan tikus adalah alasan kenapa tikus sering digunakan. Tikus dengan berbagai galur khusus telah diperkenalkan oleh para ilmuwan untuk eksperimen. Tikus yang paling sering digunakan dalam penelitian adalah galur wistar merupakan hasil turunan tikus yang mempunyai fertilisasi yang tinggi dan memiliki sifat-sifat perkawinan yang konsisten sehingga memudahkan ilmuwan untuk melihat perkembangan sebuah penelitian (Harkness and Warger, 1989).

Tikus putih memiliki ciri-ciri antara lain, ukuran kepala kecil, albino, memiliki ekor yang panjang dibandingkan badan tikus, perkembangan yang cepat, memiliki temperamen yang baik, serta tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2013). Fase reproduksi pada tikus putih berkisar 2 sampai 3,5 tahun, disapih pada umur 21 hari (3 minggu), fase pubertas mulai 40-60 hari (2 bulan), fase menuju dewasa 63-70 hari, fase kematangan sosial 160-180 (5-6 bulan) dan fase penuaan

tikus adalah 1,5-2 tahun (Sengupta, 2013). Data biologis tikus putih dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2.1 Data Biologi Tikus Putih (Smith and Mangkoewidjojo, 1988).

Nilai Fisiologis	Kadar
Berat badan tikus dewasa	Jantan 450-520 g Betina 250-300 g
Asupan makanan	15-30 g/hari (dewasa)
Asupan air	20-45 ml/hari (dewasa)
Konsumsi oksigen	1,29-2,68 ml/g/jam
Jangka hidup	3 sampai 4 tahun
Umur dewasa	40-60 hari
Umur dikawinkan	8-10 minggu (jantan dan betina)
Siklus kelamin	Polietrus
Siklus etrus (birahi)	4-5 hari
Lama etrus	9-20 jam
Perkawinan	Pada waktu etrus
Ovulasi	8-11 jam setelah timbul etrus, spontan
Fertilisasi	7-10 jam sesudah kawin
Implantasi	5-6 hari setelah fertilisasi
Denyut jantung	250-450 kali/menit.

2.5 Testis

Testis merupakan organ kelamin jantan dengan struktur lunak memiliki bentuk oval dengan panjang 4-5 cm, memiliki lebar 2,5 cm dan tebal 3 cm. Sepasang testis memiliki berat 1-14 gr. Testis mengandung sel-sel endokrin menghasilkan hormon testosteron yang memicu perkembangan reproduksi laki-laki. Bagian luar testis terdapat tunika albuginea terdiri dari sebagian besar jaringan ikat berserat berupa kapsul putih tebal mengelilingi testis. Jaringan ikat tunika albuginea membentuk septa dan membagi setiap testis menjadi sekitar 300 sampai 400 lobulus. Septa mediastinum memanjang terdiri dari jaringan ikat, getah bening dan pembuluh darah serta sel otot dan serabut saraf. Struktur makroskopis testis terdiri dari jaringan glanduler (kelenjar) yang terbagi menjadi 200-300 lobi. Setiap lobus berisi tubulus seminiferus berkelok-kelok yang bermuara ke dalam vas deferens (Ferial, 2013). Struktur mikroskopis testis yaitu tunika albuginea (kapsul jaringan ikat yang membungkus testis), lobulus testis yang setiap lobulus

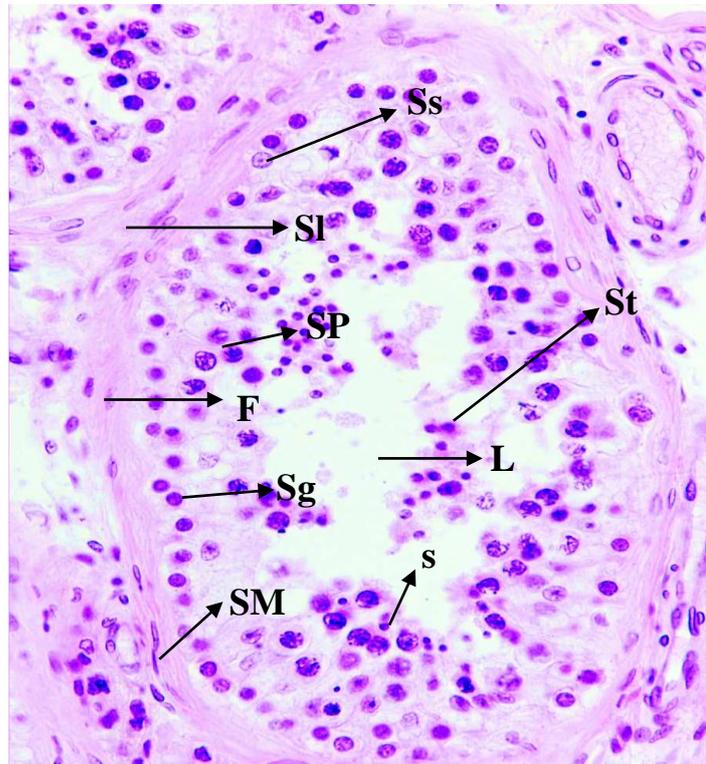
mengandung sedikit jaringan ikat dengan sel interstisium endokrin (sel Leydig) yang berguna mensekresikan testosteron (Mescher, 2016).

2.5.1 Tubulus Seminiferus

Tubulus seminiferus merupakan bagian dari testis. Setiap tubulus seminiferus dilapisi sebuah epitel berlapis yang padat yakni spermatogenik ataupun epitel germinal terdiri dari sel sertoli dan sel-sel yang membelah dari turunan spermatogenik. Membran basal tubulus seminiferus terdapat jaringan ikat fibrosa dan jaringan fibrosa yang terdapat sel mioid. Jaringan tersebut menutupi membran basal spermatogenik. Sel turunan spermatogenik adalah sel yang membelah dari proses spermatogenesis yang meliputi mitosis, meiosis dan spermiogenesis sampai jadi sel jantan yang ada di tubulus seminiferus (Mescher, 2016).

Tubulus seminiferus terdapat sel sertoli yang memberi nutrisi untuk spermatozoa yang sedang berkembang. Sel sertoli juga membentuk hormon estrogen dan testosteron serta memproduksi hormon inhibin (*negative feedback*) yang menyebabkan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) menurun (Starr *et al*, 2013). Sel sertoli adalah sel *columnar* (sel paling dalam) yang membentangi dari membran basal ke lumen. Sel sertoli membentuk *blood-testis barrier*, persimpangan *tight junction*. *Blood testis barrier* mengisolasi spermatogonia yang berkembang, spermatogonia yang berdiferensiasi memasuki kompartemen adluminal dan ditutup dengan kompartemen basal (Peckham, 2011).

Panjang gabungan tubulus seminiferus pada kedua testis hampir setengah mil. Tubulus seminiferus bergabung menjadi satu set tubulus pendek dan lurus yaitu tubulus rekti lalu ke rete testis yaitu jaringan yang terdiri dari saluran-saluran yang berlapis epitel (Seeley *et al*, 2008). Tubulus seminiferus memproduksi sperma dengan kecepatan 2×10^8 per hari pada laki-laki dewasa muda (Mescher, 2016).



Gambar 2.2 Potongan melintang tubulus semeniferus dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 132 kali. Ket. Ss (sel sertoli), (SI) sel leydig, SM (sel mioid), F (Fibrolas), Sg (sel spermatogonia), SP (spermatosit primer), S (sel spermatid), St (sel spermatid), L (lumen) (Gartner *et al*, 2011).

2.5.2 Spermatogenesis

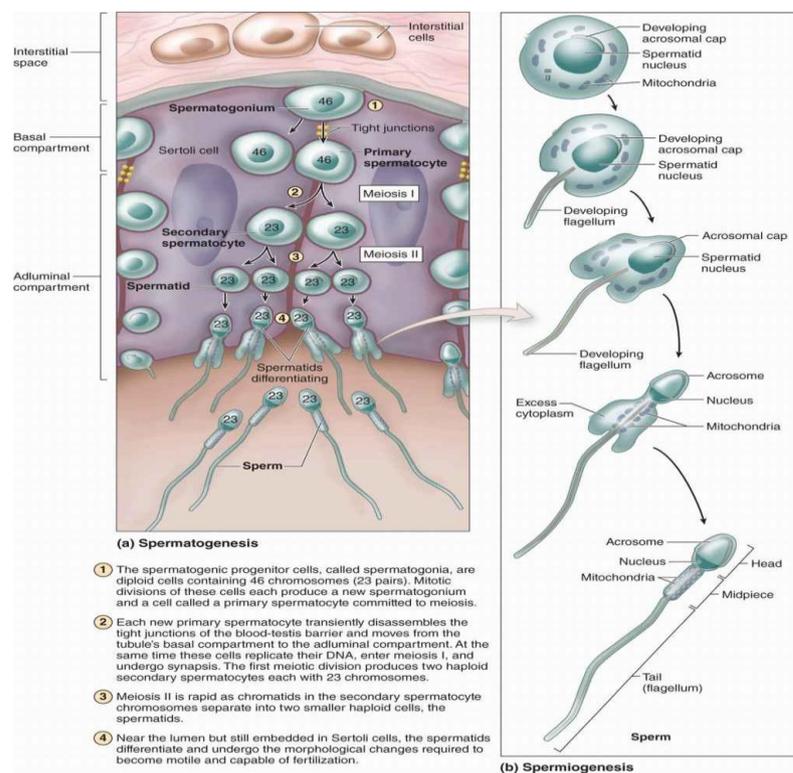
Spermatogenesis adalah proses perkembangan sel induk (spermatogonium) menjadi sel spermatozoa yang berlangsung selama 46 hari (\pm 4 hari) dan terjadi pada tubulus seminiferus sebagai tempat berlangsungnya spermatogenesis yang terlilit dalam lobulus (Setiadi, 2007).

Pembentukan sel spermatogenesis dimulai saat pubertas dengan sel induk yang mengalami pengulangan fase tanpa henti dan sel yang berdiferensiasi menjadi sel jenis tertentu disebut spermatogonia. Spermatogonia memiliki ciri-ciri sel bulat dan kecil yang berdiameter sekitar 12 μ m. Spermatosit primer memiliki ciri-ciri sel besar yang memiliki inti bulat dan besar, dimana kromatin inti dikumpul menjadi kromatid melingkar yang berwarna gelap seperti benang. Sel spermatosit ini kemudian menjadi spermatosit sekunder pada fase pertama pembelahan mioisis (Low *et al*, 2016). Spermatosit sekunder yang terlihat pada beberapa bagian hanya

beberapa karena spermatosit sekunder mengalami pembelahan yang sangat singkat dan langsung menjalani pembelahan meiosis kedua untuk menghasilkan sel spermatid (Low *et al*, 2016). Tahapan spermatogenesis adalah:

1. Sel spermatogonia ada tiga jenis:
 - a. Sel spermatogonia tipe A memiliki inti lonjong dan berwarna gelap berfungsi sebagai sel induk, sel ini jarang membelah dan menghasilkan sel induk baru dengan sel inti berbentuk lonjong dan berwarna lebih pucat, sel membelah lebih cepat sebagai sel yang berdiferensiasi menjadi sel jenis tertentu.
 - b. Setelah mengalami beberapa kali pembelahan, spermatogonia tipe A menjadi spermatogonia tipe B yang memiliki inti lebih bulat dan berwarna pucat. Setiap spermatogonia B kemudian mengalami pembelahan mitosis dan menghasilkan dua sel yang tumbuh yaitu menjadi sel spermatosit primer yang merupakan sel diploid yang memiliki 46 kromosom (23 pasang).
2. Sel spermatosit primer yang baru untuk sementara membongkar *tight junctions* dari *blood-testis barrier* dan pindah dari membran basal menuju membran adluminal. Pada saat ini juga, sel-sel spermatosit primer mereplikasi DNANYa. Spermatosit primer adalah sel yang paling besar dari turunan spermatogenik yang ditandai dengan adanya kromosom padat. Tahap ini sudah masuk fase membelah secara meiosis I untuk menghasilkan sel spermatosit sekunder haploid dengan masing-masing 23 kromosom. Fase meiosis I berlangsung sekitar 3 minggu
3. Sel spermatosit sekunder bermiosis II dengan sangat cepat dimana kromatid dari spermatosit sekunder terbelah jadi dua sel haploid yang lebih kecil yakni sel spermatid. Spermatosit sekunder jarang ditemukan pada sediaan preparat karena masa hidupnya yang singkat berada pada interfase dan langsung melakukan pembelahan meiosis II.
4. Spermatosit sekunder melakukan pembelahan, memisahkan kromatid tiap kromosom sehingga menghasilkan dua sel haploid yaitu sel spermatid. Sel spermatid berdiferensiasi serta mengalami perubahan

secara morfologi, berada di dekat lumen namun masih tetap terbenam di dalam sel sertoli. Sel spermatid kemudian mengalami spermiogenesis dan secara perlahan menjadi satu spermatozoa. Pada manusia proses pembentukan sperma berlangsung sekitar 2 bulan (Mescher, 2016).



Gambar 2.3 Spermatogenesis dan Spermiogenesis (Mescher, 2016).

2.5.3 Spermiogenesis

Pada akhir spermatogenesis, sel-sel sperma yang sedang berkembang berkumpul di sekitar lumen tubulus seminiferus, dengan kepala sperma yang secara langsung mengarah ke sel-sel yang menopang sesama sel sperma disekitarnya dan ekor sperma mengarah ke pusat lumen (Seely *et al*, 2008). Spermiogenesis merupakan tahap akhir produksi sperma, suhu mempengaruhi spermatid untuk berdiferensiasi menjadi spermatozoa yang secara khusus berfungsi menyampaikan DNA laki-laki ke sel ovum. Spermiogenesis mencakup pembentukan akrosom, perkembangan flagela, pemanjangan inti serta hilangnya sitoplasma yang banyak. Adapun tahap spermiogenesis adalah:

1. Pada fase golgi, sitoplasma mengandung *aparatus golgi* yang bergabung menjadi satu tudung akrosom yang berlapis membran didekat salah satu ujung inti. Sentriol-sentriol berpindah di posisi paling jauh dari tudung akrosom, untuk mengatur aksonem flagelum
2. Pada fase tudung, akrosomal memiliki tudung yang meluas sampai sekitar separuh inti sel yang padat. Akrosom merupakan lisosom khusus mengandung enzim hidrolitik lebih utamanya adalah *hialuronidase* dan akrosin. Enzim dilepaskan saat spermatozoa berjumpa dengan oosit dan membran akrosom melebur bersama membran plasma sperma
3. Pada fase akrosom, kepala sperma dalam perkembangan, tetap terpendam dalam sel sertoli. Inti sel memanjang dan padat. Flagela tumbuh dan mitokondria berkumpul disekitaran tengah untuk membentuk bagian tengah menebal tempat ATP yang berfungsi sebagai pergerakan flagela
4. Fase maturasi (pematangan), sitoplasma dibuang dalam bentuk badan residu karena tak dibutuhkan sehingga sisa jembatan intraseluler dari spermatozoa menghilang. Sperma matur yang belum bergerak dilepaskan ke dalam lumen tubulus seminiferus (Mescher, 2016).

Sel spermatid haploid adalah sel kecil dengan diameter 7 hingga 8 μ m berada di dekat lumen tubuli seminiferi. Sperma disimpan di epididimis dan vas deferens menjalankan sperma menuju permukaan tubuh hanya saat laki-laki ejakulasi dan keluar berupa semen. Semen adalah campuran lengkap sperma, protein, nutrisi, molekul senyawa dan ion. Sperma yang terkandung dalam semen kurang dari 5% volume semen dan selebihnya ialah sekresi kelenjar aksesoris (Starr *et al*, 2013).

Sperma sangat sensitif terhadap suhu, suhu permisif yang harus dipertahankan kantong skrotum adalah sekitar 34°C dan sperma tidak berkembang pada suhu 37°C. Sel sperma membentuk bagian utama dari sekresi, ekskresi testis dan testosteron (Mescher, 2016). Pada laki-laki dewasa dapat memproduksi sperma per testis sebanyak 45,5 x 10⁶ /mL semen per hari dan memiliki tebal tubulus seminiferus 262 \pm 9 μ m. Sedangkan pada tikus jantan memproduksi sperma per testis

sebesar $35,4 \times 10^6$ mL semen per hari namun tubulus seminiferus tikus jantan lebih tebal yaitu 347 ± 5 μm (Ilyas, 2007).

2.5.4 Hormon pada Reproduksi Jantan

Pada spermatogenesis perkembangan spermatozoa di dorong oleh beberapa hormon seperti testosteron, hormon *Lutining Hormone* (LH), hormon *Follicel Stimulating Hormone* (FSH) dan hormon *Gonadotropin Hipofisis* (GnRH).

Hormon-hormon sebagai pengendali spermatogenesis yaitu:

1. Hormon testosteron adalah hormon yang disekresikan dari sel interstial atau sel leydig, berfungsi membantu perkembangan seks sekunder jantan, meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan genetalia jantan, meningkatkan ketebalan tekstur kulit dan mengakibatkan kulit menjadi gelap dan kasar. Testosteron memiliki peran pada pertumbuhan dan pembelahan sel spermatogenik di testis
2. GnRH mempengaruhi sel leydig untuk mensintesis testosteron
3. FSH merangsang sel sertoli pada spermiogenesis di tubulus, mengubah spermatid menjadi sperma dimana testosteron dipekatkan oleh FSH pada tahap spermiogenesis
4. LH merangsang sel interstial atau sel Leydig untuk mensekresikan testosteron. Hormon LH disekresi dari kelenjar hipofisis anterior, mempertahankan spermatozoa setelah hipofisektomi
5. Androgen merangsang sel sertoli untuk pematangan spermatozoa. Androgen dan FSH mempertahankan fungsi dari gametogenik testis (Mescher, 2016; Barret *et al*, 2012).

2.6 Radikal Bebas dan Antioksidan

Menurut Halliwell (1999) mengatakan bahwa radikal bebas merupakan molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tak berpasangan di orbit paling luar dan dapat berdiri sendiri. Oksidan atau radikal bebas dihasilkan dari enzim oksidase. *Reactive Oxygene Species* (ROS) dalam tubuh dibentuk pada saat pembentukan energi yang terbentuk dan disebabkan adanya pencemaran

lingkungan. Salah satu sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogenus) beberapa diantaranya seperti asap rokok, radiasi, sinar UV dan hasil pemanggangan. Asap rokok dari perokok aktif bergabung dengan udara dan gas karbon monoksida memperoleh agen radikal berbentuk karbon (O_2CCI_3) yang membahayakan rokok pasif. Radikal bebas ini dapat merusak membran sel. Hidroksil (-OH), superoksida (SO), ion superoksida (O^{2-}), peroksil (OOH) dan nitrogen oksida (NOx) merupakan senyawa-senyawa yang bersifat radikal bebas (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas memiliki fungsi membunuh bakteri, menghadang radang, dan mengarahkan tonus otot polos didalam pembuluh darah ataupun organ. Namun apabila berlebih jumlahnya maka akan berbahaya (Irianti *et al*, 2018). Stres oksidatif menyebabkan kerusakan jaringan secara biokimiawi (nekrosis) dan hampir semua patofisiologi penyebabnya adalah radikal bebas. Proses fisiologis dari timbulnya radikal bebas di dalam tubuh diimbangi oleh mekanisme pertahanan dari dalam tubuh dengan antioksidan sebagai anti radikal (Yuslianti, 2018).

Agen toksik dan bersifat iritatif dapat meningkatkan stres oksidatif dan efek yang ditimbulkan jika menumpuk dalam jangka lama dapat merusak sel kemudian terjadi kerusakan jaringan dan organ hingga kematian. Struktur kompleks protein dan berbagai gugus fungsi radikal bebas yang dapat teroksidasi dari asam amino menjadikan radikal bebas target utama untuk interaksi dengan oksidan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam sel hidup dapat menyebabkan kerusakan rantai asil dalam membran, juga pada DNA dan protein. Radikal bebas yang dihasilkan selama respirasi dan metabolisme sel dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada makromolekul biologis (Sen *et al*, 2000).

Antioksidan bekerja dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga aktivitas oksidan terhambat (Winarsi, 2007). Dalam bidang teknologi makanan, antioksidan merupakan penghambat peroksidasi lipid dalam makanan sehingga sering didefenisikan sebagai antioksidan sebagai penghambat yang baik untuk pembetulan peroksidasi lipid (Halliwell & Guttridge, 2015). Antioksidan dibagi dua berdasarkan aktivitas kerjanya yaitu antioksidan non enzimatis dan antioksidan enzimatis. Antioksidan enzimatis

merupakan antioksidan yang terdapat di dalam tubuh seperti *Superoksida dismutase* (SOD), *Glutation peroksidase* (GPx) dan katalase. Antioksidan non enzimatis adalah antioksidan yang terdapat dalam sayuran dan buah-buahan yang terdiri dari senyawa fenol, flavonoid, isoflavon, vitamin C, katekin dan beta karoten (Winarsi, 2007).

Metabolit sekunder yang bertanggung jawab secara farmakologis terdiri dari beberapa golongan yaitu golongan fenolik, golongan flavonoid, golongan saponin, golongan tanin, golongan minyak atsiri, serta golongan steroid dan alkaloid (hanya beberapa genus). Golongan terpenoid dan turunannya seperti *seskuiterpen* yang terdapat pada *Zingiberaceae* berfungsi menghambat kanker, menurunkan gula darah serta bersifat antidiabetes. Golongan alkaloid memiliki efek kuat dan efek lemah. Senyawa alkaloid berefek kuat berpotensi bersifat racun, menghadang dan menstimulan berbagai protein fungsional. Alkaloid lemah yang terdapat di teh dan kopi berfungsi sebagai zat rekresional atau obat psikotropika. Terpenoid juga terdapat diberbagai macam aroma dan parfum. Golongan saponin juga berdistribusi pada beberapa spesies, namun senyawa yang berdistribusi sangat luas pada berbagai spesies tanaman adalah flavonoid (Saifuddi, 2014). Flavonoid merupakan kelompok antioksidan penting untuk tubuh manusia. Terdapat 13 kelas senyawa flavonoid dengan lebih dari 4000 senyawa ditemukan hingga tahun 1990. Berdasarkan struktur kimia flavonoid terbagi menjadi *flavonols*, *flavones*, *flavanones*, *flavanol*, *isoflavon*, dan *antosianidi* (David *et al*, 2016).

Fenol adalah senyawa apa pun yang mengandung gugus -OH yang terikat pada cincin benzen. Monofenol memiliki satu gugus -OH aromatik, difenol dua, dan polifenol lebih dari dua. Tumbuhan mengandung sejumlah besar fenol, termasuk tokoferol dan tokotrienol (monofenol). Hampir semua fenol memberikan tingkat aktivitas antioksidan dalam suatu pengujian atau lainnya secara *in vitro* sering menghambat peroksidasi lipid dengan bertindak sebagai penghasil radikal peroksil yang menghentikan reaksi berantai. Banyak polifenol tanaman adalah antioksidan yang sangat baik ketika diuji secara *in vitro*. Sebagian besar perhatian telah diberikan pada flavonoid seperti *quercetin*, yang ditemukan dalam bawang merah, anggur, teh, dan banyak produk tanaman lainnya. Jumlah gugus fenolik -

OH dan posisi relatifnya merupakan penentu utama aktivitas antioksidan secara *in vitro* (Halliwell and Guttridge, 2015).

2.7 Rokok

2.7.1 Pengertian Rokok dan Kandungan Rokok

Di Indonesia, jumlah perokok laki-laki terdata 942 juta orang dan perokok perempuan sebanyak 175 juta orang pada usia 15 tahun. Dari data menunjukkan prevalensi merokok di kalangan muda dari umur 10-18 tahun meningkat sebesar 1,9%. Pada tahun 2013 menunjukkan persentase merokok dikalangan muda sebesar 7,20% sedangkan 2018 sebesar 9,10%. Angka persentase tersebut jauh melampaui batas yang ditentukan Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) 2019 dengan angka 5,4% (Riskesda, 2018).

Rokok berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 109 tahun 2012 tentang Pengamanan Bahan Yang Mengandung Zat Adiktif Berupa Tembakau Bagi Kesehatan, diartikan sebagai salah satu produk tembakau yang dimaksudkan untuk dibakar dan dihisap dan atau dihirup asapnya, termasuk rokok kretek, rokok cerutu, rokok putih dan bentuk lainnya yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica* dan spesies lainnya atau sintesis yang asapnya mengandung bahan nikotin dan tar, dengan atau tanpa bahan tambahan (Kemenkes RI, 2013).

Tembakau (*Nicotiana tabacum*) dan *Nicotiana rustica* adalah daun kering dari tanaman yang dibudidayakan penduduk asli Amerika Utara dan Selatan yang merupakan tanaman anggota famili Solanaceae. Berbagai macam tanaman, semua berasal dari Amerika Utara, baik dikombinasikan dengan tembakau atau mengandung zat seperti nikotin, tetapi hanya dua yang dibudidayakan secara luas adalah *Nicotiana tabacum* (tembakau biasa) dan *Nicotiana rustica* (tembakau *aztec*) (Koob *et al*, 2014).

Menurut Herawati (2010) & Koob *et al* (2014) bahwa kandungan utama rokok adalah sebagai berikut:

1. Nikotin yang terdapat dalam rokok adalah zat adiksi (ketagihan) yang memacu produksi adrenalin sehingga dapat melemahkan kecerdasan otak, mempercepat denyut jantung hingga serangan jantung koroner.

2. Karbon Monoksida (CO) dan hemoglobin berikatan dengan oksigen yang sangat penting untuk pernapasan sel-sel tubuh, tapi karena gas CO lebih kuat daripada oksigen, maka gas CO ini merebut tempat hemoglobin. Sehingga hemoglobin bergandengan dengan gas CO. Kadar gas CO dalam darah bukan perokok kurang dari 1%, sementara dalam darah perokok mencapai 4-15%.
3. Tar adalah istilah umum untuk segala yang tersisa setelah uap air dan nikotin dikeluarkan dari tembakau dan sebagian besar terdiri dari hidrokarbon aromatik (*Polynuclear Aromatic Hydrogen*) banyak di antaranya adalah karsinogen. Kadar tar dalam rokok berkisar 24-45 mg.
4. Timah hitam yang dihasilkan oleh sebatang rokok sebanyak 0,5 µg. Sebungkus rokok (isi 20 batang) habis dihisap dalam sehari akan menghasilkan lebih dari 10 µg. Sementara ambang batas bahaya timah hitam yang masuk ke dalam tubuh adalah 20 µg per hari.

Bagian paling terkenal yang menyebabkan sifat psikofarmakologis akut dari tembakau adalah nikotin, dan ini telah ditemukan sebagai komponen utama dalam asap tembakau yang bertanggung jawab atas kecanduan nikotin. Dosis mematikan untuk orang dewasa adalah 30-60 mg atau setara dengan menelan lima batang rokok atau 10 ml larutan encer yang mengandung nikotin. Dosis yang jauh lebih kecil dari nilai yang ditentukan untuk hewan coba laboratorium seperti pada mencit mulai dari 3,3 sampai lebih dari 50 mg/kg pada tikus (Hayes, 1982). Namun Mayer (2014) menyatakan pendapat sebelumnya tidak dapat dibenarkan dan perlu direvisi mengingat banyaknya data yang menunjukkan bahwa lebih dari 0,5 g nikotin oral dibutuhkan untuk membunuh orang dewasa.

2.7.2 Perokok Pasif dan Efek Asap Rokok

Perokok pasif (*Second Hand Smoke*) telah diartikan sebagai "kombinasi asap yang dikeluarkan dari ujung rokok atau produk tembakau lainnya dan asap yang dihembuskan oleh perokok" (WHO, 2007). Terdapat dua jenis SHS yang diidentifikasi yaitu asap *mainstream* dan asap *sidestream*. Asap *mainstream* adalah

asap yang dikeluarkan dari paru-paru perokok dan asap *sidestream* adalah asap dari ujung pembakaran produk tembakau (Nicogossian *et al*, 2016).

Berdasarkan data dari *Tobacco Atlas edisi ke-6* prevalensi paparan asap rokok di Indonesia, lebih dari 80% orang terpapar asap rokok restoran, 78% orang terpapar asap rokok rumah dan 45% terkena paparan asap rokok saat bekerja. Bukti bahwa jejak asap rokok tetap di udara, debu, dan permukaan dinding perumahan yang dapat berbahaya terutama bagi anak-anak. Orang yang tidak merokok tinggal di rumah yang sebelumnya ditempati oleh perokok telah menunjukkan peningkatan kadar nikotin di tangan dan di urin dibandingkan dengan mereka yang tinggal di rumah bukan perokok (Matt *et al*, 2011).

Paparan asap bagi perokok pasif dikaitkan dengan banyak efek kesehatan yang merugikan, di antaranya anak-anak dan bayi yang belum lahir, menyebabkan kematian dan morbiditas yang substansial secara global. Pada tahun 2016 saja, misalnya, paparan asap rokok menyebabkan sekitar 884.000 kematian. 6,4 juta per tahun kematian dini disebabkan perokok pasif yang mengakibatkan terjadinya infeksi saluran pernapasan bawah, 2,5 juta untuk penyakit paru obstruktif kronis dan lebih dari 200.000 untuk penyakit infeksi telinga tengah (otitis) (Drop *et al*, 2018).

Asap tembakau tidak hanya mengandung nikotin tetapi juga karbon monoksida (CO) dan tar. Asap rokok yang dihembuskan perokok aktif bercampur udara dan gas nafas buangan akan memproduksi agen-agen radikal bebas yang lebih berbahaya seperti radikal peroksil, nitri oksida dan radikal karbon (O_2CCI_3) yang membahayakan perokok pasif (Yuslianti, 2018). Peran partikulat dalam asap seperti hidrokarbon aromatik polisiklik, yakni hasil pembakaran tidak sempurna bahan yang mengandung karbon merupakan partikel yang bersifat karsinogenik (Fleming *et al*, 2012).

Laki-laki perokok memiliki Indeks Masa Tubuh (IMT) yang buruk sebesar 90,9% dibandingkan bukan perokok (16,2%). Kandungan nikotin yang terdapat dalam rokok merupakan zat yang dapat menahan selera makan (Ilfandari *et al*, 2015). Asap rokok yang diberikan pada hewan coba mengalami hal serupa dimana menurut Rahma *et al*, (2019) menyatakan bahwa terjadi penurunan berat badan

sebesar 14,3 % dari 32% pada tikus galur wistar jantan yang diberi paparan asap rokok 2 batang per hari selama 30 hari.

Ulil albab *et al* (2015), menyatakan bahwa asap rokok dapat menaikkan serum manolaldehide dalam tubuh sebagai tanda meningkatnya stres oksidatif dari radikal bebas. Apabila radikal bebas berada dalam tubuh akan menjadi berbahaya dengan merusak sel dan pertumbuhan sel tidak dapat dikendalikan karena ia memiliki sifat menarik dan menyerang elektron yang berada disekitarnya sehingga dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal dalam tubuh (Irianti *et al*, 2018).

Senyawa yang terdapat di dalam tembakau adalah *nitrosamine keton* (NNK) turunan senyawa dari nikotin sebagai bahan karsinogenik utama dari asap rokok mempengaruhi reaksi stres oksidatif sehingga radikal bebas menurunkan biomarker disfungsi mitokondria memproduksi ATP. Disfungsi mitokondria yang berubah berkaitan dengan penyakit manusia yang serius dan kronis serta mempengaruhi diferensiasi, pertumbuhan, apoptosis dan ekspresi gen inti yang terlibat dalam metabolisme (Wu *et al*, 2019).

Berdasarkan Qardhawi (1995), hukum rokok sudah tidak diragukan lagi karena rokok merusak badan dan harta serta memperbudak kemauan manusia. Islam mengatakan:

لَا ضَرَرَ وَلَا ضِرَارَ

“Tidak boleh memberi bahaya kepada diri sendiri dan tidak boleh memberi bahaya kepada orang lain.” (HR Ahmad dan Ibnu Majah dari Ibnu Abbas dan Ubadah).

Rokok bisa menjadikan pikiran kacau, menghilangkan pertimbangan akal, menjadikan nafas sesak, dapat teracuni (membunuh perlahan) serta rokok membuat tubuh menjadi lemah.

وَلَا تَقْتُلُوا أَنْفُسَكُمْ إِنَّ اللَّهَ كَانَ بِكُمْ رَحِيمًا

“Dan janganlah kamu membunuh dirimu. Sungguh Allah Maha Penyayang kepadamu“. (QS. An Nisaa: 29).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 – Februari 2021. Penelitian ini dilakukan di tiga lokasi yaitu Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan sebagai tempat pemeliharaan hewan coba serta perlakuan pada hewan coba, Laboratorium Farmasi USU sebagai tempat *rotary* ekstrak bunga kecombrang dan Laboratorium Patologi Balai Veteriner Medan sebagai tempat pembuatan preparat histologi tubulus seminiferus tikus putih.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: kandang modifikasi, selang, korek api, *air pump*, *rotary evaporator*, sonde, timbangan digital, alat bedah (*dissecting set*), bak parafin, cawan petri, kertas saring, kertas label, gelas ukur, spatula, mikroskop, gelas objek, *cover glass*, *staining jar*, *embedding cassette*, mikrotom, oven, blender, spuit, botol organ, botol kaca, aplikasi *ImageJ*, alat tulis dan alat dokumentasi.

3.2.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) galur wistar, bunga kecombrang (*Etilingera elatior* J.), rokok kretek, etanol 70%, aquades, *neutral buffered formalin* 10%, nacl 0,9%, alkohol bertingkat 80-95%, xylol I dan xylol II, parafin cair, entelan, pewarna Hematoxylin & Eosin.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena unit eksperimen dianggap

homogen dan perlakuan dilakukan secara acak. Penelitian ini dilakukan dengan 5 macam kelompok perlakuan dengan 5 kali perulangan.

Adapun rancangan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol positif (K+): Kelompok tikus yang tidak diberi paparan asap rokok dan hanya diberi aquadest dan pakan
2. Kelompok kontrol negatif (K-): Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dan diberi aquadest dan pakan
3. Kelompok Perlakuan 1 (P1): Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok 3 batang per hari selama 30 hari dan diberi ekstrak bunga kecombrang dengan dosis 30 mg/kg BB per hari
4. Kelompok Perlakuan 2 (P2): Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok 3 batang per hari selama 30 hari dan diberi ekstrak bunga kecombrang dengan dosis 60 mg/kg BB per hari
5. Kelompok Perlakuan 3 (P3): Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok 3 batang per hari selama 30 hari dan diberi ekstrak bunga kecombrang dengan dosis 90 mg/kg BB per hari.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur wistar jantan dengan berat badan 250-300 gram, berusia 3-4 bulan, dan berjumlah 25 ekor. Tikus didapatkan dari *Animal house* kemudian tikus dimasukkan ke dalam kandang sesuai kandang *Animal House*. Kandang yang digunakan dibersihkan terlebih dahulu dan diberi sekam secukupnya kemudian dibuatkan tempat makan dan minum tikus. Kandang diletakkan di tempat yang mempunyai penyinaran dan sirkulasi udara yang baik serta aman dari gangguan dan kebisingan. Tikus diaklimatisasi selama satu minggu guna mengurangi efek stres berada di lingkungan baru sehingga proses metabolisme tikus tidak terganggu (Sukmaningsih, 2009). Tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan tiga kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 5 ekor untuk setiap kelompok. Pengelompokan dilakukan bertujuan melihat perbedaan dari hasil perlakuan yang

berbeda. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus dalam keadaan sehat (bobot normal dan bulu tidak rontok). Selama diaklimatisasi tikus diberi pakan secara *ad libitum*.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Bunga Kecombrang

Bunga kecombrang didapatkan dari pasar Sei Kambing Medan. Bunga dipisahkan dari batang yang masih tersisa. Bunga dicuci bersih kemudian dirajang lalu ditimbang dan dikeringkan dengan cara dijemur tanpa sinar matahari sampai kering lalu ditimbang kembali. Setelah kering, bunga kecombrang dihaluskan dengan cara ditumbuk lalu diayak untuk mendapatkan serbuk simplisia (Ayuningtyas, 2018). Kemudian simplisia dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol digunakan karena dapat menarik lebih banyak senyawa-senyawa bersifat polar, semipolar dan non polar serta dapat menembus membran sel untuk menarik senyawa-senyawa yang terkandung didalam simplisia (Suwarni *et al*, 2016). Hasil filtratnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut etanol 70% sehingga menghasilkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat diambil 1 gr lalu dilarutkan dalam 100 ml larutan CMC Na 1%. CMC Na 1% terlebih dahulu dilarutkan dalam 100 ml aquadest.

3.4.3 Pemaparan Asap Rokok

Terlebih dahulu tikus ditimbang berat badannya. Rokok yang digunakan berjenis kretek merek X dengan kadar nikotin 2,3 mg berjumlah 3 batang per kandang dan diberi selama 30 hari (Omotoso *et al*, 2017) dan rokok dipaparkan pada tiap pagi hari. Pemaparan dilakukan dengan kandang modifikasi berukuran 50x40x20 cm. Pada sisi samping kandang dibuatkan 1 lubang dan direkatkan dengan selang kecil untuk lajur asap rokok, pada atas kandang dibuat sirkulasi udara namun sebagian ditutup. Supaya rokok tetap menyala, selang asap dihubungkan dengan *airpump* menggunakan arus listrik dan dipasangkan 1 selang yang sudah disesuaikan dengan diameter rokok untuk memasukkan 1 batang rokok lalu rokok dibakar.

3.4.4 Penetapan Dosis dan Pemberian Ekstrak Bunga Kecombrang

Dosis ekstrak bunga kecombrang yang diberikan adalah sebesar 30mg/kg BB, 60mg/kg BB dan 90 mg/kg BB. Perhitungan dosis diberikan sesuai dengan bobot tubuh tikus yang digunakan adalah sebesar 250-300 gr. Ekstrak 1 gr dari kecombrang dilarutkan dalam 100 ml CMC Na 1%. Ekstrak bunga kecombrang yang sudah dibuat, kemudian diberikan secara oral dengan menggunakan sonde kepada tikus dan diberikan setiap hari selama 30 hari setelah paparan asap rokok. Tikus tetap diberi pakan secara *ad libitum* setiap hari.

3.4.5 Pembedahan Hewan

Pada hari ke-31, tikus diterminasi diakhir perlakuan dengan cara *cervical dislocation*. Dengan meletakkan ibu jari dan ibu telunjuk di setiap sisi leher pada dasar tengkorak guna memberi tekanan pada bagian posterior dasar tulang tengkorak dan sumsum tulang belakang, sedangkan tangan lainnya pada bagian ekor ditarik dengan cepat sehingga terjadi pemisahan vertebrata cervical dari tengkorak. Setelah terminasi, hewan uji dikubur didalam tanah dengan kedalaman 50-70cm. Setelah dibedah kemudian organ testis sebelah kanan saja yang diambil untuk keseragaman (Amaliyah, 2019). Organ dicuci dengan NaCl 0,9%, ditiriskan. Testis dipotong setebal $\pm 0,05$ cm kemudian dimasukkan testis kedalam botol organ yang berisi BNF 10%.

3.4.6 Pembuatan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus

Dari masing-masing tikus tiap kelompok perlakuan diambil satu testis kemudian dipilih tubulus seminiferus yang sesuai kriteria. Pembuatan preparat histologi tubulus seminiferus berdasarkan Hanif (2019) sebagai berikut:

1. Fiksasi

Organ testis difiksasi dalam larutan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10% maksimal selama 3 hari. Kemudian dibersihkan dengan air sebanyak 3-5 kali.

2. *Trimming*

Organ testis yang terfiksasi selanjutnya dilakukan trimming setebal ± 3 mm kemudian potongan dimasukkan dalam *embedding cassette*.

3. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan untuk menarik air dari *tissue cassette* dan mencegah terjadinya pengerutan sampel. Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam larutan alkohol dengan urutan alkohol 1,2,3,4,5,6,7 kemudian *xylene* 1,2,3 masing-masing dilakukan 1 jam. Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis yaitu *automatic tissue processor*.

4. *Clearing*

Proses *clearing* atau penjernihan dilakukan 2 tahap dengan menggunakan *xylene* dan alkohol, masing-masing selama 1 jam. Larutan *xylol* berfungsi untuk melarutkan alkohol dan parafin.

5. Impregnasi

Impregnasi adalah proses pengisian ke dalam pori-pori jaringan. Pengisian pori-pori jaringan ini dimaksudkan untuk mengeraskan jaringan agar mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin selama 2 jam dalam oven suhu 65°C . Parafin yang digunakan adalah parafin histoplast.

6. *Embedding* dan *Blocking*

Embedding atau *blocking* dilakukan dengan cara parafin cair disiapkan dengan memasukkan parafin kedalam cangkir organ dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58°C . Parafin cair dituangkan kedalam pan. Dipindahkan satu persatu dari *embedding cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Pan dimasukkan ke dalam air. Kemudian parafin yang berisi potongan testis dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu $4-6^{\circ}\text{C}$ beberapa saat. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan *scalpel* atau pisau hangat. Potongan parafin diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya, dan dibuat ujungnya sedikit meruncing. Setelah itu memblok parafin, siap dipotong dengan mikrotom.

7. *Sectioning*

Proses pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-4 μm . Pemotongan dilakukan dengan alat *rotary microtome spencer*. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya. Lembaran jaringan dipindahkan kedalam water bath suhu 45°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Kemudian lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan ditempatkan ditengah selanjutnya sediaan dikeringkan dalam suhu ruang.

8. Pewarnaan dan *Mounting*

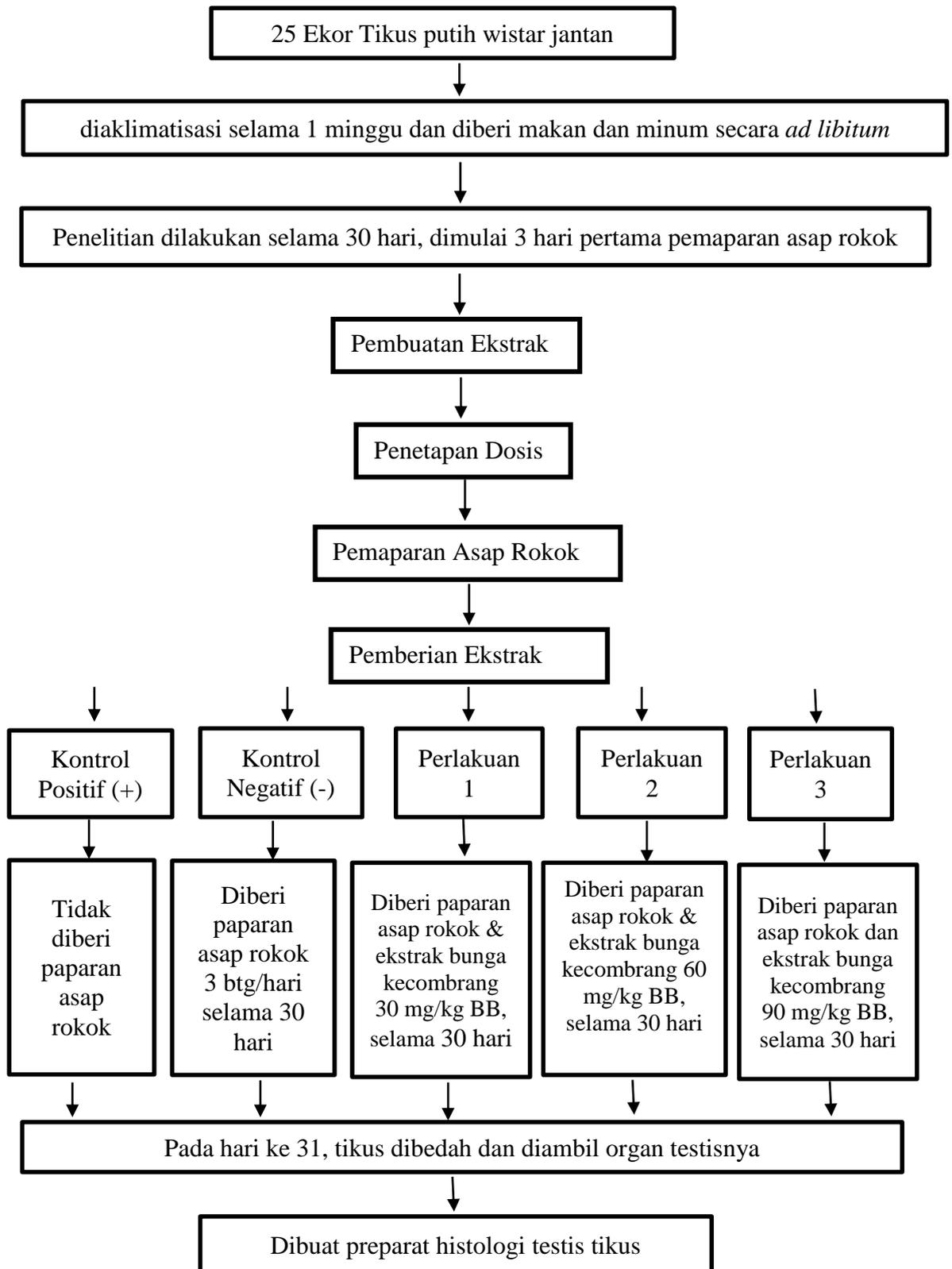
Sediaan diwarnai dengan pewarna *Mayer's Hematoxyllin* dengan tahapan yakni, preparat direndam dalam larutan *Mayer's Hematoxyllin* selama 6 menit. Dicuci dengan air mengalir (air kran) selama 10 detik. Preparat direndam dalam larutan *eosin* selama 4 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 detik. Preparat dicelupkan ke dalam larutan alkohol absolut 1,2,3 dan terakhir xylol 1,2,3. *Mounting* dilakukan setelah tahapan pewarnaan, sediaan ditetesi dengan bahan *mounting* yaitu entelan dan ditutup dengan cover glass.

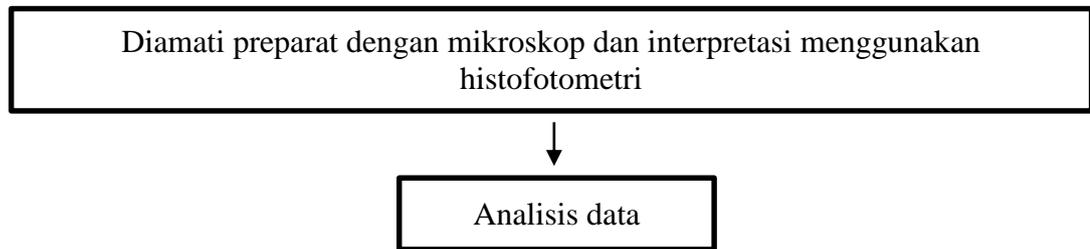
3.4.7 Pembacaan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus

Pengamatan preparat histologi testis dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah sel dan diameter yang rusak akibat paparan asap rokok serta sel sel yang diperbaiki oleh ekstrak bunga kecombrang pada tubulus seminiferus tikus dibaca dengan aplikasi *ImageJ*, sel yang dipilih adalah yang dianggap bulat dan dipilih secara acak, lalu diamati struktur susunan spermatogonia dan kepadatan lumen tubulus seminiferus kemudian dirata-ratakan. Pengamatan sel spermatosit primer dilakukan dengan perbesaran 400x lalu dibagi 3 lapang pandang dan tiap lapang pandang dipilih tubulus seminiferus yang sesuai lalu dihitung sel spermatosit primer yaitu yang memiliki inti yang besar dan gelap, kromatin seperti benang-benang panjang dan dirata-ratakan. Setiap 1 sampel tubulus diambil secara acak dari tiap kelompok.

3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS 23. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk* dengan distribusi normal $p > 0,05$. Dilanjutkan pengujian homogenitas dengan uji *Levene* dengan nilai $p > 0,05$ bertujuan untuk mengetahui keseragaman. Jika penilaian berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji statistik *One Way Anova* (Analysis of Variance) untuk mengetahui perbedaan rata-rata kelompok kontrol dan kelompok normal $p < 0,05$. Pengujian terakhir dilakukan dengan uji *Duncan/DMRT* guna melihat adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan.

ALUR PENELITIAN



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada ekstrak bunga kecombrang dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil skrining fitokimia ekstrak bunga kecombrang (*Etlintera elatior* J.)

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1	Alkaloid	Bouchardart	+
		Maeyer	-
		Dragondroff	+
		Wagner	+
2	Steroida dan Triterpenoid	Salkowsky	+
		Lieberman-Burchad	-
3	Saponin	Aquadest+Alkohol 96%	+
4	Flavonoid	FeCl ₃ 5%	+
		Mg _(s) + HCl _(p)	+
		NaOH 10%	+
		H ₂ SO _{4(p)}	-
5	Tanin	FeCl ₃ 1%	+
6	Glikosida	Mollish	-

Keterangan : (-): Tidak Terdeteksi Senyawa Metabolit Sekunder
(+): Terdeteksi Senyawa Metabolit Sekunder.

Berdasarkan tabel 4.1 hasil skrining fitokimia diperoleh bahwa ekstrak bunga kecombrang adalah positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, steroid, saponin, flavonoid dan tanin. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Lestari *et al* (2018), menyatakan bahwa ekstrak bunga kecombrang mengandung senyawa metabolit sekunder yang sama. Reaksi positif pada senyawa golongan alkaloid apabila adanya endapan jingga pada salah satu tabung pereaksi yaitu *Dragondroff* (Wardani, 2020) dan larutan berwarna coklat hitam pada

Bouchardart dan *Wagner* (Sangi dkk, 2008). Pada tanaman, alkaloid memiliki fungsi sebagai proteksi dari hama dan musuh, selain itu berpotensi menjadi sumber obat karena dapat berinteraksi dengan membran sel dan termasuk zat kimia yang bersifat semi polar (Saifuddin, 2014).

Senyawa golongan terpenoid berfungsi sebagai penarik racun (Saifuddin, 2014). Uji steroid dan triterpenoid dikatakan positif dengan pereaksi *Salkowsky* apabila terdapat merah kecokelatan dan triterpenoid berwarna merah ungu setelah disemprot pereaksi *Lieberman-Burchard*. Senyawa saponin dikatakan positif apabila terdapat busa setelah diaduk kuat dengan aquadest+alkohol 96%. Saponin sebagai bahan aktif pada tanaman dapat menimbulkan efek farmakologi terhadap mamalia (Kosala, 2015).

Uji flavonoid dikatakan positif jika terdapat warna merah muda/jingga dengan $Mg+HCl$. Pada tanaman flavonoid berfungsi sebagai senyawa pewarna dan penghias (Saifuddin, 2014) serta memiliki kemampuan mempercepat proses penyembuhan sel yang rusak akibat inflamasi, dengan merusak membran sel bakteri sehingga terhambat aktivitas enzim yang diperlukan bakteri untuk hidup (Soemari *et al*, 2019). Flavonon merupakan jenis dari golongan flavonoid meningkatkan kadar NADPH dari sel mitokondria dan menurunkan kadar peroksidasi lipid sebagai indikator stres oksidatif sehingga menurunkan pembentukan ROS (Wu *et al*, 2019). Golongan fenol seperti flavonoid dan tanin sering digunakan sebagai antiseptik dan antioksidan serta dapat menetralkan senyawa beracun (Halliwell *et al*, 2015). Tanin dikatakan positif dengan menunjukkan warna biru kehitaman setelah disemprot $FeCl_3$ 1%.

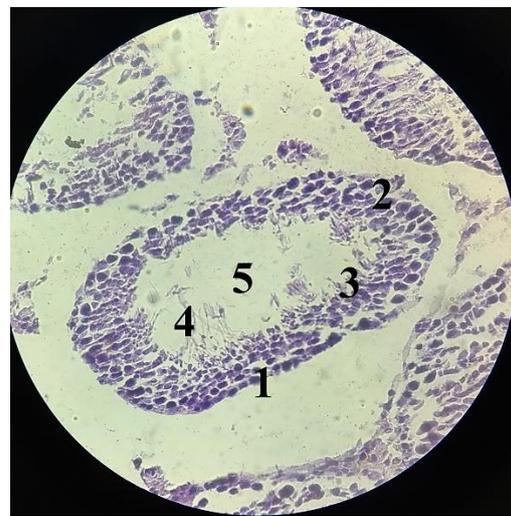
Ekstraksi yang dilakukan pada bunga kecombrang dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (Wardani, 2020). Pemilihan etanol pada ekstraksi awal simplisia karena etanol memiliki sifat semi polar. Kebanyakan metabolit sekunder bersifat semi polar menyebabkan simplisia larut dalam pelarut organik. Senyawa glikosida tidak terdeteksi karena glikosida yang mengikat satu atau lebih molekul gula pentosa bersifat polar dan metanol merupakan pelarut organik yang polar (Saifudin, 2014).

Simplisia kering yang diperoleh sebanyak 620 gr simplisia kering kemudian dilarutkan dengan etanol 70% (15 Liter). Menurut Saifuddin, (2014) menyatakan bahwa perbandingan sampel dengan pelarut adalah 1:10. Hasil akhir yang diperoleh setelah *rotary evaporator* sebesar 30.56 gr ekstrak kental sehingga rendeman yang didapatkan yaitu 4.93%.

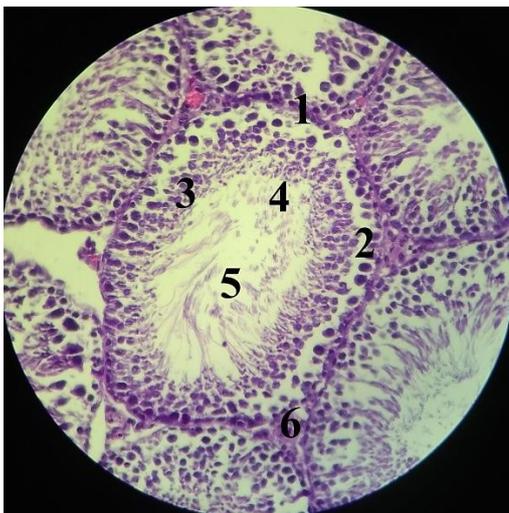
4.2 Perbandingan Histologi Tubulus Seminiferus Pada Tiap Kelompok



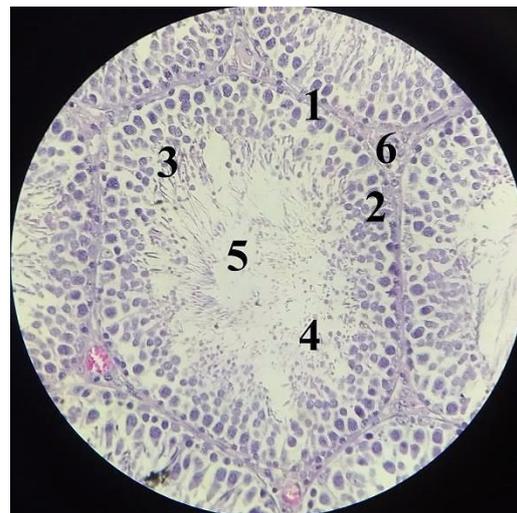
a. K+



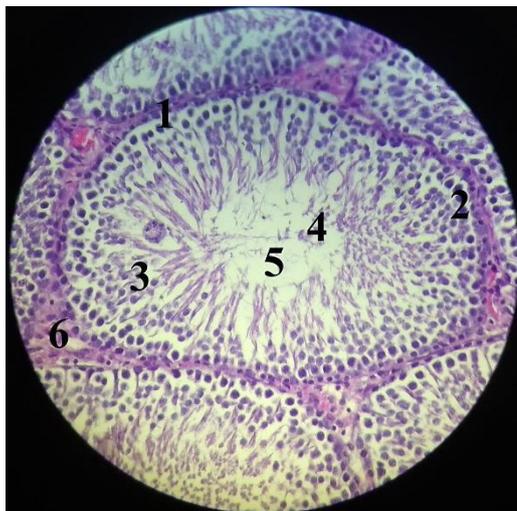
b. K-



c. P1



d. P2



e. P3

Gambar 4.1. Gambaran tubulus seminiferus pada tiap kelompok perlakuan dengan potongan melintang dan pewarnaan H&E perbesaran 400x. Ket: (1) Spermatogonia (2) Spermatosit Primer (3) Spermatid (4) Spermatozoa (5) Lumen (6) Sel Leydig

Berdasarkan gambar 4.1 penampang tubulus seminiferus dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* potongan melintang telah diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x10 menunjukkan tampilan berbeda pada tiap kelompok. Histologi tubulus seminiferus yang normal menunjukkan sel spermatogenik tersusun sesuai alurnya dimulai dari sel spermatogonium, sel spermatosit, sel spermatid dan lumen tampak terisi penuh oleh spermatozoa (Sukmaningsih, 2009). Pada kelompok K(-) terjadi kerusakan dibandingkan tubulus seminiferus tikus kelompok K (+) dan kelompok pemberian dosis. Susunan sel spermatogenik yang longgar, kapsul jaringan ikat sebagian terpisah dengan pembuluhnya sehingga tubulus seminiferus mengalami atrofi. Spermatogonium tidak berada di kompartemen basal sehingga renggang dengan sel spermatosit primer dan lumen terlihat kosong tidak berisi spermatozoa.

Partikel *Polynuclear Aromatic Hydrogen* (PAH) berasal dari tar menghambat kerja *Gonadotropin Hipofisis* (GnRH) yang menyebabkan berkurangnya rangsangan terhadap testis, selain itu juga menghambat pembentukan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan hormon *Luteinizing Hormone* (LH) di kelenjar hipofisis (Sukmaningsih, 2009). Efek dari kandungan nikotin sebagai

radikal bebas menyebabkan proses spermatogenesis terhambat serta pembentukan spermatozoa yang abnormal (Dja'afar *et al*, 2015) dan menyebabkan kerusakan pada sel (Ginting, 2016). Membran sel mengalami kerusakan karena lipid yang terdapat pada akrosom sel sperma sering mengalami reaksi dengan senyawa radikal bebas yang bersifat toksik dengan membentuk satu reaksi rantai peroksidasi lipid yang memutus rantai asam lemak (Pohan, 2014). Konsentrasi spermatozoa yang menurun akan semakin bertambah sesuai dengan bertambahnya paparan asap rokok (Batubara *et al*, 2013).

Pada kelompok perlakuan terlihat adanya perbaikan yang terjadi pada sel-sel spermatogenik disebabkan oleh ekstrak bunga kecombrang yang berperan sebagai antioksidan. Hal ini didukung oleh penelitian Haw *et al*, (2015) menyatakan bahwa dalam penelitiannya kecombrang sebagai antioksidan berpotensi baik melawan radikal bebas berdasarkan histopatologi tubulus seminiferus menunjukkan gambaran normal dengan seluler yang memadai. Semua sel dari garis keturunan spermatogenik ada. Membran basal tampak normal. Tidak ada penebalan pada membran basal. Tubulus tampak sehat dan tidak ditemukan area fibrosis. Jumlah sel sertoli dan sel leydig yang sehat berada didalam penampang tubulus seminiferus. Sel-sel spermatosit berada disebuah relung basal pada dinding epitel tubuli tepatnya di sebelah membran basal dan sangat berdekatan dengan permukaan sel sertoli (Mescher, 2016).

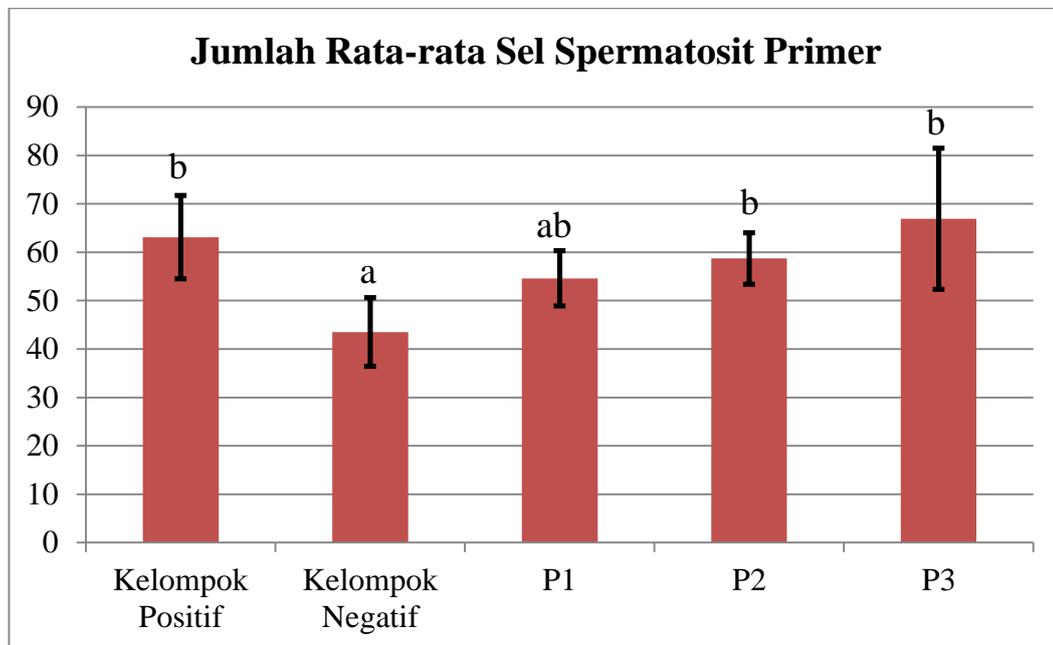
4.3 Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer

Adapun hasil pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer \pm SD Tiap Kelompok Perlakuan

Kelompok	Jumlah Spermatisit Primer \pm SD
K (+)	63,1 \pm 8,6 ^b
K (-)	43,5 \pm 7,1 ^a
P1	54,6 \pm 5,7 ^{ab}
P2	58,7 \pm 5,3 ^b
P3	66,9 \pm 14,6 ^b

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama adalah berbeda nyata ($p < 0,05$).
 K (+): Kontrol positif, K (-): diberi paparan asap rokok, P1: dosis 30 mg/kg BB, P2: dosis 60 mg/kg BB, P3: dosis 90 mg/kg BB.



Gambar 4.2 Diagram batang rata-rata sel spermatisit primer. Ket: ab: huruf yang menunjukkan berbeda signifikan ($p < 0,05$). K (+): kontrol positif, K (-): kontrol negatif, P1: dosis 30 mg/kg BB, P2: dosis 60 mg/kg BB dan P3: dosis 90 mg/kg BB

Berdasarkan tabel 4.2 diperoleh bahwa adanya perbedaan pada tiap kelompok secara signifikan. Analisis statistik *Anova* menunjukkan pada nilai $F_{tabel} \leq F_{hitung}$ ($2,8 \leq 5,057$) dan angka signifikan $p = 0,006$ ($p < 0,05$) berarti adanya pengaruh yang bermakna dari pemberian ekstrak bunga kecombrang dengan dosis 30, 60, 90 mg/kg BB terhadap jumlah rata-rata sel spermatisit primer pada tikus putih yang diberi paparan asap rokok.

Terdapat perbedaan jumlah rata-rata sel spermatisit primer tiap perlakuan. Pada hewan coba, belum ditemukan ketentuan yang menyatakan jumlah pasti sel spermatisit primer, namun pada penelitian ini jumlah rata-rata sel spermatisit pada tikus yang sehat mengacu pada K(+) adalah $66,9 \pm 14,6$. Jumlah yang diperoleh pada penelitian ini lebih besar dibandingkan penelitian Amaliyah *et al*, (2019) yaitu 49,6 dan Ginting *et al*, (2016) sebesar 33,9. Adapun kelompok negatif memiliki nilai

rata-rata terendah yaitu 43,5. Pada perbandingan kelompok P1, P2 dan P3 menunjukkan kelompok P3 memiliki nilai rata-rata yang paling tinggi sebesar 66,9 dibandingkan kelompok P1 adalah 54,6 dan P2 yaitu 58,7.

Adanya perbedaan nyata pada kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif akibat dari paparan asap rokok yang diberikan 3 batang/hari dalam kurun waktu 30 hari. Hal ini sesuai dengan pendapat He *et al*, (2016) dalam penelitiannya menyatakan bahwa asap rokok yang diberikan selama 4 minggu mengindikasikan perubahan jaringan pada testis tikus dengan menunjukkan gangguan diberbagai tahap spermatogenesis serta pengurangan jumlah total dari spermatogonium, spermatisit, spermatid, sel interstitial dan sel sertoli menjadi berkurang. Berkurangnya sel spermatisit primer menjadi hambatan pada tahap spermatogenesis karena spermatisit primer berguna membentuk spermatisit sekunder haploid untuk menjadi sel spermatozoa (Peckham, 2011).

Nilai notasi yang terdapat disebelah huruf diperoleh dari uji lanjut *Duncan*. Berdasarkan notasi masing-masing kelompok dapat dilihat bahwa kelompok negatif berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan dosis, tetapi tidak berbeda signifikan dengan kelompok P1. Kelompok P1 tidak berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan P3, artinya P1 berpengaruh terhadap spermatisit primer namun tidak sebaik dosis pada kelompok P2 dan P3 untuk memperbaiki jumlah sel spermatisit primer. Kelompok P2 dan P3 berbeda signifikan dengan kontrol negatif, tetapi tidak berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif, artinya kelompok P2 dan P3 sama-sama meningkatkan jumlah rata-rata sel spermatisit primer namun nilai P3 lebih besar daripada kelompok P2.

Pemberian ekstrak bunga kecombrang dengan dosis 90 mg/kg BB pada tikus yang diberi paparan asap rokok membuktikan bahwa sel yang rusak dapat diperbaiki oleh senyawa flavonoid yang terdapat di dalam bunga kecombrang. Flavonoid bekerja melalui sirkulasi darah dengan menaikkan laju absorpsi NO (nitrogen monoksida) serta menahan pembentukan ion *peroxynitrit* yang mengganggu sel endotel (Sen *et al*, 2000). Berdasarkan Haw *et al* (2012) menyatakan bahwa, ekstrak kecombrang meningkatkan jumlah anggota sel yang

berada di dalam tubulus seminiferus pada hewan coba yang diberi agen toksik timbal asetat.

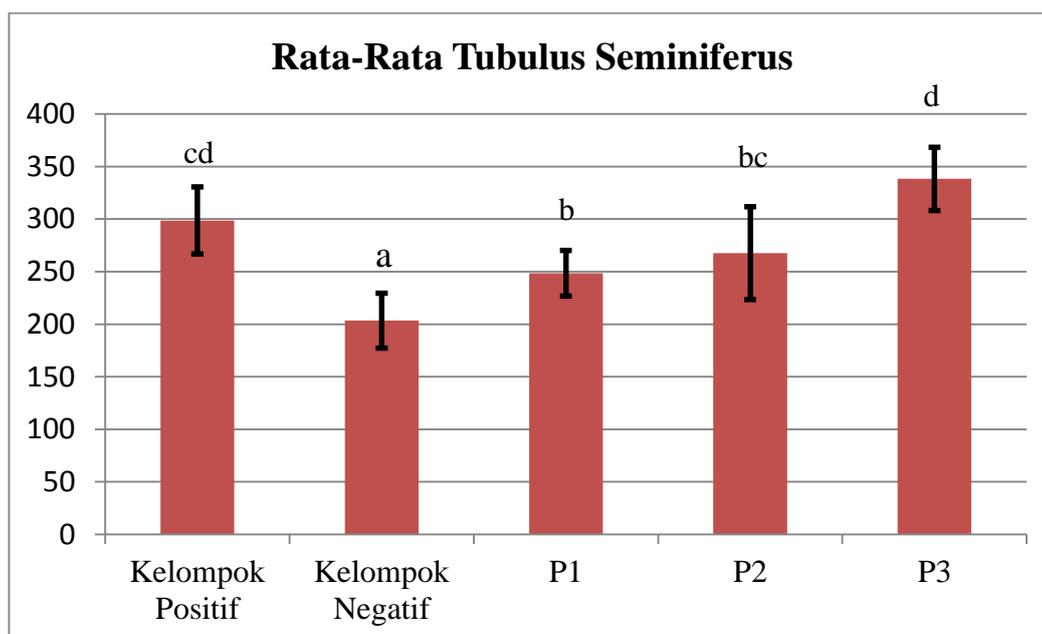
4.4 Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap diameter tubulus seminiferus pada setiap kelompok setelah 30 hari perlakuan. Diameter tubulus seminiferus pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 4.3 Diameter Tubulus Seminefrus \pm SD Tiap Kelompok Perlakuan

Kelompok	Diameter Tubulus Seminiferus \pm SD
K+	298,7 \pm 31,8 ^{cd}
K-	203,4 \pm 26,1 ^a
P1	248,4 \pm 21,8 ^b
P2	267,6 \pm 44,2 ^{bc}
P3	338,3 \pm 30,1 ^d

Keterangan: ab: huruf yang menunjukkan berbeda signifikan ($p < 0,05$). K (+): Kontrol positif, K (-): diberi paparan asap rokok, P1: dosis 30 mg/kg BB, P2: dosis 60 mg/kg BB, P3: dosis 90 mg/kg BB



Gambar 4.3 Diagram diameter tubulus seminiferus. Ket: ab: huruf yang menunjukkan berbeda signifikan ($p < 0,05$). K (+): kontrol positif, K (-): kontrol negatif, P1: dosis 30 mg/kg BB, P2: dosis 60 mg/kg BB dan P3: dosis 90 mg/kg BB

Berdasarkan tabel 4.3 diperoleh hasil perbedaan angka diameter tubulus seminiferus pada masing-masing kelompok adalah signifikan. Hasil analisis statistik uji *Anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu $p < 0,000$ ($p < 0,05$). Berdasarkan $F_{tabel} \leq F_{hitung}$ ($2,8 \leq 7,369$) menyatakan adanya pengaruh yang bermakna dari pemberian ekstrak pada masing-masing kelompok.

Pada penelitian ini diameter tubulus seminiferus pada tikus sehat adalah 298,7 μm dimana angka tersebut lebih besar dari hasil penelitian Fairudillah dan Nugrahalia, (2018) yaitu 289 μm dan Dewi (2016) menyatakan bahwa diameter tubulus seminiferus pada kelompok tikus yang tidak diberi paparan asap rokok yaitu 183,9 μm . Menurut Kuehnel (2003), tubulus seminiferus berdiameter 180-330 μm yang melingkar di lobuli testis. Diameter paling kecil terdapat pada kelompok K(-) dengan angka 203,4 μm . Penurunan yang terjadi pada diameter tubulus seminiferus setelah diberi paparan asap rokok diduga karena stres oksidatif menghambat sekresi *Luteinizing Hormone* (LH) yang berguna merangsang perkembangan sel interstitial untuk mensekresi hormon testosteron sehingga kadar testosteron berkurang dan menyebabkan atrofi tubulus seminiferus sehingga diameter tubulus seminiferus mengecil (Fairudillah dan Nugrahalia, 2018). Nikotin memicu medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang mempengaruhi sistem saraf pusat, menyebabkan mekanisme umpan balik antara hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga spermatogenesis menjadi terganggu (Anita, 2004).

Pemberian dosis ekstrak bunga kecombrang pada tikus yang diberi paparan asap rokok mampu meningkatkan diameter tubulus seminiferus dilihat pada kelompok P1 yaitu 248,4 μm , P2 sebesar 267,6 μm dan P3 adalah 338,3 μm . Berdasarkan notasi masing-masing kelompok dapat dilihat bahwa kontrol negatif berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan. Kelompok P1 dan P2 tidak berbeda signifikan namun memiliki mekanisme yang hampir sama dengan P2 dalam perbaikan diameter tubulus seminiferus. Kelompok P3 berbeda signifikan dengan kelompok P1, P2 serta memiliki nilai yang paling tinggi dari kelompok

pemberian dosis. Kelompok P3 berbeda signifikan dengan kelompok negatif dan nilai notasinya mendekati kelompok positif, artinya dosis 30,60,90 mg/kg BB dari ekstrak bunga kecombrang dapat memperbaiki diameter tubulus seminiferus tetapi dosis 90 mg/kg BB adalah dosis menunjukkan nilai tertinggi terhadap perbaikan diameter tubulus seminiferus tikus yang diberi paparan asap rokok. Pemberian dosis 90 mg/kg BB memiliki kemampuan memperbaiki atrofi tubulus akibat radikal asap rokok yang sebanding dengan kelompok kontrol positif dan lumen terisi penuh oleh spermatozoa (Muftiana *et al*, 2015).

Dalam asap rokok terdapat lebih dari 4000 bahan kimia yang dikenali banyak bersifat radioaktif seperti tar yang merupakan cairan cokelat yang lengket sisa dari rokok yang dibakar (Crofton *et al*, 2002). Potensi mutagen telah dikaitkan dengan paparan asap rokok, merokok bisa mengganggu fungsi fase pembelahan miosis pada manusia. Pengikatan langsung bagian terpenting dari asap tembakau ke DNA menyebabkan kerusakan gen pada sperma. Ketika komponen rokok terikat pada DNA, beberapa bahan kimia tambahan zat rokok menunjukkan kerusakan pramutasi. Pada perokok, peningkatan sepuluh kali lipat konsentrasi kadmium plasma semen berkaitan dengan peningkatan 5,88 kali lipat dalam rasio infertilitas pasangan infertil yang sedang menjalani evaluasi dan manajemen infertilitas (Berndhard, 2011).

Asap rokok menyebabkan kerusakan tubulus seminiferus tikus ditandai dengan berkurangnya diameter tubulus seminiferus (Dewi, 2011). Hal ini dapat mengurangi kerja tubulus yang terdiri dari jaringan ikat atau sel leydig penghasil hormon steroid testosteron, hormon *Gonadotropin Hipofisis* (GnRH), hormon *Luteinizing* (LH) yang berfungsi menyokong perkembangan spermatogenesis dalam mensekresi hormon seks pada jantan sehingga berdampak pada terganggunya proses spermatogenesis dan menimbulkan penurunan ketebalan epitel germinal tubulus seminiferus (Mescer, 2016).

Testosteron memiliki mekanisme umpan balik mempertahankan spermatozoa, jika umpan balik negatif maka terjadi penurunan kadar FSH, LH dalam peredaran darah sehingga menyebabkan terhentinya spermatogenesis dan jumlah serta menurunnya motilitas spermatozoa (Partodihardjo, 1980). Penentuan

fertil atau infertilnya seseorang lebih ditekankan pada motilitas dan morfologi sperma, karena spermatozoa yang motil dapat melakukan pembuahan (fertil) dibandingkan dengan yang tidak motil walaupun dalam jumlah yang banyak (Maula, 2014). Pada perokok berat beresiko meningkatkan kualitas sperma yang abnormal, menurunkan volume sperma hingga menurunkan motilitas sperma dibandingkan perokok ringan (Devy, 2018). Radikal bebas yang terbentuk dapat menjadi faktor banyak atau sedikitnya jumlah sperma yang dihasilkan di tubulus seminiferus.

Menurut Bondonno *et al*, (2019) senyawa polifenol dan flavonoid mengurangi penyebab kematian terutama pada perokok dan pada konsumen alkohol yang tinggi. Flavonoid melakukan pencegahan informasi stres oksidatif yang menghambat enzim *xantin oksidase* serta menghambat oksidase NADPH sebagai pelindung terhadap toksisitas ROS. Flavonoid dikatakan sebagai pengantar induksi enzim antioksidan, menangkap langsung reaksi stres oksidatif serta berperan menjadi perlindungan antioksidan lipofilik (Sen *et al*, 2000).

Antioksidan memperbaiki kerusakan akibat reaksi oksidatif di lingkungan intraseluler dan ekstraseluler bekerja sebagai satuan kompleks untuk menghilangkan stres oksidatif yang berbeda. Senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dan polifenol merupakan antioksidan nonenzimatis yang menjadi komponen utama fitokimia yang berfungsi sebagai penyerap radikal yang larut lemak (Sen *et al*, 2000). Pengaruh flavonoid yang berinteraksi dengan oksigen meningkatkan ion Ca^{2+} bersama endothelial NOS (*Nitric oxide synthase*) sebagai nitrit oksida menghasilkan NO (nitrogen monoksida) merangsang terbentuknya superoksida sehingga flavonoid dapat menghentikan reaksi rantai radikal dengan bantuan hidrogen peroksida (Akhlaghi *et al*, 2009).

Pemberian ekstrak bunga kecombrang berhasil membalikkan kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa fenolik dan flavonoid efektif seperti asam galat, asam caffeic, *quercetin*, *luteolin*, dan *myricetin* pada kecombrang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel yang rusak akibat stres oksidatif (Ghasemzadeh *et al*, 2015). *Quercetin* juga dapat melindungi lingkungan dari penyebab radikal bebas seperti merokok. Tar merupakan sumber radikal bebas yang

dapat merusak membran eritrosit. *Quercetin* dan metabolit yang tergabung didalamnya dapat melindungi eritrosit dari kerusakan membran yang disebabkan oleh merokok (David *et al*, 2016).

Senyawa bioaktif yang terdapat pada bunga kecombrang seperti alkaloid meningkatkan kualitas spermatozoa, bekerja dengan menghambat siklus *nukleotida fosfodiesterasi* serta mempengaruhi kadar intrasel (Dja'afara *et al*, 2015). Perbaikan histologi juga dapat diatasi oleh terpenoid yang mengandung asam dengan berinteraksi diberbagai hormon steroid (Saifudin, 2014). Senyawa metabolit yang terdapat pada bunga kecombrang melepaskan satu elektron kepada oksidan kemudian berinteraksi dengan hormon *Gonadotropin Hipofisis*(GnRH) dan LH yang mempengaruhi sel leydig mensistesis testosteron sehingga pertumbuhan dan perkembangan sel spermatogenik dapat dijalankan. Selama spermatogenesis sel yang berkembang bergerak dari lapisan basal tubulus lalu mengarah ke lumen dan spermatozoa yang sedang dalam tahap perkembangan masih terikat satu dengan lainnya oleh jembatan sitoplasma sampai tahap ini berakhir (Peckham, 2011).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak bunga kecombrang (*Etligeria elatior* J.) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah rata-rata sel spermatosit primer yaitu 66,9 sel dan peningkatan diameter tubulus seminiferus sebesar 338,3 μm pada tikus putih yang diberi paparan asap rokok.
2. Dosis ekstrak bunga kecombrang paling berpengaruh dalam perbaikan histologi tubulus seminiferus tikus putih yang diberi paparan asap rokok adalah dosis 90 mg/kg BB.

5.2 Saran

Adapun saran dalam penelitian ini adalah:

1. Diperlukan ketelitian dalam tahap pembuatan preparat histologi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penggunaan dosis ekstrak bunga kecombrang yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldi, Y., Husni, E. and Yesika, R. 2020. Activity of Kincung Flowers (*Etilingera elatior* (Jack)R.M.Sm.) on Total Leukocytes and Percentage of Leukocytes in Allergic Male White Mice. *Pharmacogn Journal*. 12 (1). 1648-1655.
- Abdelwahab, S., I., Z., F., Q., Mariod, A., A., Yacoob, M., Abdeelmageed, AHA, and Khamis, S. 2010. Chemical Composition, Antioxidant And Antibacterial Properties Of The Essential Oils Of *Etilingera elatior* And *Cinnamomum pubescens* Kochummen. *Journal Science Food Agric*. 90. 2682-2668.
- Akhlaghi, Masoumeh and Bandy, Brian. 2009. Mechanisms Of Flavonoid Protection Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal Of Moleculer And Celluler Cardiology*. Vol. 46 (3). Doi :<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.12.003>.
- 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*. Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.
- Ayuningtyas, Frizka. 2018. "Pengaruh Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) Terhadap Kualitas Sperma Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Yang Diinduksi Siklofosfamid". *Skripsi*. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia. Hal: 33-39.
- Barret, Kim, E., Barman, Susan, M., Boitano, Scott., Brooks, and Heddwen, L. 2012. *Ganong's Review Of Medical Physiology, 24th Edition*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. Pp: 449-452.
- Batubara, I.,V.,D., Wantouw, B., and Tendean, L. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*. 1 (1). 330-337.
- Bernhard, David. 2011. *Cigarrete Smoke Toxicity: Lingking Individual Chemical To Human Diseases*. Germany: Wiley-VCH.
- Bondonno, N., P., Dalgaard, F., Kyro, C., Murray, K., Bondonno, C., P., Lewis, J., R., Croft, K., D., Gisslasson G., Scalbert, A., Cassidy, A., Tjonneland, A., Overdad, K., and Hodgson, J., M. 2019. Flavonoid Intake Is Associated With Lower Mortality In The Danish Diet Cancer And Health Cohort. *Article Of Nature Communications*. 10. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11622-x>.

- Boyle, P., Gray, N., Henningfield, J., Seffrin, J., and Zatonski, W. 2004. *Tobacco Science, Policy And Public Health*. New York: Oxford University Press Inc. Pp: 355-356.
- Chan, E., W., C., Lim Y., Y., Omar, M. 2007. Antioxidant And Antibacterial Activity Of Leaves Of Etlingera Species (Zingiberaceae) In Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*. 104. 1586-1593.
- Colagate, S., M., and Molyneux, R., J. 2008. *Bioactive Natural Product: Detection, Isolation, and Structural Determination*. California: CRC Press. Pp: 352-354.
- Crofton, John And Simpson, David. 2002. *Tembakau Ancaman Global*. Alih Bahasa: Abidin. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- David, Alexander, V., A., Arulmoli, R., and Parasuraman, s. 2016. Overviews Of Biological Importance Of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacognosy Review*. 10 (20). 84-89.
- Devy, Sisca. 2018. Hubungan Kualitas Sperma Pada Perokok Berat Dan Bukan Perokok Pada Mahasiswa. *Jurnal Kesmas & Gizi (JKG)*. Vol. 1 (1) Edisi Mei. Doi: <http://ejournal.medistra.ac.id/index.php/JKG>. 35-42.
- Dewi, E., R., S. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Mengkudu Terhadap Histopatologi Testis Tikus Putih Setelah Menghirup Asap Rokok. *Jurnal Bioma*. 1 (2).
- Dja'afara, Ayu., L., Wantouw, Benny., dan Tendean, Lydia. 2015. Pengaruh Pemberian Kopi Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar Jantan Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Jurnal e-Biomedik*. 3 (2). 676-680.
- Drope, J., Schluger, N., W., and Editors. 2018. *The Tobacco Atlas Sixth Edition*. USA: The American Cancer Society, Inc. pp: 16-24.
- Fairudillah, G., dan Nugrahalia, M. 2019. Pengaruh Pemberian Puree Tomat (*Solanum esculentum* Mill) Terhadap Struktur Dan Fungsi Testis Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Telah Diinduksi MSG. *Jurnal Biosains*. Vol. 4 (3). ISSN: 2460-6804. 131-137.
- Farida, S., dan Maruzy, A. 2016. Kecombrang (*Etlingera elatior*): Sebuah Tinjauan Penggunaan Secara Tradisional, Fitokimia Dan Aktivitas Farmakologi. *Badan Litbang Kesehatan*. 9 (1). 19-25.
- Ferial, Eddyman, W. 2013. *Biologi Reproduksi*. Jakarta: Erlangga. Hal: 13-15.

- Fleming, T., Chris, A., Sarang, A., and Jeffrey, A. 2012. Third-hand Tobacco Smoke: Significant Vector For PAH Exposure or Non-issue? *Integrated Environmental Assessment and Management*. 8 (4). 763–764.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H., Z., R., Rahmat, A., And Ashkani, S. 2015. Secondary Metabolites Constituents And Antioxidant, Anticancer And Antibacterial Activities Of *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm Grown In Different Locations Of Malaysia. *Biomed Central*. 15. DOI 10.1186/S12906-015-0838-6. 1-10.
- Ginting, Ayu, A. 2016. ”Gambaran Histopatologi Testis Mencit (*Mus musculus*) Yang Terpapar Asap Rokok Dan Diberi Ekstrak Semangka Merah (*Citrullus vulgaris*)”. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Banda Aceh: Universitas Syah Kuala.
- Halliwell, Barry and Gutteridge, John, M., C. 2015. *Free Radicals In Biology & Medicine Fifth Edition*. United Kingdom: Oxford University Press. Pp: 78179.
- Hargono, Felisia, R., Lintong, Poppy, M., dan Kairupan, Carla, F. 2013. Gambaran Histopatologik Testis Mencit Swiss (*Mus musculus*) Yang Diberi Kedelai (*Glycine max*) Dan Terpapar Asap Rokok. *Jurnal e-Biomedik*. 1 (2). 824-829.
- Haw, K., Y., Chakravarthi, S., Haleagrahara, N., And Rao, M. 2012. Effects Of *Etlingera elatior* Extracts On Lead Acetate-Induced Testicular Damage: A Morphological And Biochemical Study. Malaysia: *Experimental And Therapeutic Medicine*. Vol. 3. 99-104. DOI: 10.3892/Etm.2011.355.
- Hayes WJ. 1982. *Pesticides Studied In Man*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Hal. 86–91.
- He, L., Gong, H., Zhang, J., Zhong, C., Huang, Y., Zhang, C., and Ashraf, M., A. 2016. Interaction of Exposure Concentration And Duration In Determining The Apoptosis Of Testis In Rats After Cigarret Smoke Inhalation. *Saudi Journal Of Biological Sciences*. 23. 531-541.
- Herawati, Maria, Holly. 2010. Bahan Yang Mengandung Zat Adiktif Pada Produk Rokok Dan Dampaknya Terhadap Kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional XIX. Kimia Dalam Industri Dan Lingkungan*. 1-8. ISSN: 0854-4778.
- Ilfandari, A., dan ervina, A. 2015. Hubungan Perilaku Merokok Dengan Indeks Masa Tubuh Remaja Putra. Serang: *E-Jurnal Obstretika*. Vol. 3 (1). 1-15.
- Irianti, T., T., Sugianto., Nuranto, S., dan Kuswandi. 2017. *Antioksidan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

- Jaafar, F.M., Osman, C., P., Ismail, N., H., and Awang, K. 2007. Analysis Of Essential Oils Of Leaves, Stems, Flowers And Rhizomes Of *Etlingera elatior*. *The Malaysian Journal Of Analytical Science*. 11 (1). 269-273.
- Jackie, Tan., Haleagraha, Nagaraja., and Chakravarthi, Srikumar. 2011. Antioxidant Effects Of *Etlingera elatior* Flower Extract Against Lead Acetate - Induced Perturbations In Free Radical Scavenging Enzymes And Lipid Peroxidation In Rats. *BMC Research Notes*. 4. 67.
- Kementrian Kesehatan RI. 2013. *Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI (INFODATIN): Hari Tanpa Tembakau Sedunia*. Jakarta. ISSN 2552-7659. Hal: 1-12.
- Kementrian Kesehatan RI. 2018. *Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI (INFODATIN): Perilaku Merokok Masyarakat Indonesia*. Jakarta. ISSN 2442-7659. Hal: 1-12.
- Koob, G., F., Arens, M.A., Moal, M., L. 2016. *Drugs, Addiction and The Brain*. Oxford: Academic Press.
- Kosala, Khemasili. 2015. Uji Fitokimia Dan Toksisitas Fraksi Ekstrak Akar Tambolekar (*Coptosapella flavescens* Korth) Dengan Reaksi Warna Dan Brine Shrimp Lethaly Test. Samarinda: *Molluca Medica*. 8 (1). Pp: 98-104.
- Leonardi-Bee, Jo, John Britton, and Andrea Venn. 2011. Secondhand Smoke and Adverse Fetal Outcomes in Nonsmoking Pregnant Women: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 127 (4). 734–741.
- Maimulyati A, and Prihadi AR. 2015. Chemical Composition, Phytochemical And Antioxidant Activity From Extract Of *Etlingera elatior* Flower From Indonesia. *Journal of Pharmacognocoy and Phytochemistry*. 3(6). 233-238.
- Maula, Indah, Fadlul. 2014. “Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo”. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Matt, G., E., Penelope J., E., Q., Hugo, D., Lara, A., G., Mohamad, S., Brett C., S., Peyton, J. 2011. Thirdhand Tobacco Smoke: Emerging Evidence and Arguments for a Multidisciplinary Research Agenda. *Environmental Health Perspectives*. 119 (9): 1218–1226.
- Mescher, Anthony, L. 2016. *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas, 14th Edition*. Alih bahasa dr. Jan Tambayong. Jakarta: EGC. Pp: 437-507.

- Mayer, Bernad. 2014. How Much Nicotine Kills A Human? Racing Back The Generally Accepted Lethal Dose To Dubious Self-Experiments In The Nineteenth Century. Austria: *Arch Toxicol.* 88. 5-7.
- Muftiana, M., Nurliana,. dan Astusi, D. 2015. Pengaruh Fraksi Diklorometana Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) Pada Struktur Mikroanatomi Testis Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia.* 9 (2). Hal: 47-58.
- Nicogossian, A., Himathongkam, T., Kloibe, O., Zimmerman, T., and Hu, Y., 2016. Health Effects Of Tobacco Secondhand Smoke: Focus On Children Health A Review Of The Evidence And Self-Assessment. USA: *Center for the Study of International Medical Policies and Practices (CSIMPP).* 7.
- Omotoso, G., O., Hambolu, O., Z., and Alabi, A., S. 2017. Cigarret Smoke Alters Testicular And Epididymal Histology In Adult Wistar Rats. *Journal of Experimental And Clinical Anatomy.* 16 (1). 25-28.
- Partodihardjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan.* Jakarta: Mutiara. Hal: 114.
- Peckham, Michelle. 2011. *Histology At A Glance.* London: John wiley-Blackwell.
- Pohan, A., Y., A. 2014. Perbandingan Kuantitas Sel Spermatogenik Testis Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Yang Dipapar Asap Rokok Kretek Dan Asap Rokok Herbal. *Skripsi.* Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran. Universitas Syah Kuala.
- Poulsen, A., D. 2012. Book Review: Etlingera Of Sulawesi. *Garden's Bulletin Singapore.* 64 (2). 529-531.
- Purwoko, Agus., Turnip, Heltimala., Maser, and Wahyu, H., 2019. The Pattern Of Etlingera elatior Cultivation In Agroforestry Systems And Its Use As Traditional Medicines And Food By Local People Of Kabanjahe, North Sumatra, Indonesia. *Journal Biodiversitas.* 20 (7). 1998-2003.
- Qardhawi, Yusuf. 1995. *Fatwa Fatwa Kontemporer Jilid 1.* Alih bahasa: Yasin, As'ad. Jakarta: Gema Insani Press. Hal: 779 -822.
- Rahma, F., Ardiaria, M., dan Panunggal, B. 2019. Pengaruh Pemberian Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L. Poir) Terhadap Kadar Leukosit Total Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Yang Dipapar Asap Rokok. Universitas Diponegoro: *Journal Of Nutrition College.* 8 (2). 65-72. E-ISSN : 2622-884X.

- Ruswanto, Trena, Lestari. 2015. Potensi Antikanker Dari Ekstrak Bunga Kecombrang Dengan Berbagai Tingkat Kepolaran Terhadap Sel T47D. Tasikmalaya: *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 14 (1). 811.
- Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep Dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Seely, Rod, R., Stephens, Trent, D., and Tate, Philip. 2008. *Anatomy & Physiology Eighth Edition*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Sen, C., K., Packer, L., and Hanninen, O. 2000. *Handbook Of Oxidants And Antioxidants In Exercise*. Netherlands: Elviesier.
- Sengupta, Pallav. 2013. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. India: *International Journal of Preventive Medicine*. 4 (6).
- Setiadi. 2007. *Anatomi & Fisiologi Manusia*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hal: 98-99.
- Silalahi, Marina., Purba, Endang, C., dan Mustaqim, Wendy, A. 2018. *Tumbuhan Obat Sumatera Utara. Jilid I: Monokotiledon*. Jakarta: UKI Press. Hal: 87.
- Soemarie, Y., B., Apriliana, A., Ansyori, A., K., dan Purnawati, P. 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack.) R. M. Sm.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Samarinda: *Jurnal Al Ulum Sains dan Teknologi*. 5 (1). 13-17.
- Starr, Cecie., Taggart, Ralph., Evers, Christine., Starr, Lisa. 2013. *Biology The Unity And Diversity Of Life 12th Edition*. Yogyakarta: Salemba Empat. Pp: 348-352.
- Sudharma, N., Indriani. 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*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Program Studi Studi Pascasarjana Epidemiologi Kekhususan Epidemiologi Klinik. Universitas Indonesia. 55.
- Sukmaningsih, A., A., Sg A. 2009. Penurunan Jumlah Spermatosit Pakiten Dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Biologi*. 13 (2). 31-35.
- Suwarni, E., dan Cahyadi, K., D. 2016. Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Dengan Metode DPPH. *Medicamento*. 2 (2). 39-45.

- Tias, M., E., N. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum L.*) Terhadap Gambaran Tubulus Seminiferus Mencit Jantan (*Mus msuculus L.*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Umum. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hal: 2-12.
- Ulil Albab, A., Wirjatmadi. B., Dan Adriani, M. 2015. Ekstrak Kelopak Rossela Merah Mencegah Kenaikan Manoaldehid Tikus Wistar Yang Dipapar Asap Rokok. Surabaya: *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 13 (2). ISSN: 1693-1831.
- Wardani, I., G., A., A., K. 2020. Efektivitas Pemberian Gel Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat Ila Pada Mencit Putih (*Mus musculus L.*). Bali: *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 6 (2). 72-78. ISSN- e: 2356-4814.
- Widaryanto, E., dan Azizah, N. 2018. *Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat (Peluang, Budidaya, Pengolahan Hasil, dan Pemanfaatan)*. Malang: UB Press. Hal: 44-54.
- Wijekoon, J.O., Bhat R., Karim A.A., and Fazilah, A. 2011. Evaluation Of Nutritional Quality Of Torch Ginger (*Etlingera elatior*) Inflorescence. *Intern Food Res Journal*. 18 (4). 1415-1420.
- Winarsi, Dr. Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas: Potensi Dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kasinius.
- Wolfenshon,S and Lioyd, M. 2013. *Handbook Of Laboratory Animal Management and welfare, 4th Edition*. West Sussex: Wiley-Blackwell. Pp: 234.
- World Health Organization (WHO). 2000. *WHO Manual For The Standardized Investigation And Diagnosis Of The Infertile Couple*. Cambridge: Cambridge University Press.
- 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. 424-432.
- Yamlean, P. V. Y. 2020. *Buku Ajar Farmasetika*. Jawa Tengah: Lakeisha. Hal: 149-160.
- Yuslianti, Euis, Reni. 2018. *Pengantar Radikal Bebas Dan Antioksidan*. Sleman: Deepublish. Hal: 2-3,8.

Lampiran 1. *Ethical Cleareans Penelitian*



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM**
Jln. Bioteknologi No. 1 Kampus USU Telp. (061) 814290 - Fax (61) 814290
M E D A N

No. 0108/KEPH-FMIPA/2021

**REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK
PENELITIAN KESEHATAN**

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komite Etik Penelitian Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam - Universitas Sumatera Utara (*Animal Research Ethics Committees/AREC*) setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul:

**PENGARUH EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior J.*) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus L.*) YANG DIBERI PAPAN ASAP ROKOK,**

menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian, dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama: **NURUL MIFTAHUL JANNAH** dari Mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Medan.

Dapat disetujui pelaksanaannya setelah dipertimbangkan relevansinya terhadap kesehatan manusia yang berpedoman pada prinsip-prinsip hewan coba secara etis untuk penelitian kesehatan yang menggunakan hewan.

Medan, 24 Februari 2021

Ketua

Komite Etik Penelitian Hewan FMIPA USU
(*Animal Research Ethics Committees/AREC*)



Prof. Dr. Syafruddin Ilyas, M. Biomed.
NIP. 195602091992031003



**HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

JL. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155
Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail. nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 09 Maret 2021

No. : 5708/MEDA/2021
Lamp. : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH,
Sdr/i : Nurul Miftahul Jannah
NIM : 0704162010
Instansi : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

Dengan hormat,
Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Etilingera*
Spesies : *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm.
Nama Lokal: Kecombrang

Demikian, semoga berguna bagi saudara.



Kepala Herbarium Medanense

Nursahara Pasaribu
Dr. Nursahara Pasaribu, M.Sc
NIP. 196301231990032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
 UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 LABORATORIUM KIMIA ORGANIK
 Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU Padang Bulan Medan - 20155
 Telepon: (061) 8211050, 8214290 Fax: (061) 8214290
 Laman : www.fmipa.usu.ac.id

Nomor : 214/UN5.2.1.8.3.10/KPM/2021
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil Skrining Fitokimia

Kepada Yth,
 Saudari Nurul Miftahul Jannah
 Mahasiswa Jurusan Biologi
 Fakultas Sains dan Teknologi UINSU
 Medan.

Bersama ini kami sampaikan hasil skrining dari sampel yang saudara kirimkan ke Laboratorium Kimia Organik FMIPA USU, adalah sebagai berikut :

Sampel Ekstrak Bunga Kecombrang (<i>Etilingera elatior</i>)		
Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Bouchardart	+
	Maeyer	-
	Dragondroff	+
	Wagner	+
Steroida dan Triterpenoid	Salkowsky	+
	Lieberman-Burchad	-
Saponin	Aquadest+Alkohol 96%	+
Flavonoida	FeCl ₃ 5%	+
	Mg _(s) + HCl (p)	+
	NaOH 10%	+
	H ₂ SO ₄ (p)	-
Tanin	FeCl ₃ 1%	+
Glikosida	Mollish	-

Keterangan : (-) : Tidak Terdeteksi Senyawa Metabolit Sekunder
 (+) : Terdeteksi Senyawa Metabolit Sekunder

Demikian surat Hasil Skrining Fitokimia sampel Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) ini dibuat, terima kasih.

Medan, 15 Maret 2021



Julati Br. Tarigan, M.Si
 NIP 197205031999032001



KEMENTERIAN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
BALAI VETERINER MEDAN

JALAN JENDERAL GATOT SUBROTO NO. 255-A, MEDAN 20127
TELEPON. : (061)8452253, FAKSIMILI : (061) 846 9911
E-mail : bvmedan@gmail.com, bvmedan@pertanian.go.id, webs.ite.http://bvmedan.ditjenpkh.pertanian.go.id

Nomor : 230/HM.240/F4.1/01/2021
Sifat : Biasa
Lampiran : -
Perihal : Izin Melaksanakan Penelitian

13 Januari 2021

Yth.
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kelembagaan
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Sumatera Utara
Di -
Medan

Menindaklanjuti surat Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kelembagaan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Nomor B-036/ST.I/ST.V.2/TL.00/01/2021 tanggal 11 Januari 2021 perihal Izin Penelitian, bersama ini kami sampaikan bahwa pada prinsipnya Balai Veteriner Medan memberikan izin penelitian di laboratorium Balai Veteriner Medan, Mahasiswa atas nama:

No	Nama	NIM	Jurusan
1.	Fadilah Rahmah	0704162004	Biologi
2.	Pera Widya Ningsih	0704162006	Biologi
3.	Elidarni	0704162007	Biologi
4.	Nurul Miftahul Jannah	0704162010	Biologi
5.	Farhana Hasn	0704162011	Biologi
6.	Tri Novitashari Butar-butar	0704162019	Biologi
7.	Anggi Silvia Sulistia	0704162021	Biologi
8.	Fauziah M.Z	0704162030	Biologi
9.	Sri Murni Ayu Lestari	0704162031	Biologi

Adapun pelaksanaan penelitian dilakukan pada tanggal 18 Januari s/d 28 Februari 2021 di bawah bimbingan Drh. Sangkot Sayuti Nasution, M.Si/NIP. 197702092005011001 dengan tetap mematuhi protokol kesehatan covid-19.

Demikian hal ini kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama yang baik, kami ucapkan terima kasih.

Kepala Balai
Drh. H. Agustia, MP
NIP. 197008051998031013

Tembusan:
Mahasiswa yang bersangkutan



Kelompok	Ulangan	Jumlah Sel Spermatisit Primer			Jumlah	Rata-Rata
		Lp 1	Lp 2	Lp 3		
K (+)	1	51	72	59	182	60.7
	2	59	83	64	206	68.7
	3	76	67	67	210	70
	4	49	48	50	147	49
	5	65	62	75	202	67.3
Jumlah		300	332	315	947	315.7
Rata-rata		60	66.4	63	189.4	63.14
K (-)	1	42	50	43	135	45
	2	41	47	40	128	42.7
	3	50	52	53	155	51.7
	4	30	31	36	97	32.3
	5	50	47	41	138	46
Jumah		213	227	213	653	217.7
Rata-rata		42.6	45.4	42.6	130.6	43.54
P1	1	48	43	50	141	47
	2	63	57	58	178	59.3
	3	56	61	60	177	59
	4	64	51	59	174	58
	5	53	49	48	150	50
Jumlah		284	261	275	820	273.3
Rata-rata		56.8	52.2	55	164	54.66
P2	1	52	50	55	157	52.3
	2	58	57	60	175	58.3
	3	61	65	69	195	65
	4	60	62	67	189	63
	5	50	49	58	157	52.3
Jumlah		281	283	309	873	290.9
Rata-rata		54.4	56	59.2	170	58.70
P3	1	77	69	61	207	69
	2	62	46	51	159	53
	3	94	91	82	267	89
	4	63	77	69	209	69.7
	5	60	50	52	162	54
Jumlah		356	333	315	1004	334.7
Rata-rata		71.2	66.6	63	200.8	66.9

Lampiran 6. Tabel Data Diameter Tubulus Seminiferus

Kelompok	Ulangan	Diameter		Jumlah	Rata-Rata
		D1 (μm)	D2 (μm)		
K (+)	1	257.457	279.752	537.209	268.605
	2	302.369	250.114	552.483	276.241
	3	261.296	316.493	577.789	288.894
	4	277.913	348.737	626.650	313.325
	5	363.701	330.289	693.990	346.995
Jumlah		1.462.736	1.525.385	2.988.121	1494.00
Rata-Rata		292.547	305.077	597.624	298.7
K (-)	1	210.542	246.494	457.036	228.518
	2	234.200	196.375	430.575	215.287
	3	189.968	247.665	437.633	218.816
	4	183.730	197.830	381.560	190.780
	5	232.805	258.919	491.724	163.908
Jumlah		1.051.245	1.147.283	2.198.528	1017.309
Rata-Rata		525.622	573.641	439.705	203.461
P1	1	246.717	193.519	440.236	220.118
	2	239.562	257.026	496.588	248.294
	3	281.326	281.425	562.751	281.375
	4	262.672	236.932	499.604	249.802
	5	256.567	229.307	485.874	323.916
Jumlah		1.286.844	1.198.209	2.485.053	1242.526
Rata-Rata		257.368	239.641	497.010	248.505
P2	1	304.263	239.523	543.786	271.893
	2	309.467	255.442	564.909	282.454
	3	305.934	357.941	663.875	331.937
	4	252.553	200.716	453.269	226.634
	5	245.348	205.963	451.311	225.655
Jumlah		1.417.565	1.259.585	2.677.150	1338.573
Rata-Rata		283.513	251.917	535.430	267.714
P3	1	376.346	335.106	711.452	355.726
	2	292.166	318.949	611.115	305.557
	3	286.777	326.881	613.658	306.829
	4	416.698	325.381	742.079	371.039
	5	421.062	284.058	705.120	352.560
Jumlah		1.793.049	1.590.375	3.383.424	1691.711
Rata-Rata		358.609	318.075	676.684	338.342

Lampiran 7. Perhitungan Dosis Ekstrak Bunga Kecombrang

1. Ekstrak terlebih dahulu dilarutkan di dalam larutan CMC Na 0,5%
2. Larutan CMC Na 0,5% dibuat dengan melarutkan 500mg / 0,5 g bubuk CMC Na ke dalam 100 ml aquades
3. Setelah itu, dilarutkan 1 gr ekstrak kental ke dalam 100 ml larutan CMC Na 0,5%
4. Maka, 1000 mg = 100 ml , 10 mg = 1 ml
5. Untuk menghitung jumlah ekstrak yang akan diberikan kepada tikus, maka dihitung berdasarkan berat badan masing-masing tikus

Misal, diketahui :

Dosis 1 : 30mg/KgBB

Dosis 2 : 60 mg/KgBB

Dosis 3 : 90 mg/KgBB

BB tikus : 250gr

Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
= $30\text{mg}/1000 \times 250\text{gr}$	= $60\text{mg}/1000 \times 250\text{ gr}$	= $90\text{mg}/1000 \times 250\text{ gr}$
= $250/1000\text{gr} \times 30\text{mg}$	= $250/1000\text{gr} \times 60\text{mg}$	= $250/1000 \times 90\text{mg}$
= 7,5 mg	= 15 mg	= 22,5 mg
= 0,75 ml	= 1,5 ml	= 2,25 ml

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Spermatisit Primer	Kelompok Positif	.284	5	.200*	.838	5	.160
	Kelompok Negatif	.253	5	.200*	.929	5	.588
	Kelompok Perlakuan 1	.320	5	.105	.812	5	.100
	Kelompok Perlakuan 2	.190	5	.200*	.952	5	.752
	Kelompok Perlakuan 3	.225	5	.200*	.893	5	.372

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

SpermatisitPrimer

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok Positif	5	63.140	8.6772	3.8805	52.366	73.914	49.0	70.0
Kelompok Negatif	5	43.540	7.1030	3.1766	34.720	52.360	32.3	51.7
Kelompok Perlakuan 1	5	54.660	5.7426	2.5682	47.530	61.790	47.0	59.3
Kelompok Perlakuan 2	5	58.720	5.3148	2.3768	52.121	65.319	52.3	65.0
Kelompok Perlakuan 3	5	66.940	14.6652	6.5585	48.731	85.149	53.0	89.0
Total	25	57.400	11.6094	2.3219	52.608	62.192	32.3	89.0

Test of Homogeneity of Variances

SpermatositPrimer

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.464	4	20	.250

ANOVA

SpermatositPrimer

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1626.544	4	406.636	5.057	.006
Within Groups	1608.156	20	80.408		
Total	3234.700	24			

SpermatositPrimer

Duncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok Negatif	5	43.540	
Kelompok Perlakuan 1	5	54.660	54.660
Kelompok Perlakuan 2	5		58.720
Kelompok Positif	5		63.140
Kelompok Perlakuan 3	5		66.940
Sig.		.064	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 9. Hasil Analisis SPSS Diameter Tubulus Seminiferus

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti c	df	Sig.	Statisti c	df	Sig.
TubulusSe miniferus	Kelompok Positif	.223	5	.200*	.919	5	.526
	Kelompok Negatif	.274	5	.200*	.906	5	.445
	Kelompok Perlakuan 1	.276	5	.200*	.936	5	.637
	Kelompok Perlakuan 2	.224	5	.200*	.905	5	.440
	Kelompok Perlakuan 3	.281	5	.200*	.841	5	.167

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

TubulusSeminiferus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok Positif	5	298.76 0	31.8067	14.2244	259.267	338.25 3	268.6	346.9
Kelompok Negatif	5	203.42 0	26.1149	11.6789	170.994	235.84 6	163.9	228.5
Kelompok Perlakuan 1	5	248.46 0	21.8834	9.7866	221.288	275.63 2	220.1	281.3
Kelompok Perlakuan 2	5	267.66 0	44.2045	19.7689	212.773	322.54 7	225.6	331.9
Kelompok Perlakuan 3	5	338.30 0	30.1736	13.4940	300.835	375.76 5	305.5	371.0
Total	25	271.32 0	54.8013	10.9603	248.699	293.94 1	163.9	371.0

Test of Homogeneity of Variances

TubulusSeminiferus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.017	4	20	.422

ANOVA

TubulusSeminiferus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51928.296	4	12982.074	12.887	.000
Within Groups	20148.064	20	1007.403		
Total	72076.360	24			

TubulusSeminiferus

Duncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok Negatif	5	203.420			
Kelompok Perlakuan 1	5		248.460		
Kelompok Perlakuan 2	5		267.660	267.660	
Kelompok Positif	5			298.760	298.760
Kelompok Perlakuan 3	5				338.300
Sig.		1.000	.350	.137	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 10. Dokumentasi



Simplisia Segar



Pencucian



Pemotongan



Pengovenan



Proses Blender



Simplisia Kering



Pengadukan



Maserasi



Perendaman



Ekstrak Pekat



Sebelum Paparan Asap Rokok



Penimbangan CMC Na 1%



Ekstrak yang telah dilarutkan dengan CMC Na 1%



Penyondean Ekstrak



Pembedahan



Larutan BNF 10%



Organ Testis



Tikus setelah 30 hari paparan asap rokok, Bulu basah (berkeringat) dan berwarna kekuningan



Embedding

Penempelan Entelan

Tissue Processing



Pewarnaan Hematoxylin Eosin



Pemaparan Asap rokok