

## **Pemberian Pollen Trigona terhadap Ketebalan Endometrium pada Tikus Putih yang Dipapar Asap Rokok**

(ADMINISTRATION OF TRIGONA POLLEN ON ENDOMETRIAL THICKNESS IN WHITE MICE EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE)

**Nurul Amira<sup>1</sup>, Desak Nyoman Dewi Indira Laksmi<sup>2\*</sup>, Ni Luh Eka Setiasih<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali Indonesia;

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali Indonesia;

<sup>3</sup>Laboratorium Histologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali Indonesia.

\*Email: [dewiindira@unud.ac.id](mailto:dewiindira@unud.ac.id)

### **Abstrak**

Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas. Asap rokok yang terhirup dapat menyebabkan gangguan pada organ reproduksi salah satunya gangguan pada endometrium. Pengaruh radikal bebas dari asap rokok terhadap endometrium dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan. Salah satu sumber antioksidan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat pada saat ini adalah *bee pollen trigona*. Secara umum *bee pollen trigona* mengandung banyak nutrisi, antioksidan serta fitoestrogen yang sangat bermanfaat bagi tubuh. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap menggunakan 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol (P0) hanya dipapar dengan asap rokok, perlakuan 1 (P1) di papar dengan asap rokok dan diberi 9 mg *bee pollen trigona*, serta perlakuan 2 (P2) tikus dipapar dengan asap rokok dan diberikan *bee pollen trigona* 18 mg. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dengan sebelumnya dilakukan masa adaptasi selama 7 hari. Setelah 14 hari dilakukan swab vagina terhadap semua tikus untuk mengetahui masa estrusnya, jika ditemukan tikus dalam masa estrus maka tikus segera dikorbankan untuk diambil sampel uterusnya dan dibuat preparat histologi dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Variabel yang diperiksa adalah ketebalan endometrium. Analisis data dilakukan dengan menguji homogenitas data, kemudian dilanjutkan dengan uji Analysis of Variance (ANOVA) dan uji Games-Howell. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) pada P0, P1, dan P2. Dari analisis data dapat disimpulkan bahwa pemberian *bee pollen trigona* dapat meningkatkan ketebalan endometrium tikus putih.

Kata kunci: *Bee pollen trigona*; endometrium; tikus putih (*Rattus norvegicus*)

### **Abstract**

Cigarette smoke is a source of free radicals. Inhaled cigarette smoke can cause disturbances in the reproductive organs, one of which is a disorder in the endometrium. The effect of free radicals from cigarette smoke on the endometrium can be reduced by giving antioxidants. One source of antioxidants that is widely consumed by the public at this time is *bee pollen trigona*. In general, *bee pollen trigona* contains many nutrients, antioxidants and phytoestrogens that are very beneficial for the body. This study was experimental in a completely randomized design using 18 white rats (*Rattus norvegicus*) which were divided into 1 control group and 2 treatment groups. The control group (P0) was only exposed to cigarette smoke, treatment 1 (P1) was exposed to cigarette smoke and given 9 mg of *bee pollen trigona*, and treatment 2 (P2) rats were exposed to cigarette smoke and given 18 mg of *bee pollen trigona*. The treatment was carried out for 14 days with an adaptation period of 7 days previously. After 14 days, vaginal swabs were carried out on all rats to determine the period of estrus, if found rats in estrus, the rats were immediately sacrificed for uterine samples and histological

preparations were made with Hematoxylin-Eosin staining. The variable examined was the thickness of the endometrium. Data analysis was carried out by testing the homogeneity of the data, then continued with the Analysis of Variance (ANOVA) test and the Games-Howell test. The results of this study indicate that there is a significant difference ( $P < 0.05$ ) at P0, P1, and P2. From the data analysis, it can be concluded that the administration of bee pollen trigona can increase the thickness of the endometrium in white rats.

Keywords: *Bee pollen* trigona; endometrium; white rats

## PENDAHULUAN

Indonesia menduduki peringkat ketiga negara dengan konsumsi rokok terbesar didunia setelah China dan India (WHO, 2013). Asap rokok yang terhirup dapat menyebabkan penyakit berbahaya salah satunya pada organ reproduksi yang menyebabkan gangguan seperti kemandulan (sulit untuk hamil), gangguan haid, gangguan kehamilan, perkembangan janin dan early menopause (Febriyeni, 2010). Menurut Wulandari (2016) asap utama terdiri dari 8% fase tar dan 95% fase gas. Fase gas asap rokok berisi hingga  $10^{14}$  radikal bebas dan zat-zat reaktif per kepuluan asap rokok. Radikal bebas dan oksidan yang terdapat pada fase gas asap rokok memiliki waktu paruh pendek namun senyawa tersebut dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan kerusakan oksidatif makromolekul. Radikal tersebut dapat menembus membran sel dan dapat menginduksi stres oksidatif (Pryor, 1997). Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan tubuh. Pada kondisi stres oksidatif, terjadi peningkatan jumlah *reactive oxygen species* (ROS) di dalam tubuh (Haliwell & Gutteridge, 1999). Menurut Adytia *et al.* (2014) dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian asap rokok (3 batang/hari) pada tikus selama 14 hari mengakibatkan peningkatan kadar MDA. Selain itu menurut Febriyeni (2010) pengaruh asap rokok terhadap kadar hormon estradiol pada tikus putih betina hasilnya asap rokok menurunkan hormon estradiol pada tikus putih. Hormon estradiol merupakan bentuk hormon estragon yang terdapat pada hewan. Diketahui ketebalan endometrium

mengalami peningkatan seiring meningkatnya kadar estrogen. Pengaruh radikal bebas dari asap rokok terhadap endometrium dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan.

Secara umum *bee pollen* trigona mengandung banyak nutrisi dan antioksidan seperti flavonoid dan Vitamin C. Komponen fenolik dari *bee pollen* trigona dilaporkan menunjukkan tingkat antioksidan yang tinggi untuk menangkal radikal (Carpes *et al.*, 2007; Eraslan *et al.*, 2009). Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang dapat mengurangi kadar radikal bebas di dalam tubuh, sehingga kadar ROS dalam tubuh juga akan menurun. Komponen senyawa fenolik bersifat polar dan memiliki kemampuan antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Winarsi 2007). Selain itu fitoestrogen termasuk isoflavon, flavonol, dan lignan merupakan bahan aktif utama dari *bee pollen* trigona yang memiliki manfaat hormonal untuk pria dan wanita. Fitoestrogen sangat mirip dengan struktur kimia estrogen mamalia yaitu estradiol dan dapat mengikat reseptor estrogen (Sirotkin dan Harrath, 2014). Laksmi *et al.* (2021) mengatakan estrogen merupakan hormon pada wanita yang mengatur siklus menstruasi, kesuburan, menopause dan memiliki kontribusi yang signifikan bagi tubuh manusia. Aini *et al.* (2020) pada penelitiannya menyatakan bahwa kemampuan fitoestrogen dalam ekstrak oncom untuk berikatan dengan reseptor estrogen menstimulasi proliferasi sel sehingga terjadi penebalan endometrium.

## METODE PENELITIAN

### Objek penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan coba berupa tikus putih betina berumur 3-4 bulan, dengan berat  $\pm 200$  gram. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung berdasarkan rumus statistik RAL yaitu  $t(n-1) \geq 15$ , dimana  $t$  adalah jumlah perlakuan dan  $n$  adalah banyaknya ulangan tiap perlakuan. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan menggunakan 6 ekor tikus, sehingga jumlah seluruh tikus yang digunakan adalah 18 ekor. Spesimen yang digunakan adalah uterus dari hewan coba yang telah diberi perlakuan.

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan yaitu *bee pollen* trigona dengan merek dagang K-Kelle. Metanol, giemsa, NaCl fisiologis, dan pakan mencit berupa konsentrat (HI-GRO 551 Charoen Pokphand). Untuk dosis *bee pollen* yang diberikan yaitu 9 mg/dosis. Menurut Laurence dan Bacharach (1964) konversi perhitungan dosis dari manusia (70kg) ke tikus (200g) yaitu sebesar 0,018. Jadi berdasarkan rumus yang ada yaitu faktor konversi dosis manusia (70kg) ke tikus (200g) = 0.018

### Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan. 1 ekor tikus sebagai kontrol, dan masing-masing 9 ekor tikus untuk 2 perlakuan:

P<sub>0</sub>: Tikus dirusak dengan rokok (kontrol)

P<sub>1</sub>: Tikus dirusak dengan rokok dan diberikan *bee pollen* 1 kali sehari (9 mg)

P<sub>2</sub>: Tikus dirusak dengan rokok dan diberikan *bee pollen* 2 kali sehari (2x9 mg)

### Variabel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan 3 variabel yaitu variabel bebas, terikat dan kendali. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis *bee pollen* trigona dan asap rokok. Variabel kendali terdiri dari umur, jenis kelamin, berat badan, jenis makanan,

spesies, lingkungan, dan minum. Sedangkan untuk variabel terikatnya adalah endometrium tikus putih dengan melihat ketebalannya.

### Analisis Data

Data yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas data. Setelah itu data dianalisis dan dibandingkan menggunakan Analysis of Variance (ANOVA)-SPSS dengan taraf kepercayaan 95% nilai sig  $\alpha = 0,05$  dan dilanjutkan dengan uji Games-Howell.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Berdasarkan pengamatan ketebalan endometrium terhadap P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, dan P<sub>2</sub> didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan nyata pada ketiga perlakuan.

Hasil rerataan menunjukkan bahwa ketebalan endometrium pada P<sub>2</sub> lebih tebal dibandingkan P<sub>0</sub> dan P<sub>1</sub> dengan nilai rerata 951,624. Sedangkan rerataan P<sub>0</sub> dan P<sub>1</sub> masing-masing sebesar 452,078 dan 668,383. Hasil analisis Games-Howell juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada P<sub>0</sub> dan P<sub>1</sub> dengan nilai signifikansi 0,004 ( $P < 0,05$ ), pada kelompok P<sub>0</sub> dan P<sub>2</sub> nilai signifikansinya yaitu 0,001 ( $P > 0,05$ ), dan pada kelompok P<sub>1</sub> dan P<sub>2</sub> yaitu 0,013 ( $P > 0,05$ ). Hasil analisis data statistika diatas menunjukkan bahwa perlakuan dengan *bee pollen* berpengaruh terhadap ketebalan endometrium. Semakin tinggi jumlah *bee pollen* maka endometrium semakin tebal. Hasil pemeriksaan histologi sesuai kelompok perlakuan disajikan pada gambar 5.

### Pembahasan

Asap rokok adalah salah satu jenis radikal bebas yang berasal dari luar tubuh. Produk radikal bebas yang dihasilkan berbentuk spesies oksigen reaktif (ROS). Pada konsentrasi tinggi ROS menghasilkan stress oksidatif yang dapat merusak struktur sel. Mekanisme kerusakan sel akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan

terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Efek oksidatif radikal bebas terhadap lipid membran sel membentuk peroksida. Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai, yaitu radikal bebas yang terbentuk akan selalu bereaksi dengan lipid membran sel yang lain menghasilkan radikal-radikal baru, dan berakhir dengan terbentuknya MDA yang bersifat toksik.

Tikus kontrol (P0) yang dipapar dengan asap rokok tanpa diberikan *bee pollen* memiliki tingkat ketebalan endometrium lebih rendah dibandingkan dengan P1 dan P2 yang dipapar dengan asap rokok dan diberikan *bee pollen*. Hal ini dikarenakan radikal bebas yang berasal dari asap rokok diketahui dapat merusak sel. Penyebab lain P1 dan P2 memiliki ketebalan endometrium lebih tinggi dibanding P0 yaitu dikarenakan *bee pollen* yang diberikan memiliki aktivitas antioksidan yang disebabkan karena adanya senyawa fenolik, dengan antioksidan yang paling banyak ditemukan pada *bee pollen* yaitu flavonoid dan vitamin C. Dimana senyawa tersebut dapat mencegah radikal bebas dengan cara melepaskan elektron dan berikatan dengan radikal bebas sehingga menjadi netral.

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan yaitu mendonorkan ion hidrogen sehingga menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Selain itu Vitamin C juga mendonorkan elektronnya untuk mencegah senyawa-senyawa lain agar tidak teroksidasi. Aktivitas antioksidan memiliki peranan untuk perlindungan terhadap sel target dari toksisitas. Beberapa polifenol memiliki peranan sebagai antioksidan dengan menjaga sel dari kerusakan oksidatif dengan menetralkan oksidan reaktif. Dari penelitian Hanum *et al.* (2018) didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak bit merah *Beta vulgaris L.* yang berperan sebagai antioksidan mampu meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus betina *Rattus norvegicus* yang terpapar asap rokok. Selain itu dari penelitian Tethun (2019), pemberian ekstrak etanol brokoli

yang mengandung flavonoid dapat meningkatkan jumlah arteriol endometrium tikus putih wistar yang dipapar MSG.

Selain itu *bee pollen* juga mengandung fitoestrogen termasuk isoflavan, flavonol, dan lignan sebagai bahan aktif utama yang memiliki manfaat hormonal untuk pria dan wanita. Fitoestrogen sangat mirip dengan struktur kimia estrogen mamalia yaitu estradiol dan dapat mengikat reseptor estrogen (Sirotkin dan Harrath, 2014). Reseptor estrogen yang ada didalam tubuh hewan betina memiliki dua jenis reseptor yaitu, reseptor estrogen alfa ( $RE\alpha$ ) dan reseptor estrogen beta ( $RE\beta$ ).  $RE\alpha$  ini lebih banyak terdistribusi pada jaringan penyusun organ reproduksi, sedangkan  $RE\beta$  lebih banyak terdistribusi pada jaringan diluar organ reproduksi

Dari penelitian Aini *et al.* (2020), fitoestrogen juga memiliki kemampuan untuk berikatan dengan reseptor estrogen yang dapat menstimulasi proliferasi sel sehingga terjadi penebalan endometrium. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Asdhita (2018) yang menyatakan bahwa pemberian fitoestrogen dari ekstrak kecambah kacang hijau mampu meningkatkan ketebalan endometrium. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Aini *et al.* (2020) dimana pada penelitiannya didapatkan hasil yaitu, peningkatan ketebalan endometrium disebabkan oleh adanya senyawa aktif dari ekstrak oncom hitam dan ekstrak oncom merah yaitu isoflavan genistein dan daidzein yang memengaruhi ketebalan jaringan endometrium.

Hasil analisis data menunjukkan dari ketiga kelompok perlakuan terdapat perbedaan nyata. Kelompok P2, tikus diberikan 18mg *bee pollen* setiap harinya selama 14 hari memiliki tingkat ketebalan endometrium lebih tinggi dibandingkan dengan P1 yang hanya diberikan 9mg *bee pollen*. P1 memiliki ketebalan endometrium yang lebih tinggi daripada P0 yang tidak diberikan *bee pollen*. Aksi fitoestrogen yang terdapat pada *bee pollen*

menyebabkan proliferasi lapisan endometrium, termasuk kelenjar endometrial. Hal inilah yang menyebabkan dinding uterus semakin tebal. Pada penelitian ini, diduga kandungan fitoestrogen memiliki afinitas lebih kuat pada RE $\alpha$  yang menyebabkan distribusi pada jaringan penyusun organ reproduksi lebih banyak sehingga kerjasama antara reseptor estrogen dan fitoestrogen memicu respon seluler salah satunya pada jaringan endometrium. Kemudian, kadar estrogen pada uterus akan semakin banyak dan memicu terjadinya proliferasi sel serta peningkatan pertumbuhan kelenjar pada endometrium yang mengakibatkan lapisan endometrium menebal.

Mekanisme sintesis hormon estrogen yang bisa berpengaruh terhadap tebal endometrium yaitu melalui sintesis hormon estrogen pada sel yang ada pada endometrium. Aktivitas estrogen didalam sel terjadi ketika estrogen berikatan dengan reseptor. Estrogen dan reseptor kemudian mengalami difusi ke dalam nukleus dan melekat pada DNA. DNA yang berikatan dengan estrogen-reseptor merangsang sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga aktivitas sel target naik, dan terjadi proliferasi (Johnson dan Everitt, 1988).

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian asap rokok bersamaan dengan *bee pollen* dapat mencegah radikal bebas dan meningkatkan ketebalan endometrium.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar hormon estrogen dalam serum. Serta untuk dilakukan penelitian terhadap jumlah folikel pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) untuk mengetahui korelasi antara jumlah folikel dengan ketebalan endometrium.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Veteriner Wilayah VI Denpasar, Laboratorium Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adyitia A, Untari EK, Wahdaningsih S. 2014. Efek ekstrak etanol daun *Premna cordifolia* terhadap malondialdehidatikus yang dipapar asap rokok. *J. Pharm. Sci.* 1(2): 104-115.
- Aini HAN, Laksmi DNDI, Setiasih NLE, Purbantoro SD. 2020. Pemberian ekstrak oncom hitam dan merah memperpanjang siklus estrus dan mempertebal endometrium tikus putih. *J. Vet.* 21(4): 558-564.
- Asdhita LR. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus Radiatus*) Terhadap Berat Uterus Dan Ketebalan Dinding Uterus Pada Kelinci New Zealand White (*Oryctolagus Cuniculus*) pasca induksi. *Thesis.* Universitas Brawijaya.
- Carpes ST, Begnini R, Matias DAS, Masson ML. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antiradical activity. *Ciênc. Agrotec. Lavras.* 31(6): 1818-1825.
- Eraslan G, Kanbur M, Silici S, Liman BC, Altınordulu S, Sarıca ZS. 2009. Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat. *J. Ecotoxocol. Environ. Safety.* 72(3): 931-937.
- Febriyeni. 2010. Pengaruh asap rokok terhadap kadar hormon estradiol dan progesteron pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Thesis.* Padang: Universitas Andalas.
- Haliwell B, Gutteridge JM. 1999. Free radicals, reactive species and toxicology. In: Free radicals in biology and med. *World J. Neurosci.* 1(3): 617-783.

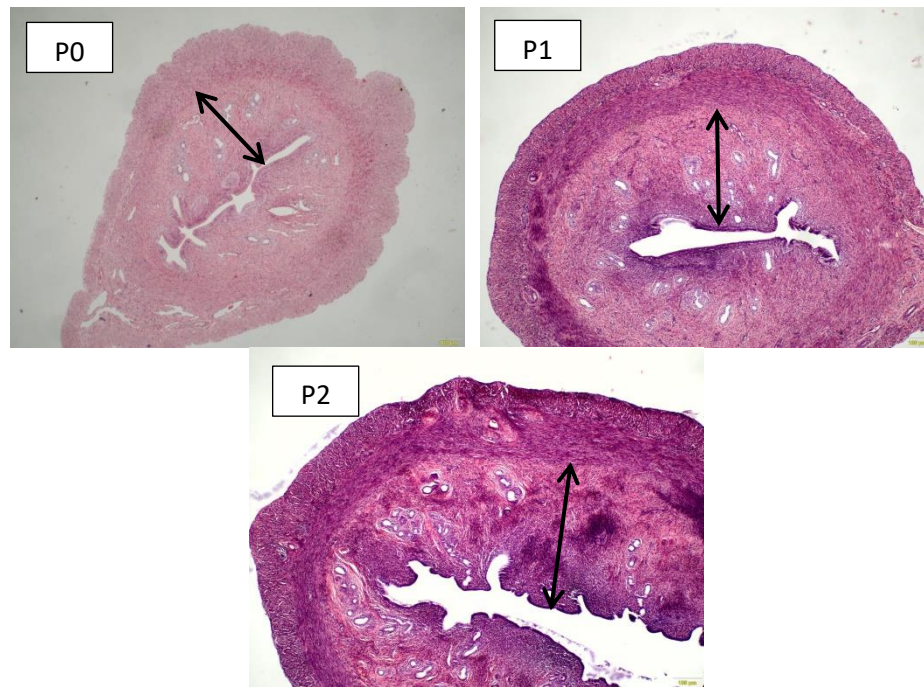
- Hanum Z, Dewita, Handoko K, Nurdiana, Sriwahyuni E. 2018. Pengaruh ekstrak bit merah (*Beta vulgaris L.*) terhadap VEGF, dan ketebalan endometrium pada tikus (*Rattus norvegicus*) dipapar asap rokok. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
- Johnson MH, Everitt. 1988. *Essential reproduction*. 3<sup>rd</sup> Ed. Blackwell Sci. Publ. London.
- Laksmi DNDI, Setiasih NLE, Trilaksana IGNB. 2021. Effect of oncom extract on the level of estrogen hormone of productive white rats. *Bali Med. J.* 10(2): 559-561.
- Pryor WA. 1997. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ. Health Perspect.* 105: 875-882.
- Sirotkin AV, Harrath AH. 2014. Phytoestrogen and their effects. *Eur. J. Pharmacol.* 741(92014): 230-236.
- Tethun, TMD. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap jumlah arteriol endometrium tikus putih wistar yang dipapar monosodium glutamat (MSG). *Thesis*. Universitas Brawijaya.
- Winarsi HMS. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas: potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*. Cetakan 5. Kanisius. Yogyakarta
- World Health Organization. 2013. Retrived from WHO website [http://www.who.int/tobacco/surveillance/policy/country\\_profile/idn.p](http://www.who.int/tobacco/surveillance/policy/country_profile/idn.p)
- Wulandari E. 2016. Efek ekstrak kulit buah rambutan terhadap kadar MDA dan SOD tikus yang dipapar asap rokok. *Thesis*. Universitas Negeri Semarang.

Tabel 1. Rerataan dan standar deviasi pada ketiga perlakuan

Perlakuan	Rerataan ± standar deviasi
P0	452,08 ± 26,63 <sup>a</sup>
P1	668,38 ± 90,78 <sup>b</sup>
P2	951,62 ± 158,20 <sup>c</sup>

Keterangan :

- P0 : Kontrol
- P1 : Perlakuan 1 (*Bee pollen* 9mg)
- P2 : Perlakuan 2 (*Bee pollen* 18mg)
- Superskrip (a, b, c) yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata (P<0,05).



Gambar 5. Hasil pengukuran ketebalan endometrium tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara mikroskopis menggunakan metode pewarnaan HE dengan perbesaran 40x. Yang ditunjukkan oleh tanda panah adalah endometrium. P0 merupakan kontrol yang tidak diberikan perlakuan dan hanya dirusak dengan asap rokok. P1 merupakan perlakuan 1, tikus dirusak dengan asap rokok dan diberikan *bee pollen* sebanyak 9mg. P2 merupakan perlakuan 2 yaitu tikus dirusak dengan asap rokok dan diberikan *bee pollen* sebanyak 18mg.