

PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) TERHADAP PENINGKATAN SPERMATOGENESIS TIKUS WISTAR YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

*The Effect of Black Seed (*Nigella sativa* L.) Oil on Spermatogenesis of Wistar Rats Exposed by Cigarette Smoke*

Mujahidatul Musfiroh¹ dan Sri Gustari²

¹Program Studi Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta

²Bagian Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
E-mail: miedha_74@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap spermatogenesis tikus Wistar yang terpapar asap rokok. Jenis penelitian adalah eksperimental murni dengan subyek 24 ekor tikus yang terpapar asap rokok selama 21 hari dan dirandomisasi dalam 4 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian minyak jintan masing-masing 0,1; 0,2; dan 0,3 ml. Penegakan hipotesis dilakukan dengan menggunakan Kruskal-Wallis dan Mann Whitney dengan batas derajat kemaknaan $P \leq 0,05$, interval kepercayaan 95%. Pemberian minyak jintan hitam dapat memperbaiki derajat spermatogenesis.

Kata kunci: minyak jintan hitam, spermatogenesis, paparan asap rokok

ABSTRACT

This research aims to identify the effects of Black seed (*Nigella sativa* L.) oil on spermatogenesis of Wistar rat exposed to cigarette smoke. This research was categorized into an experimental research design, using 24 mice exposed to cigarette smoke for 21 consecutive days, then grouped randomly into 4 groups. Group 1 was a control group and group 2, 3, and 4 were treated with black seed oil 0.1 ml, 0.2 ml, and 0.3 ml, respectively. The hypothesis was tested with by Kruskal-Wallis and Mann Whitney with $P \leq 0.05$ and confident interval of 95%. The administration of black seed oil was able to improve the spermatogenesis score ($P = 0.04$) in treated mice.

Key words: *Nigella sativa* L. oil, spermatogenesis, cigarette smoke exposure

PENDAHULUAN

Merokok merupakan kebiasaan yang mengancam kehidupan manusia di dunia. Kebiasaan merokok dapat menyebabkan satu dari sepuluh kematian orang dewasa di seluruh dunia dan mengakibatkan 5,4 juta kematian pada tahun 2006. Kebiasaan merokok merupakan penyebab impotensi sebesar 16,8% (Aula, 2010). Penelitian bidang kesehatan reproduksi memfokuskan perhatian terhadap penelitian tentang *reactive oxygen species* (ROS) yang menjadi salah satu mediator terjadinya infertilitas dewasa ini. Produksi ROS akan meningkat dengan adanya pengaruh dari lingkungan dan faktor gaya hidup seperti polusi dan merokok (Agarwal, 1999).

Polynuclear aromatic hydrogen (PAH) yang terkandung dalam asap rokok dapat menyebabkan atrofi testis, menghambat spermatogenesis, dan merusak morfologi spermatozoa (Revel *et al.*, 2001). Pemaparan nikotin menghambat sel Leydig mensekresi hormon testosteron. Nikotin dalam asap rokok juga memengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan cara menghambat kerja *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) sehingga pembentukan *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) terhambat. Dengan terhambatnya pembentukan FSH dan LH, maka spermatogenesis berjalan tidak normal (Pacifici *et al.*, 1993).

Unsur-unsur kimia dalam jintan hitam (*Nigella sativa* L.), antara lain: air, protein, lemak, kalsium, vitamin A, vitamin B2, asam askorbat, niasin, fiber, abu, dan energi kalor. Selain unsur-unsur kimia di atas, jintan hitam juga mengandung minyak esensial, 15 asam amino (alanin, arginin, isoleusin, lisin, triptofan, tirosin, treonin, asparagin, sistin, glisin, asam glutamat, metionin, dan prolin), zat besi, natrium, kalium, tiamin, riboflavin, piridoxin, niasin, *copper*, dan *zinc*. Kandungan utama pada jintan hitam adalah *thymoquinone* (TQ), *dithymoquinone* (DTQ), *thymohidroquinone* (THQ), dan *thymol* (THY) yang berperan sebagai anti-oksidan. Selain itu, *Nigella sativa* L juga mengandung *nigellon* dan *glutathion* yang berfungsi sebagai protektor atau melindungi tubuh dari berbagai bahaya zat-zat asing (*xenobiotics*) (Sulaiman, 2008).

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan efek minyak jintan hitam terhadap spermatogenesis tikus Wistar yang terpapar asap rokok. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memberikan dasar ilmiah penggunaan jintan hitam dalam memengaruhi derajat spermatogenesis dan memberikan alternatif pengobatan untuk meningkatkan dan memperbaiki fertilitas pria melalui pengobatan dengan harga yang lebih terjangkau.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental *randomized post test only controlled group design*. Hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor tikus Wistar jantan berumur sekitar 8 minggu, bobot badan 200-250 g, kondisi sehat, tidak terdapat kelainan anatomis, dan sudah pernah mempunyai anak. Seluruh tikus dibagi atas empat kelompok perlakuan yakni kontrol (K) dan kelompok perlakuan yakni P1, P2, dan P3 yang masing-masing diberi minyak jantan 0,1; 0,2; dan 0,3 ml selama pemaparan asap rokok. Pemaparan asap rokok dilakukan setiap hari selama 21 hari. Pada hari ke-22 semua hewan uji dikorbankan. Hewan coba diterminasi dengan cara dibius menggunakan kloroform kemudian dibedah untuk mengambil potongan testis. Testis yang telah diambil difiksasi dengan formalin dan selanjutnya dibuat preparat histopatologis dengan pewarnaan hematoxilin-eosin (HE).

Penilaian terhadap spermatogenesis dilakukan dengan menilai proses atau tahapan spermatogenesis dari satu sel sperma yang dilihat dari preparat histopatologis testis di bawah mikroskop dengan pembesaran 200x. Spermatogenesis dinilai dengan menggunakan kriteria Johnson (Juan, 1995). Kriteria Johnson menilai secara kuantitatif elemen sel benih dan hubungan antara spermatogenesis dengan kepadatan spermatozoa pada cairan seminalis. Kriteria Johnson memiliki skor 1-10 seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Penilaian spermatogenesis berdasarkan kriteria Johnson (Juan, 1995)

Skor	Penilaian
1	Tidak terdapat <i>germ cell</i> dan sel Sertoli
2	Tidak terdapat <i>germ cell</i>
3	Hanya terdapat spermatogonia
4	Hanya terdapat beberapa spermatosit
5	Tidak terdapat spermatozoa dan spermatid tetapi banyak terdapat spermatosit
6	Hanya terdapat beberapa spermatid
7	Tidak terdapat spermatozoa tetapi terdapat banyak spermatid
8	Hanya terdapat beberapa spermatozoa
9	Banyak terdapat spermatozoa tetapi tidak terdapat spermatogenesis yang lengkap
10	Spermatogenesis yang lengkap serta tubulus seminiferus yang sempurna

Data dari hasil penelitian diolah menggunakan analisis deskriptif dan dilanjutkan dengan analisis inferensial. Analisis inferensial yang digunakan yaitu teknik komparatif dengan Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan melakukan analisis Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan atau antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis, diketahui bahwa pemberian minyak jantan hitam menunjukkan perbedaan spermatogenesis pada kelompok perlakuan

dibandingkan kelompok kontrol. Data spermatogenesis pada kelompok yang tidak diberikan minyak jantan hitam (kontrol) menunjukkan nilai minimum 7,00 dan nilai maksimum 8,00 dengan rerata 7,67 dan median 8,00 serta standar deviasi 0,516. Data spermatogenesis pada kelompok yang diberikan minyak jantan hitam 0,1, 0,2, dan 0,3 ml (perlakuan) secara berurutan menunjukkan nilai minimum 8,00; 8,00; dan 8,00; nilai maksimum 9,00; 9,00; dan 9,00 dengan rerata 8,33; 8,50; dan 8,67; median 8,00; 8,50; dan 9,00 serta standar deviasi 0,516; 0,548; dan 0,516. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian minyak jantan hitam berpengaruh terhadap perbaikan spermatogenesis. Hasil analisis inferensial dengan Kruskal Wallis menunjukkan bahwa derajat spermatogenesis $P=0,04$, sehingga terdapat perbedaan bermakna nilai spermatogenesis antara ke-4 kelompok perlakuan.

Hasil analisis pengaruh pemberian minyak jantan hitam terhadap derajat spermatogenesis antar kelompok dianalisis menggunakan uji Mann Whitney. Hasil analisis Mann Whitney menunjukkan adanya perbedaan bermakna nilai spermatogenesis antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan minyak jantan hitam 0,3 ml, sedangkan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan minyak jantan hitam 0,1 dan 0,2 ml tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Hasil analisis Mann Whitney antar kelompok yang diberikan minyak jantan hitam juga tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna.

Perbedaan antar kelompok kontrol dan perlakuan disebabkan minyak jantan hitam mengandung *thymoquinone* yang berperan sebagai anti-oksidan, sehingga dapat memperbaiki viabilitas, motilitas, abnormalitas morfologi spermatozoa, dan derajat spermatogenesis akibat paparan radikal bebas dari asap rokok (Ali dan Ali, 2007). Selain itu minyak jantan hitam juga mengandung asam lemak yang tinggi, sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim 17 beta-hidroksisteroid dehidrogenase yang merupakan salah satu enzim yang terlibat dalam sintesis testosteron (Maneesh dan Jayalekshmi, 2006).

Parandin *et al.* (2012) menunjukkan bahwa ekstrak alkohol biji jantan hitam pada dosis 200 dan 400 mg/kg bobot badan dan pemberian selama 60 hari dapat meningkatkan parameter fertilitas, antara lain: berat organ reproduksi, motilitas sperma, viabilitas dan produksi sperma, cadangan sperma dalam epididimis, konsentrasi hormon testosteron dalam darah, dan kadar gonadotropin. Ekstrak alkohol dari jantan hitam dapat meningkatkan kesuburan, LH, dan testosteron tikus. Pemberian minyak jantan hitam dapat memperbaiki viabilitas, motilitas, pergerakan spermatozoa, dan morfologi spermatozoa pada tikus yang terpapar asap rokok (Musfiroh *et al.*, 2012).

Thymoquinone yang terdapat dalam jantan hitam dapat berfungsi sebagai *scavenger* dan dapat menurunkan aktivitas enzim anti-oksidan maupun anti-oksidan lain. Hal ini akan menyebabkan peningkatan *host oxidant attack* (Mansour *et al.*, 2002). Komponen

utama dari respons imun manusia adalah *cell mediated* dan bagian dari respons tersebut adalah teroksidasi radikal bebas oleh ROS yang dikeluarkan oleh sel-sel efektor seperti makrofag, eosinofil, neutrofil, dan platelet. Proses pertahanan tubuh terhadap ROS yaitu dengan mengembangkan sistem enzim anti-oksidan (Mukhallad *et al.*, 2009). Gokce *et al.* (2011) melaporkan bahwa pemberian *thymoquinone* dapat menurunkan efek destruktif *metotrexat* pada jaringan testis.

Asap rokok dapat menyebabkan gangguan keseimbangan fisiologis ROS dalam tubuh sehingga diperlukan anti-oksidan untuk mencegah gangguan keseimbangan ROS dan masuknya radikal bebas ke dalam tubuh secara berlebihan. Anti-oksidan yang dapat digunakan yaitu jintan hitam. Berdasarkan hasil analisis data penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian minyak jintan hitam secara bertingkat menunjukkan perbaikan spermatogenesis pada tikus yang terpapar asap rokok pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil ini sesuai dengan laporan Mukhallad *et al.* (2009), bahwa pemberian jintan hitam dapat meningkatkan berat organ reproduksi, meningkatkan motilitas sperma, meningkatkan jumlah spermatisit dan spermatisid dalam spermatogenesis pada tubulus seminiferus, serta memberikan hasil yang signifikan terhadap peningkatan motilitas spermatozoa tikus Wistar. Pemberian minyak jintan hitam juga memberikan efek peningkatan konsentrasi spermatozoa dan perbaikan spermatogenesis seperti yang dilaporkan Al-Sa'aidi *et al.* (2009).

Nikotin yang terkandung dalam asap rokok cenderung mengurangi kualitas sperma dan memengaruhi susunan sel-sel spermatogenik, mengurangi motilitas, memberikan efek negatif pada spermatogenesis, dan berpengaruh pada epididimis sperma (Aydos, 2001; Ping, 2014). Pemberian minyak jintan hitam dapat meningkatkan kualitas sperma dan memperbaiki gambaran histologi testis tikus (Ping, 2014). Konsumsi jintan hitam sebagai anti-oksidan terhadap rokok tidak memberikan efek samping terhadap kerusakan organ hati, jantung, ginjal, dan pankreas (Al Mofleh *et al.*, 2008). Mohammad *et al.* (2013), melaporkan bahwa suplementasi jintan hitam selama 28 hari tidak mengubah parameter biokimia fungsi hati serta histopatologis hati sehingga konsumsi jintan hitam secara terus menerus tidak membahayakan dan tidak meracuni tubuh.

KESIMPULAN

Pemberian minyak jintan hitam dapat memperbaiki spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A. 1999. **Oxidative Stress in Male Infertility**. The Cleveland Clinic Foundation. Laboratory Research Andrology/Infertility. Ohio, US.
- Ali, A.B. and T.H. Ali. 2007. Beneficial effect of *nigella sativa* on the testis tissues of mice exposed to UV irradiation. **Paper**. Biology department, Education college, Mosul University, Irak.
- Al Mofleh, I.A., A.A. Alhaider, J.S. Mossa, M.O. Al-Sohaibani, M.A. Al-Yahya, and S. Rafatullah. 2008. Gastroprotective effect of an aqueous suspension of black cumin *nigella sativa* on necrotizing agents-induced gastric injury in experimental animals. **Saudi J. Gastroenterol.** 14(3):128-134.
- Al-Sa'aidi, J.A.A., A.L.D. Al-Khuzai, and N.F.H. Al-Zobaydi. 2009. Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats. **Iraqi J. Vet. Sci.** 23:123-128.
- Aula, L.E.. 2010. **Stop Merokok!**. Garailmu, Yogyakarta.
- Aydos, K., M.C. Güven, B. Can, and A. Ergün. 2001. Nicotine toxicity to the ultrastructure of the testis in rats. **BJU International.** 88(6):622-626.
- Gokce, A., S. Oktar, A. Koc, and Z. Yonden. 2011. Protective effects of thymoquinone against methotrexate-induced testicular injury. **Hum. Exp. Toxicol.** 30(8):897-903.
- Juan, R.M.D. 1995. **Ackerman's Surgical Pathology**. 8th ed. Mosby Inc, St. Louis, Missouri.
- Maneesh, M. and H. Jayalekshmi. 2006. Role of reactive oxygen species and antioxidants on pathophysiology of male reproduction. **Int. J. Clin. Biochem.** 21(2):80-89.
- Muhammad A.D., P. Saadat, A.L. Latiffah, and H. Mohammad. 2013. Toxicity effect of *Nigella sativa* on the liver function of rats. **Adv. Pharm. Bull.** 3(1):97-102
- Mukhallad, A.M., M.J.M. Mohammad, and D. Hatham. 2009. Effects of black seeds (*Nigella Sativa*) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. **J. Med. Med. Sci.** 4(2):386-390.
- Musfiroh, M., R. Muslim, and N. Wijayahadi. 2012. The effect of *Nigella sativa* L oil on wistar rat's spermatozoa quality exposed by cigarette smoke. **JINMA.** 62:178-182.
- Ping, N.C., N.H. Hashim, and D.S.H. Adli. 2014. Effect of *Nigella sativa* (Habbatus sauda) oil and nicotine chronic treatments on sperm parameters and testis histological features of rats. **Evid. Based Complement Alternat. Med.** 21:82-93.
- Pacifici, R., I. Altieri, L. Gandini, A. Lenzi, Simena, and P. Zuccaro. 1993. Nicotine, cotinine and trans -3- hydroxycotinine levels in seminal plasma of smokers: Effect on sperm parameters. **The Drug Monitor.** 15:358-363.
- Parandin, R., N. Yousofvand, and R. Ghorbani. 2012. The enhancing effects of alcoholic extract of *Nigella sativa* seed on fertility potential, plasma gonadotropins and testosterone in male rats. **Iran J. Reprod. Med.** 10(4):355-362.
- Revel, A., N. Raanani, E. Younglai, J. Xu, and R. Han. 2001. Resveratrol: A natural aryl hydrocarbon receptor antagonist, protect sperm from DNA damage and apoptosis caused by benzo(a) pyrene. **Reprod. Toxicol.** 15:479-486.
- Sulaiman, S. 2008. **Hidup Sehat dengan Habbatus Sauda'**. Al Qowam, Solo.