

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL JAHE MERAH (*Zingiber
Officinale Roxb var Rubrum*) TERHADAP
KUANTITAS DAN KUALITAS
SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus
musculus L.*) YANG DIINDUKSI
PARAQUAT DIKLORIDA

By Hendri Busman

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETAL 14 L JAHE MERAH (*Zingiber Officinale* Roxb var *Rubrum*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI PARAQUAT DIKLORIDA

PENDAHULUAN

Tingkat pencemar¹ lingkungan di Indonesia semakin tinggi dan kompleks. Pencemaran ini diakibatkan oleh maraknya penggunaan bahan kimia berbahaya di tengah-tengah masyarakat maupun industri, serta belum baiknya sistem pengelolaan terhadap limbah yang dihasilkan. Salah satu bahan kimia yang memberikan kontribusi cukup besar sebagai sumber pencemaran adalah herbisida. Herbisida adalah salah satu jenis pestisida yang mengandung senyawa kimia beracun dan digunakan untuk mengendalikan gulma atau tumbuhan pengganggu yang tidak dikehendaki (Ledoh

dkk., 2010). Adanya paparan herbisida yang berulang dapat menyebabkan meningkatnya produksi Reactive oxygen spesies (ROS) yang menghasilkan molekul oksigen sangat reaktif, salah satu herbisida yang meningkatkan produksi ROS adalah paraquat (Ortiz dkk,2016). Paraquat adalah herbisida golongan bypyridium yang digunakan diseluruh dunia (Fukushima dkk, 2002). Di negara berkembang, paraquat sering digunakan secara bebas, tidak memperhatikan bahaya dan label peringatan sehingga menyebabkan angka keterpaparan yang tinggi(Sriyani dan salam 2008). Studi terbaru menunjukkan senyawa sintetik tertentu termasuk pestisida dapat

mengganggu fungsi sistem endokrin dan memiliki kemampuan menginduksi kelainan perkembangan dan reproduksi pada manusia dan hewan. (Afaf dkk.,2009) melaporkan bahwa pestisida dan herbisida kelompok organofosfat–dicofol terbukti menyebabkan meningkatnya produksi radikal bebas baik melalui intraseluler maupun ekstraseluler sehingga mengakibatkan ¹¹ penurunan jumlah sperma dan infertilitas. Sistem pertahanan tubuh yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas dipengaruhi oleh tersedianya zat-zat yang berasal dari bahan alami yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Hasil penelitian Kikuzaki dan Nakatani (1993), menunjukkan bahwa jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. Var. Rubrum) memiliki senyawa aktif fenolik seperti, gingerol, shagaol, zingeron, gingersiol, dan zingibren yang terbukti memiliki aktifitas antioksidan. Jahe juga dilaporkan memiliki aktifitas androgenik karena mampu meningkatkan konsentrasi hormon testosteron dalam serum (Kamtchouing et al,2002). Hormon testosteron berfungsi untuk mengontrol proses spermatogenesis, memelihara sel sertoli dan berperan dalam menentukan kualitas sperm⁴atozoa. Menurut Srivastava dkk., (2006), kandungan aktif rimpang jahe merah yang berpengaruh terhadap aktivitas reproduksi adalah arginin. Arginin merupakan asam amino non - esensial yang berperan dalam sistem ketahanan tubuh dan imunitas seluler. Selain itu, arginin juga berperan aktif dalam proses pembentukan spermatozoa.

¹² METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan ¹³ yg digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. Rubrum) sebanyak 1 kg yang diperoleh dari pembudidaya jahe merah di Bataranila Lampung.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak jahe merah menggunakan metode ekstraksi basah. Rimpang jahe merah dicuci bersih dengan

aquades lalu dikering anginkan kemudian jahe merah ditimbang dan dipotong tipis-tipis, jahe yang telah dipotong dibuat serbuk dengan menggunakan blender. Etanol teknis dengan kadar 96% ditambahkan untuk melakukan ekstraksi dari serbuk ini selama 24 jam. Setelah itu masuk ke tahap filtrasi, akan diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang didapat ¹¹eruskan ke tahap evaporasi dengan *Rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Penyediaan Paraquat¹⁵

Dosis paraquat yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 mg/kgBB. *Paraquat* atau dipasaran dikenal dengan merk dagang *gramoxone* diperoleh dari toko pertanian di Jalan Teuku Umar Lampung, *gramoxone* mengandung *paraquat* sebesar 276mg/ml.

1. Hewan uji dan Rancangan percobaan

Hewan uji adalah 24 ekor mencit jantan dengan berat badan antara 30-40 gram yang berumur 2-3 bulan. Hewan uji diperoleh dari Balai Veteriner Lampung (BVet).Penelitian ini ²menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan masing- masing 4 ulangan. Kelompok K1 sebagai kontrol (diberi H₂O), K2 (diinduksi *paraquat* dengan dosis 20 mg/kg BB tanpa pemberian bahan uji), K3, K4, K5 (diinduksi *paraquat* dengan dosis 20 mg/kg BB dan diberi ekstrak jahe merah dengan dosis berturut-turut 6 mg/ml, 12 mg/ml, 18 mg/ml) dan K6 (Hanya diberi bahan uji ekstrak jahe merah sebanyak 18 mg/ml). *Paraquat* dan ekstrak etanol jahe merah diberikan secara oral, *paraquat* diberikan 2 kali dalam seminggu selama 21 hari dan ekstrak jahe merah diberikan selama 35 hari.

2. Pembuatan Suspensi Spermatozoa

Pembuatan suspensi spermatozoa dilakukan sehari setelah perlakuan berakhir dengan cara hewan uji dinarkose selanjutnya dibedah kemudianspermatozoa diambil d³ cauda epididimis. *Cauda* epididimis dimasukkan ke dalam cawan

petri yang berisi 7,0 ml garam fisiologis 0,9%, kemudian dipotong dengan gunting kecil sampai halus dan diaduk dengan gelas pengaduk sehingga diperoleh suspensi spermatozoa yang homogen.

3. Analisis Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa

5

a. Konsentrasi Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dihitung dengan menggunakan bilik hitung *improved Neubauer* (hemositometer). Suspensi spermatozoa yang telah diencerkan dengan 1 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) diambil 10 μ L kemudian diletakkan ke dalam bilik hitung (hemositometer), setelah itu ditutup dengan gelas penutup. kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400. jumlah spermatozoa dihitung dengan rumus : jumlah sel/mL = jumlah spermatozoa (n) $\times 10^4 \times$ pengenceran. (Bijanti *et al.*, 2002; Soehadi dan Arsyad, 1982; Wirawan *et al.*,1988)

b. Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan mengambil 1 tetes suspense sperma, kemudian ditetaskan pada gelas objek kemudian dicampurkan larutan eosin negrosin. Apusan tipis dibuat secara merata, kemudian dikering anginkan. Viabilitas sperma dihitung menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400xberdasarkan jumlah sperma utuh yang tidak menyerap warna (jernih) dibagijumlah total sperma lalu dikali 100% (Astuti,2009).

$$\frac{\text{Jumlah sperpatozoa hidup}}{\text{Jumlah sperpatozoa hidup + Mati}} \times 100\%$$

c. Motilitas Spermatozoa

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 400x, motilitas spermatozoa dikelompokkan kedalam kategorisel spermatozoa (A), bergerak dan (B) tidak bergerak, Persentase motilitas itu dihitung berdasarkan rumus perhitungan sebagaiberikut:

$$\frac{A}{A + B} \times 100\%$$

d. Morfologi Spermatozoa

Satu tetes suspensi sperma ditetaskan pada kaca objek, lalu dibuat sediaan oles dengan menggeserkan kaca objek lain di atasnya, setelah itu dikeringanginkan, lalu difiksasi dengan metanol 96% selama 5 menit dan diwarnai dengan larutan giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan air mengalir. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Morfologi spermatozoa abnormal dapat diketahui dengan menghitung 100 spermatozoa. Spermatozoa mencit normal terdiri atas bagian kepala (*caput*) yang bentuknya bengkok seperti kait, bagian tengah (*middle piece*) yang pendek, dan bagian ekor (*cauda*) yang sangat panjang. (Astuti,2009). Persentase morfologi spermatozoa:

$$\frac{A}{A + B} \times 100\%$$

Keterangan:

A: jumlah morfologi abnormal

B: jumlah morfologi normal

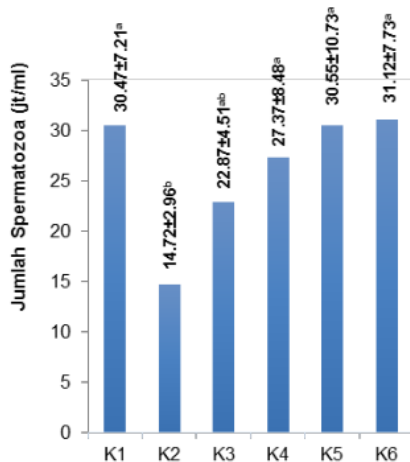
ANALISIS DATA

Data hasil pengamatan diuji homogenitasnya dengan tes Levene. Hasil analisis menunjukkan

Bahwa sebaran data homogen sehingga data pengamatan diuji menggunakan uji *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD (least significant different)* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.

HASIL

Hasil analisis perhitungan jumlah, viabilitas, motilitas dan morfologi abnormal spermatozoa disajikan pada grafik di bawah ini :

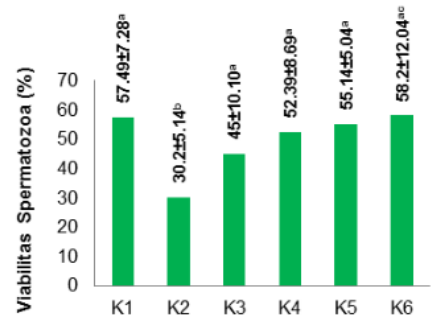


K1 = Kontrol Normal; K2 = Kontrol Negatif; K3 = PJ 200mg/kgBB; K4 = PJ 400mg/kgBB; K5 = PJ 600mg/kgBB; K6 = J 600mg/kgBB
 Angka yang diikuti huruf superskrip berbeda menunjukkan beda nyata berdasarkan uji BNT 5%.....

Gambar 7. Grafik Hasil Perhitungan Jumlah Spermatozoa (juta/ml)

Hasil analisa dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan taraf 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jahe merah mempunyai pengaruh yang bermakna secara statistik dalam meningkatkan jumlah spermatozoa mencit jantan yang diinduksi *paraquat diklorida*. Perbedaan nyata terlihat pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol jahe merah K4, K5 dan K6 (400 mg/kgBB, 600

mg/kgBB dan dosis tunggal 600 mg/kgBB) terhadap kontrol negatif (K2), namun pada kelompok K3 (dosis 200 mg/kgBB) tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (K2).



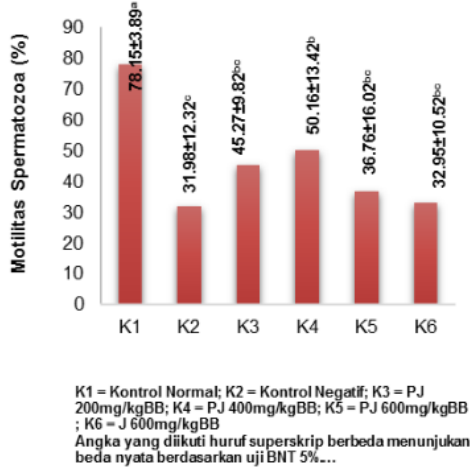
K1 = Kontrol Normal; K2 = Kontrol Negatif; K3 = PJ 200mg/kgBB; K4 = PJ 400mg/kgBB; K5 = PJ 600mg/kgBB ; K6 = J 600mg/kgBB
 Angka yang diikuti huruf superskrip berbeda menunjukkan beda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Gambar 8. Grafik Hasil Perhitungan Viabilitas Spermatozoa (%)

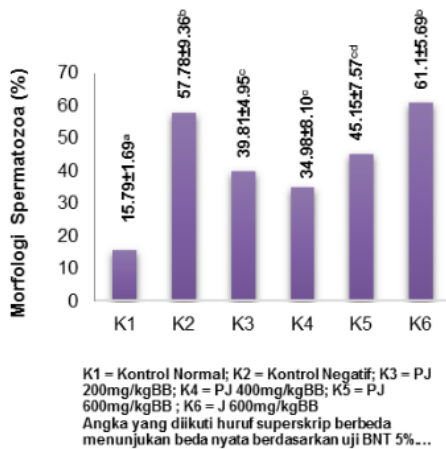
Hasil analisa dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan taraf 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jahe merah mempunyai pengaruh yang bermakna secara statistik dalam meningkatkan viabilitas spermatozoa mencit jantan yang diinduksi *paraquat diklorida*. Perbedaan nyata terlihat pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol jahe merah K3, K4, K5 dan K6 (dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan dosis tunggal 600 mg/kgBB) terhadap kontrol negatif (K2).

Hasil analisa dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan taraf 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jahe merah mempunyai pengaruh yang bermakna secara statistik dalam meningkatkan motilitas spermatozoa mencit jantan yang diinduksi *paraquat diklorida*. Perbedaan nyata terlihat pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol jahe merah K4 (400 mg/kgBB,) terhadap kontrol negatif (K2) namun pada kelompok perlakuan K3, K5 dan K6 (dosis 200

mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan dosis tunggal 600 mg/kgBB) tidak ada perbedaan nyata terhadap kontrol negatif (K2).



Gambar 9. Grafik Hasil Perhitungan Motilitas Spermatozoa (%)



Gambar 10. Grafik Hasil Perhitungan Morfologi Spermatozoa (%)

3

Hasil analisa dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan taraf 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jahe merah mempunyai pengaruh yang bermakna secara statistik dalam

meningkatkan morfologi normal spermatozoa mencit jantan yang diinduksi *paraquat diklorida*. Perbedaan nyata terlihat pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol jahe merah K3, K4 dan K5 (dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB,) terhadap kontrol negatif (K2) namun tidak ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan K6 (dosis tunggal 600 mg/kgBB) terhadap kontrol negatif (K2).

PEMBAHASAN

Penurunan jumlah, viabilitas, motilitas dan morfologi spermatozoa terjadi karena adanya radikal bebas yang terbentuk akibat pemberian herbisida paraquat. Radikal bebas yang terbentuk antara lain antara lain seperti *superoxide*, hydrogen peroksida, dan hidroksil radikal yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada lemak, protein dan DNA. Paraquat terbukti dapat menginduksi lipid peroksidase yang menyebabkan gangguan fungsi sel membran dan dapat menyebabkan apoptosis. (Indika dan Buckley, 2011). Pemaparan pestisida maupun herbisida dapat menyebabkan gangguan reproduksi. Gangguan reproduksi yang dapat terjadi berupa disfungsi seksual, abnormalitas sperma (jumlah, motilitas, bentuk), subfekunditas (gonad abnormal, gangguan prepubertas, infertilitas dan gangguan perkembangan janin (Levine ,1991). Menurut (Sukmaningsih A, 2009 ; Karim D, 2013), adanya peningkatan radikal bebas akan merusak membran dari sel-sel spermatogenik, merusak DNA spermatozoa dan menyebabkan menurunnya produksi hormon LH dan FSH yang merangsang terbentuknya hormon testosteron. Hal ini mengakibatkan jumlah testosteron menurun dan kegagalan proses spermatogenesis sehingga terjadi penurunan jumlah sperma (Sanocka & Kurpisz, 2004). Radikal bebas juga dapat menyerang membran mitokondria sel leydig dan mikrotubulus sel sertoli, bila kerusakan terjadi pada kedua sel tersebut akan mengganggu proses pematangan sel germinal dalam tubulus

seminiferus sehingga spermatozoa yang dihasilkan tidak sempurna. Selain itu kerusakan membran mitokondria sel sperma menyebabkan penurunan jumlah ATP yang diperlukan untuk pergerakan sperma dan merusak struktur DNA sehingga akan menyebabkan kematian pada sel sperma. Menurunnya viabilitas spermatozoa dapat pula disebabkan oleh berkurangnya cairan bagi spermatozoa sehingga maturasi spermatozoa di epididimis terganggu, fungsi epididimis terganggu disebabkan oleh menurunnya testosteron (Raji *et al.*, 2003). Jahe merah digunakan sebagai antioksidan untuk menangkal kadar ROS meningkat. Kandungan aktif jahe merah yang berfungsi sebagai antioksidan diantaranya adalah *gingerol*, *shogaol*, *zingibrene*, *gingerdiol*, dan *zingerone*. Zat-zat ini mampu mencegah terjadinya peroksidasi lipid dengan cara membatu aktivitas enzim-enzim antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *gluthione peroxides* pada tikus (Khaki dkk., 2009). Selain sebagai antioksidan jahe merah juga memiliki aktivitas androgenik. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kamtchouing *et al.* (2002) bahwa, pemberian ekstrak jahe merah pada tikus dapat meningkatkan jumlah hormon testosteron dalam serum. Hormon testosteron berperan dalam proses spermatogenesis sehingga dapat meningkatkan kualitas spermatozoa termasuk peningkatan konsentrasi sperma (Guyton, 1994). Kandungan aktif rimpang jahe merah yang berpengaruh terhadap aktivitas reproduksi adalah arginin. Arginin merupakan asam amino non-esensial yang berperan dalam sistem ketahanan tubuh dan imunitas seluler. Selain itu, arginin juga berperan aktif dalam proses pembentukan spermatozoa (spermatogenesis). Arginin merupakan precursor dari *Nitrit Oxide* (NO) endogen. Arginin dipecah oleh suatu enzim bernama *Nitrit Oxide Synthases* (NOS) menjadi *citrulline* dan NO. *Nitrit Oxide* yang dihasilkan arginin ini mempunyai dua

peranan penting terhadap spermatozoa. Yang pertama, meningkatkan motilitas spermatozoa dengan cara meningkatkan *metabolism rate* serta kadar kalsium dalam mitokondria dan menghasilkan ATP lebih banyak. Pada akhirnya ATP ini digunakan sebagai sumber energi motilitas spermatozoa. Yang kedua yaitu melindungi membran aksonema dari proses peroksidasi lipid karena keadaan stres oksidatif (Srivastava dkk., 2006). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pemberian ekstrak etanol jahe merah dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan dosis tunggal 600 mg/kgBB mampu memperbaiki jumlah, viabilitas, motilitas dan morfologi spermatozoa dari kerusakan akibat pemberian herbisida *paraquat*. Akan tetapi pemberian ekstrak etanol jahe merah pada dosis 600 mg/bb selama 35 hari menyebabkan penurunan motilitas dan morfologi normal spermatozoa sehingga efek yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400mg/kgBB bahkan dengan kontrol negatif atau dapat dikatakan pada dosis 600 mg/kgBB tidak berfungsi sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitriana (2015) bahwa, pemberian ekstrak jahe merah 600 mg//kgBB selama 21 hari ternyata menyebabkan motilitas dan morfologi normal spermatozoa menurun. Menurut penelitian Srivastava dkk., (2006) didalam jahe merah terdapat kandungan kusus arginin yang merupakan prekursor dari *Nitrit Oxide* (NO) endogen. Sifat dasar NO bukan hanya sebagai imunomodulator, vasodilator, atau neurotransmitter, tetapi juga sebagai zat oksidan. Maka ketika kadarnya berlebih dalam tubuh dan sudah tidak dapat dikompensasi maka fungsinya berbalik menjadi membahayakan sel-sel tubuh termasuk spermatozoa.

KESIMPULAN

- a) Ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* roxb Var. *Rubrum*) mengandung antioksidan dengan memperlihatkan efektivitas dalam

meningkatkan jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*L.) dari kerusakan akibat induksi *paraquat diklorida*.

3

- b) Pemberian ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale roxb* Var. *Rubrum*) dosis 400 mg/BB merupakan dosis yang efektif dalam meningkatkan motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*L.) dari kerusakan akibat induksi *paraquat diklorida*.

3

- c) Pemberian ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale roxb* Var. *Rubrum*) dosis 600 mg/BB tidak dapat memperbaiki motilitas dan morfologi spermatozoa yang induksi *paraquat diklorida*.

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL JAHE MERAH (Zingiber Officinale Roxb var Rubrum) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (Mus musculus L.) YANG DIINDUKSI PARAQUAT DIKLORIDA

ORIGINALITY REPORT

19%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	repository.ipb.ac.id Internet	81 words — 4%
2	repository.uinjkt.ac.id Internet	71 words — 3%
3	repository.ub.ac.id Internet	65 words — 3%
4	eprints.undip.ac.id Internet	54 words — 3%
5	journal.unair.ac.id Internet	32 words — 2%
6	eprints.uns.ac.id Internet	15 words — 1%
7	repo.unand.ac.id Internet	14 words — 1%
8	eprints.ums.ac.id Internet	11 words — 1%
9	jurnal.unissula.ac.id Internet	9 words — < 1%

10	repository.radenintan.ac.id Internet	9 words — < 1%
11	jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id Internet	9 words — < 1%
12	talenta.usu.ac.id Internet	9 words — < 1%
13	repository.unissula.ac.id Internet	8 words — < 1%
14	e-perpus.unud.ac.id Internet	7 words — < 1%
15	jurnal.untan.ac.id Internet	6 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES OFF
EXCLUDE OFF
BIBLIOGRAPHY

EXCLUDE MATCHES OFF