

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*)
TERHADAP INTEGRITAS MEMBRAN SPERMATOZOA DAN KADAR
MALONDIALDEHYDE MDA EPIDIDIMIS MENCIT (*MUS MUSULLUS*) YANG DIPAPAR
TIMBAL (Pb) ASETAT PERORAL**

Anni Yunia Pratiwi (NIM. 10620077)

Jurusan Biologi, Fakultas Sauns dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
annypratiwi77@gmail.com

ABSTRAK

Pb asetat merupakan salah satu sumber ROS yang dapat mengakibatkan peroksidasi lipid dan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang ditimbulkan oleh stress oksidatif. Salah satu yang ditimbulkan oleh stress oksidatif adalah terganggunya proses maturasi spermatozoa di dalam epididimis. Hal ini dapat di atasi dengan pemberian ekstrak etanol jintan hitam yang memiliki kandungan thymoquinone yang berperan sebagai antioksidan. Oleh karena itu tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol jintan hitam terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) dan integritas membran spermatozoa pada epididimis mencit yang dipapar Pb asetat peroral.

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan. Hewan coba yang digunakan adalah mencit strain balb/c jantan berumur 2-3 bulan yang berjumlah 25 ekor. Perlakuan dalam penelitian ini meliputi paparan timbal (Pb) 0,3 mg/gr BB/hari/oral selama 7 hari, dan pemberian ekstrak etanol jintan hitam dengan dosis 0,6 mg/gr BB, dosis 1,2 mg/gr BB, dan dosis 2,4 mg/gr BB selama 15 hari. Hasil yang diamati dalam penelitian ini adalah integritas membran spermatozoa dan kadar MDA epididimis, selanjutnya dianalisis dengan ANAVA tunggal. Apabila terdapat perbedaan yang sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT 1 %.

Hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam berpengaruh terhadap integritas membran spermatozoa dan kadar MDA yang dipapar Pb asetat peroral. Pemberian Dosis 0,6 mg/gr BB ekstrak etanol jintan hitam adalah dosis yang efektif dalam mempengaruhi integritas membran spermatozoa maupun mempengaruhi kadar MDA epididimis mencit yang dipapar Pb peroral.

Kata kunci: Pb Asetat, Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*), Kadar *Malondialdehyde* MDA, Integritas membran spermatozoa, mencit (*Mus musculus*)

ABSTRACT

Lead acetate is one of the sources of ROS can lead to lipid peroxidation and increased levels of *malondialdehyde* (MDA) induced by oxidative stress. One caused by oxidative stress is the disruption of the process of maturation of spermatozoa in the epididymis. This can be overcome by administration of ethanol extract of black cumin contains *thymoquinone* which act as antioxidants. Therefore the aim of this study to determine the effect of ethanol extract of black cumin on levels of *malondialdehyde* (MDA) and membrane integrity of spermatozoa in the epididymis of mice were exposed to lead acetate orally.

This study is an experimental study using completely randomized design (CRD) with 5 replications. Experimental animals used were mice strain Balb / c males aged 2-3 months who totaled 25 tails. The treatment in this study include the exposure of lead (Pb) 0.3 mg / g BW / day / orally for 7 days, and the ethanol extract of black cumin with a dose of 0.6 mg / g BB, a dose of 1.2 mg / g BB, and a dose of 2.4 mg / g BB for 15 days. The results observed in this study is the sperm membrane integrity and MDA levels epididymis, then analyzed by ANOVA single. If there is a very real difference then continued with LSD 1%.

ANAVA results showed that the ethanol extract of black cumin effect on sperm membrane integrity and MDA levels were exposed to lead acetate orally. Giving dose of 0.6 mg / g BB ethanol extract of black cumin is a dose that is effective in influencing sperm membrane integrity and affect levels of MDA epididymis of mice orally exposed to Pb.

Keywords: Pb Acetate, Ethanol Extract of Black Cumin (*Nigella sativa*), Malondialdehyde Levels of MDA, membrane integrity of spermatozoa, mice (*Mus musculus*)

PENDAHULUAN

Pencemaran atau polusi merupakan perubahan yang tidak dikehendaki yang meliputi perubahan fisik, kimia, dan biologi. Pencemaran banyak mengarah kepada pembuangan senyawa kimia tertentu yang semakin meningkat terutama akibat kegiatan industri dan transportasi (Soedomo, 2001). Timbal (Pb) adalah logam berat yang terdapat di kerak bumi dan tersebar ke alam dalam jumlah kecil melalui udara, debu, air dan makanan. Timbal di udara berasal dari penggunaan bahan bakar bertimbal yang dalam pembakarannya melepaskan timbal oksida membentuk debu/partikel yang dapat terhirup oleh manusia. Alat transportasi berbahan bakar yang mengandung timbal melepaskan 95 persen timbal yang mencemari udara. Sedangkan dalam air minum, timbal dapat berasal dari kontaminasi pipa, solder dan kran air. Kandungan timbal dalam air sebesar 15 mg/l dianggap sebagai konsentrasi yang aman untuk konsumsi. Dalam makanan, timbal berasal dari kontaminasi kaleng makanan, minuman dan solder yang tertimbal. Dalam aliran air sungai jenis industri yang menggunakan timbal dalam prosesnya seperti, industri pengolahan logam, kertas, baterai, elektronik dan sebagainya (Ferdiaz, 1992).

Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia misalnya untuk obat. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat adalah jintan hitam (*Nigella sativa*). Tumbuhan ini menghasilkan senyawa alami pada daun, batang, kulit kayu, buah, dan biji. Tanaman yang baik dalam jintan hitam ini adalah tanaman yang dapat digunakan dalam mengatasi terjadinya peningkatan radikal bebas yang membahayakan pada sel adalah biji jintan hitam. Allah memberikan nikmat dan anugerahnya kepada kita manusia untuk mengkaji dan mempelajari lebih dalam agar bermanfaat bagi umat manusia. Salah satunya

adalah manfaat biji jintan hitam yang memiliki antioksidan yang mampu meredam dampak radikal bebas stabil yang sifatnya tidak merusak dan menjadikan sel disfungsi.

Bagian dari tanaman yang sering digunakan untuk pengobatan adalah bijinya. Biji jintan hitam mengandung substansi aktif timokuinon, nigellon dan minyak padat (Fixed oil) (84% asam lemak tak jenuh, termasuk linoleic dan oleic) dan volate oil, alkaloid, saponin, dan fiber. Juga terdapat mineral, kalsium, besi, sodium, dan potassium. Sedangkan komposisi nutrisi yang terkandung adalah protein 21%, karbohidrat 35%, dan lemak 35-38% yang dikenal sebagai senyawa yang mampu untuk menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Kurnia (2011) menambahkan bahwa jintan hitam mampu menangkal radikal bebas dan menurunkan kadar MDA, karena antioksidan di dalam tubuh mampu mengingat senyawa radikal bebas yang tidak berpasangan dengan elektron lain. Hasil penelitian dari Kurnia *et al.*, (2011) pemberian jintan hitam dengan menggunakan dosis 2,4 mg/grBB dengan paparan asap rokok yang mengandung pb (timbal) mampu menurunkan kadar MDA dan integritas membran spermatozoa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jintan hitam mampu melindungi dari radikal bebas yang dapat di timbulkan oleh Pb 0,5 ug ditandai dengan penurunan kadar MDA 0.042 $\mu\text{M}/\text{Ml}$ dalam epididimis pada mencit, dan meningkatkan integritas membran spermatozoa dan viabilitas pada spermatozoa dan didapati hasil signifikan.

Sanocka *et al.*,(2004) menguatkan penjelasan bahwa epididimis merupakan saluran reproduksi jantan yang berfungsi menghasilkan kelenjar reproduksi jantan, dan juga merupakan tempat penyimpanan spermatozoa sementara sebelum dikeluarkan. Spermatozoa yang terdapat dalam epididimis merupakan sel tunggal dengan membran selnya mengandung kadar fosfolipid yang tinggi. Senyawa lipid yang terdapat pada

membran spermatozoa mengandung asam lemak tidak jenuh yang sangat rentan mengalami oksidasi terutama oleh karena adanya induksi dari senyawa-senyawa radikal bebas atau (*ROS*) *Reactive oxygen species*. Selain lipid, kadar ROS yang tinggi dapat juga mengoksidasi protein dan DNA.

Hal ini menunjukkan bahwa membran spermatozoa adalah target utama ROS dan lipid merupakan sasaran yang potensial (Lamarande *et al.*, 1997). Oksidasi lipid (*lipid peroksidase*) pada membran spermatozoa menghasilkan senyawa *malondialdehyde* (MDA), yang bersifat toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan membran spermatozoa. Membran spermatozoa yang rusak akan menyebabkan penurunan integritas membran spermatozoa, sehingga pada akhirnya menyebabkan penurunan kualitas sperma (Hayati, 2006).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman tertua yang digunakan sebagai pengobatan dalam sejarah manusia. Pada zaman nabi dikenal istilah *Thibun Nabawi*, yang berarti pengobatan yang dilakukan berdasarkan pada hadist-hadist nabi. Banyak sekali hadist-hadist yang menyebutkan bahwa pada zaman nabi menggunakan berbagai macam tumbuhan sebagai pengobatan. Salahsatu tanaman yang direkomendasikan adalah biji Habbatus sauda' atau yang dikenal dengan biji jintan hitam (*Nigella sativa*).



Gambar 1. Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Timoquinon merupakan salah satu turunan fenil propana, yang diperoleh dari oksidasi asam kuanat. Pengubahan asam kuanat menjadi asam 5-dehidrokuanat dikendalikan oleh kolmodulin dan protein kinase. Seperti diketahui, kalmodulin dan protein kinase banyak memberi peran substansi kerja intra sel. Menurut Junaedi dan Yulianti (2006) menyatakan bahwa nigellon berfungsi sebagai stabilisator dalam sistem imunotas tubuh pada masa pertumbuhan. Sedangkan asam lemak terutama asam lemak essensial yang terdiri dari asam alfa-linoleik (omega 3) dan asam linoleik (omega 6) yang merupakan pembentuk sel dan

substansi yang tidak dapat dibentuk dalam tubuh. Selain itu juga berfungsi sebagai pengunci dan penghilang zat-zat berbahaya penyebab kanker.

Epididimis merupakan saluran reproduksi jantan yang berfungsi menghasilkan kelenjar reproduksi jantan, dan juga merupakan tempat penyimpanan spermatozoa sementara sebelum dikeluarkan. Spermatozoa yang terdapat dalam epididimis merupakan sel tunggal dengan membran selnya mengandung kadar fosfolipid yang tinggi. Senyawa lipid yang terdapat pada membran spermatozoa mengandung asam lemak tidak jenuh yang sangat rentan mengalami oksidasi terutama oleh karena adanya induksi dari senyawa-senyawa radikal bebas atau (*ROS*) *Reactive oxygen species*. Selain lipid, kadar ROS yang tinggi dapat juga mengoksidasi protein dan DNA (Sanocka *et al.*, 2004).

Tahapan spermatogenesis yang terakhir yaitu tahap spermiogenesis. Spermiogenesis disebut juga tahap transformasi yaitu tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid yang bundar menjadi bentuk cebong yang memiliki kepala, leher dan ekor serta berkemampuan untuk bergerak (motil). Transformasi spermatid menjadi spermatozoa mengalami empat fase yaitu fase golgi, fase tutup, fase akrosom dan fase pematangan.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dengan 5 kali ulangan.

Perlakuan yang digunakan terdiri dari:

1. Kelompok K^- : Kelompok control negatif sebanyak 5 ekor mencit tanpa dipapar timbal (Pb) Asetat dan tanpa diberi ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*).
2. Kelompok K^+ : Kelompok kontrol positif sebanyak 5 ekor mencit yang dipapar timbal (Pb) Asetat dengan dosis 0,3 mg/gr BB dan tanpa diberi ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 0mg/gr BB per hari.
3. Kelompok D1: Kelompok perlakuan sebanyak 5 ekor mencit yang dipapar timbal (Pb) Asetat dengan dosis 0,3 mg/gr BB dan diberi ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 0,6 mg/gr BB per hari.
4. Kelompok D2: Kelompok perlakuan sebanyak 5 ekor mencit yang dipapar timbal (Pb) Asetat dengan dosis 0,3 mg/gr BB dan diberi ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 1,2 mg/gr BB per hari.

5. Kelompok D3: Kelompok perlakuan sebanyak 5 ekor mencit yang dipapar timbal (Pb) Asetat dengan dosis 0,3 mg/gr BB dan diberi ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 2,4 mg/gr BB per hari.

1. Tahap Pemeriksaan Integritas Membran Spermatozoa

Dalam jurnal Hayati *et al.*, (2006) dijelaskan setelah perlakuan berakhir hewan coba dieutanasi dengan kloroform, kemudian dilakukan nekropsi, spermatozoa diambil dari kauda epididimis dan vas deferens. Koleksi spermatozoa dengan cara modifikasi yang pada garis besarnya seperti berikut. Epididimis bagian kauda dan vas deferens dari masing-masing kelompok dipisahkan dari testisnya, kemudian diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi 4 ml larutan fisiologis. Spermatozoa dikoleksi dengan cara flusing dengan menggunakan mikroskop stereo, jarum suntik yang mengandung 1ml larutan fisiologis dimasukkan ke lubang vas deferens. Selanjutnya jarum ditekan pelan sehingga larutan fisiologis dapat mendorong spermatozoa yang ada di vas deferens dan epididimis, suspensi spermatozoa siap untuk diperiksa kadar MDA sperma dan integritas spermatozoa.

2. Tahap Pemeriksaan Malondialdehid (MDA)

Menghitung kadar MDA dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 534 nm. Sementara itu prosedur yang dilakukan untuk menentukan kadar MDA epididimis pada mencit sebagai berikut (Fauzi, 2008) :

1. TBA/ *buffer reagent* dilarutkan dengan 100 mL aquadest, selanjutnya ditambah 0,5 *sodium hidroxyde* dan 100 mL asam asetat glasial
2. Sebanyak 500 µl sampel (standart MDA untuk spektrofotometer) dimasukkan dalam tabung ependorf yang masing-masing telah diberi label
3. Ditambah 0,5 mL aquadest pada masing-masing tabung
4. Ditambahkan 0,5 mL TBA/*buffer reagent*
5. Selanjutnya pada masing-masing tabung diinkubasi di dalam waterbath dengan suhu 95⁰ C selama 60 menit
6. Setelah diinkubasi, masing-masing tabung dikeluarkan dari waterbath dan setelah

dingin masing-masing tabung disentrifugasi dengan kecepatan 7000rpm selama 10 menit

7. Supernatan diambil untuk selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 534 nm.

3. Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan dianalisis dengan menggunakan uji statistik ANOVA tunggal karena hanya menggunakan satu faktorial. Bila terdapat perbedaan sangat nyata dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan signifikan 1% untuk melihat perbedaan sangat nyata antara kelompok control dengan masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Jintan Hitam Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Epididimis Mencit (*Mus musculus*) yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat Peroral

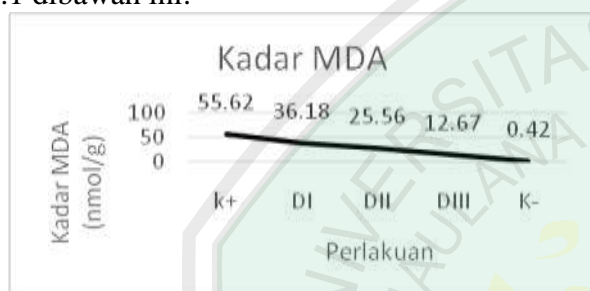
Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar malondialdehid (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral diperoleh data yang diuji dengan Uji Normalitas dan Uji Homogenitas (Lampiran 3). Data pada tabel ANAVA menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ 1% (369,177 > 5,29), ini menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol yang sangat nyata terhadap kadar malondialdehid (MDA) yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral.

Setelah diketahui bahwa ada pengaruh yang sangat nyata, maka data yang ada tersebut di uji lanjut dengan menggunakan uji BNT 1%. Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh antar perlakuan pemberian ekstrak etanol jintan hitam terhadap kadar MDA.

Hasil dari uji BNT 1% menunjukkan bahwa ada perbedaan pengaruh yang sangat nyata pada perlakuan K- dengan semua perlakuan (K+, DI, DII dan DIII) terhadap kadar MDA epididimis mencit yang dipapar Pb asetat. Hal yang sama juga terjadi pada K+, dimana K+ berbeda sangat nyata pengaruhnya dengan perlakuan yang lain. Pola yang sama juga terlihat pada DI dan DII yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan yang lain. Dari hasil uji tersebut diketahui bahwa kelompok dosis DIII adalah dosis yang optimal dalam mempengaruhi kadar MDA epididimis mencit yang dipapar

timbangan timbal Pb asetat peroral. Sedangkan perlakuan DI (0,6 mg/gr BB) ini adalah dosis yang efektif mempengaruhi kadar MDA. Hal ini dikarenakan DI berbeda sangat nyata dengan pengaruh perlakuan yang bertaraf (dan/atau berinput) lebih rendah, tetapi berbeda sangat nyata dengan pengaruh perlakuan yang bertaraf (dan/atau berinput) sama dan/atau lebih tinggi (Hanafiah, 2014).

Hasil pemeriksaan kadar MDA di dalam sekresi epididimis mencit terlihat adanya peningkatan kadar MDA dengan pemberian dosis ekstrak etanol jantan hitam yang dipapar timbal pb asetat. Hal ini sesuai dengan penelitian Kurnia, *et al.*, (2011) yang disajikan pada grafik 4.1 dibawah ini:



Gambar 2. Grafik kadar MDA (nmol/g) spermatozoa epididimis mencit setelah perlakuan Ket: 1. Kontrol negatif; 2. Kontrol positif; 3. Dosis 1 (0,6 mg/gr BB); 4. Dosis 2 (1,2 mg/gr BB); 5. Dosis 3 (2,4 mg/gr BB).

Berdasarkan gambar 2 di atas diketahui bahwa setelah pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) dengan tiga dosis yang berbeda terhadap kadar MDA yang dipapar Pb asetat menunjukkan semakin tinggi dosis semakin menurunkan kadar MDA. Setelah pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) dalam tiga dosis jantan hitam yang berbeda menunjukkan penurunan kadar MDA dibandingkan dengan mencit kontrol positif. Hal ini sesuai dengan pendapat Junaedi dan Yulianti (2006), yang menyatakan bahwa senyawa thymoquinone berfungsi melindungi sel dari serangan stress oksidatif. Pada penelitian ini dosis ekstrak etanol jantan hitam mengandung thymoquinone yang mampu menangkalkan radikal bebas dan toksik dari timbal (Pb) asetat yang menyebabkan kadar MDA meningkat. Setelah pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) dalam tiga dosis yang berbeda menunjukkan penurunan kadar MDA dibandingkan mencit yang diinduksi timbal (Pb) asetat peroral tanpa perlakuan pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*).

Perbandingan antara kadar MDA pada epididimis mencit yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral setelah diberi perlakuan pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) dapat dilihat pada tabel 4.5. di atas. Perbedaan dosis ekstrak etanol jantan hitam yang diberikan berpengaruh dalam menurunkan kadar MDA epididimis mencit karena ekstrak etanol jantan hitam mengandung zat-zat yang berfungsi sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan Juwita (2011) kandungan thymoquinone yang terdapat pada jantan hitam (*Nigella sativa*) yaitu komponen carvacrol t-anethole dan 4-terpineol memiliki aktivitas menyapu radikal bebas pada test diphenylpicrylhydrazyl. Keempat komponen ini melakukan aktivitas antioksidan melalui donor hidrogen ke radikal bebas. Thymoquinone memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat enzim siklooksigenase dan 5-lipoksigenase pada jalur metabolisme arakhidonat.

Murray *et al* (2003) menyatakan hal ini terjadi karena logam berat Pb dari senyawa Pb asetat merupakan inisiator atau menginduksi terjadinya oksidasi senyawa lipid terutama pada asam lemak tidak jenuh. Asam lemak tidak jenuh mengalami oksidasi melalui serangkaian proses pembentukan radikal bebas secara berantai

2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Jantan Hitam Terhadap Integritas Membran Spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal (Pb) Asetat Peroral

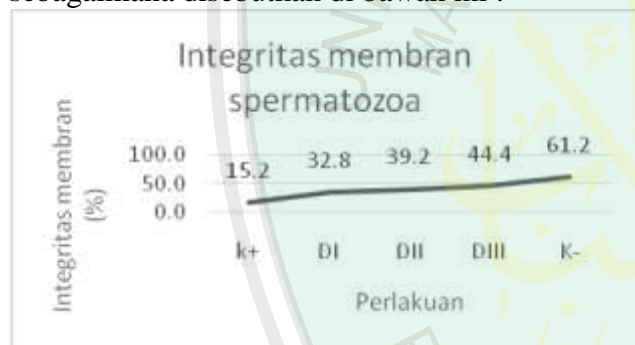
Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan analisis ANAVA tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) terhadap integritas membran spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral diperoleh data pengaruh pemberian ekstrak etanol jantan hitam terhadap integritas membran spermatozoa mencit dan diuji Normalitas dan Uji Homogenitas. Hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa F hitung > F tabel 1% (Tabel 4.5) menunjukkan bahwa ada pengaruh yang sangat nyata pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) terhadap integritas membran spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral.

Analisis integritas membran spermatozoa menggunakan uji ANAVA bahwa dengan pemberian ekstrak etanol jantan hitam (*Nigella sativa*) yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral berpengaruh terhadap integritas membran spermatozoa. Untuk mengetahui perbedaan

pengaruh antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1%. Hasil uji BNT pengaruh ekstrak etanol jintan hitam terhadap integritas membran spermatozoa pada mencit didapatkan notasi BNT.

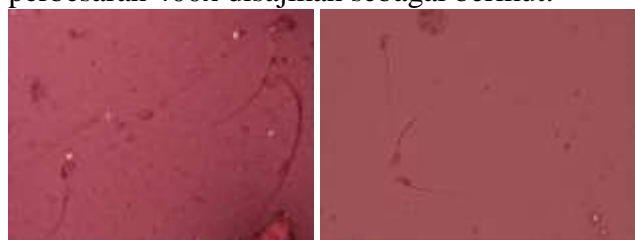
Hasildariuji BNT diketahui bahwa ada perbedaan pengaruh sangat nyata pada integritas membran spermatozoa mencit (*Mus muscullus*) kelompok kontrol K+ dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang telah diberi ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) (DI, DII dan DIII). Namun demikian pada perlakuan kelompok DI tidak berbeda sangat nyata pengaruhnya dibandingkan dengan kelompok DII dan DI, akan tetapi berbeda sangat nyata dengan K+ dan K-.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap integritas membran spermatozoa yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral yang didapatkan dapat disajikan dalam bentuk grafik. Berikut ini adalah grafik 4.2 yang dimaksudkan sebagaimana disebutkan di bawah ini :



Gambar 3. Grafik rata-rata integritas membran spermatozoa dengan perlakuan yang berbeda

Berdasarkan grafik tersebut diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) yang diberikan maka semakin meningkat integritas membran yang dimiliki oleh spermatozoa epididimis mencit yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral. Integritas membran spermatozoa dapat dilihat dari kepala dan leher spermatozoa yang menggembung (Gambar 4). Pengamatan integritas membran spermatozoa menggunakan HOs Test dengan perbesaran 400x disajikan sebagai berikut:



A

B

Gambar 4. Pengamatan integritas membran spermatozoa menggunakan metode HOS Test dengan perbesaran 400 x.

Ket : (A) spermatozoa menggembung (normal) menunjukkan integritas membran spermatozoa baik, (B) Spermatozoa yang tidak menggembung (Abnormal) menunjukkan integritas membran spermatozoa yang tidak baik.

Pengamatan integritas membran spermatozoa pada mencit yang dipapar Pb asetat peroral ditentukan berdasarkan respon spermatozoa pada kondisi hipoosmotik dengan menggunakan metode metode HOS Test sependapat dengan Udrayana (2004) yang menyatakan bahwa kemampuan spermatozoa untuk menggembung pada larutan hipoosmotik merupakan refleksi normal dari transport air melewati membran sel, kondisi spermatozoa pada epididimis cenderung isotonik. Spermatozoa memiliki dua karakter yaitu hidrofobik (polar) dan hidrofilik (non polar) yang berada pada ujung ekor hingga badan ekor, pada kepala dan leher Spermatozoa membutuhkan bahan dan larutan sebagai energi sebagai motilitas. Spermatozoa menyerap bahan dan larutan yang polar (hidrofobik) sehingga larutan masuk kedalam kepala spermatozoa yang sesuai dengan fungsi dan kemampuannya sebagai integritas membran spermatozoa. Hal ini menunjukkan aktivitas fungsional dan integritas membran sel bekerja normal. Integritas membran spermatozoa dihitung dari jumlah spermatozoa yang menggembung dalam setiap 100 spermatozoa (%) (WHO, 1999). Spermatozoa yang menggembung merupakan sperma yang normal dan menunjukkan integritas membran spermatozoa baik, sedangkan spermatozoa yang tidak menggembung merupakan spermatozoa yang tidak normal (abnormalitas) dan menunjukkan integritas membran spermatozoa tidak baik.

Timbal (Pb) sebagai radikal bebas dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase yang ada dalam membran sel sperma ATP-ase ini ada di bagian tengah ekor sperma dan berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan kalium. Motilitas sperma sangat bergantung pada komposisi ion natrium dan kalium. Dengan demikian aktifitas enzim ATPase ini terganggu maka homeostatis ion natrium dan kalium akan terganggu, sehingga motilitas sperma juga akan terganggu (Sanocka, 2004).

Pb sebagai ROS merupakan oksidan yang mampu meningkatkan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebagai indikator adanya oksidan yang tinggi. Pada epididimis pembentukan membran spermatozoa sangat diperlukan. Spermatozoa pada epididimis mengalami proses maturasi, dimana spermatozoa sangat labil untuk menyerap bahan-bahan yang diperlukan untuk proses maturasi. Pada membran spermatozoa dibutuhkan lipid sebagai penyempurna membran spermatozoa yang akan menjadi "lipid bilayer" sebagai blok antara kondisi diluar dan kondisi didalam membran spermatozoa. Lipid pada membran spermatozoa sangat rentan terhadap ROS yang merupakan radikal bebas (Bougeron, 2000). Hal ini sesuai dengan pernyataan Asmarinah (2010) bahwa membran spermatozoa yang tidak baik dikarenakan adanya ROS yang tinggi mengakibatkan proses maturasi spermatozoa terganggu, sehingga dibutuhkan antioksidan untuk menetralkan adanya ROS, salah satunya dengan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang memiliki kandungan *thymoquinone* yang mampu menetralkan adanya ROS yang tinggi.

Pematangan spermatozoa di epididimis sangat mempengaruhi komposisi membran lipid yaitu konsentrasi plasmalogen fosfolipid meningkat 40%, kandungan asam lemak tak jenuh menjadi lebih tinggi dan konsentrasi kolesterol yang relatif lebih rendah. Efek fisiologis dari akuisisi makromolekul di epididimis tersebut kemungkinan berkaitan dengan perkembangan motilitas dan fertilisasi dari spermatozoa (Bougeron, 2000).

Haffner (2006) menyatakan bahwa seiring dengan proses pematangan spermatozoa di dalam epididimis, juga terjadi perubahan komposisi senyawa penyusun membran plasma sel. Sebagian kolesterol yang terdapat pada membran plasma sel diserap, sehingga rasio antara asam lemak tak jenuh dan kolesterol meningkat. Hal ini menyebabkan membran plasma sel menjadi kurang stabil dikarenakan permeabilitas meningkat sehingga membran sel mudah rusak.

Integritas membran spermatozoa pada epididimis mencit dapat terganggu oleh senyawa yang berasal dari eksogen mengakibatkan terganggunya proses maturasi spermatozoa pada epididimis terganggu dan mempengaruhi kualitas spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yulnawati (2005) bahwa Kualitas spermatozoa pada membran plasma utuh mengalami

penurunan, hal ini diduga karena adanya toksik yang masuk kedalam membran plasma. Toksik yang masuk diakibatkan karena membran plasma yang berfungsi sebagai selektif semipermeabel, sehingga terjadi kemungkinan cairan yang masuk berupa toksik yang mengakibatkan rendahnya kualitas spermatozoid dalam membran plasma (Yulnawati, 2005).

Marimbi (2010) menyatakan bahwa faktor endogen yang mempengaruhi motilitas spermatozoa antara lain umur, persediaan energi (ATP), pematangan spermatozoa serta integritas membran sel. Faktor eksogen yang mempengaruhi motilitas spermatozoa antara lain faktor fisiologis dan biofisik (viskositas, osmolaritas, pH, temperatur, komposisi ion, dan lainnya), stimulus/inhibin (ion inorganik, hormon, kinin, neurofarmakologi, polusi lingkungan, dan faktor imunokimia), dan cairan penangguh (plasma epididimis, dan seminal plasma).

Kondisi membran spermatozoa pada epididimis cenderung isotonik. Namun ketika membran mengalami kerusakan atau terganggu kondisi ini akan berubah. Spermatozoa yang memiliki kualitas yang baik adalah sperma yang mampu menyerap air dengan baik. Kerusakan membran mengakibatkan cairan didalam membran akan keluar dan cairan dari luar masuk kedalam sehingga mengakibatkan proses maturasi pada epididimis terganggu. Asmarinah (2010) menyatakan bahwa Ketika masih berada dalam tubulus seminiferus testis, sperma belum mempunyai kemampuan bergerak (immotil), tetapi memperlihatkan adanya gerakan fibrator yang sangat terbatas. Selain itu sperma tersebut tidak mempunyai kapasitas untuk membuahi sel telur.

Antioksidan dibutuhkan untuk mengurangi dampak radikal bebas yang terjadi didalam tubuh. Salah satunya antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas yang disebabkan timbal (Pb) sebagai ROS yaitu jintan hitam (*Nigella sativa*). *Nigella sativa* memiliki peran dalam meningkatkan kualitas spermatozoa adalah karena adanyakandungan asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen utama dari minyak *Nigella sativa* berperan dalam sintesis hormon testosteron dengan cara meningkatkan aktivitas dari enzim 17 beta-hidroksisteroid dehidrogenase, enzim ini merupakan enzim yang penting dalam jalur sintesis testosteron, di mana hormon testosteron ini berperan dalam proses spermatogenesis.

Selain itu, jintan hitam juga mengandung berbagai zat yang mempunyai efek sebagai antioksidan yang dapat menekan produksi radikal bebas yang mana radikal bebas tersebut merupakan zat yang dapat menyebabkan kerusakan sel, termasuk sel-sel sertoli, sel-sel Leydig dan spermatozoa itu sendiri serta zat antioksidan dari *Nigella sativa* juga berperan dalam melindungi sel-sel tubuh dari stress oksidasi dan peroksidasi lipid yang berlebihan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan di atas, disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 0,6 mg/gr BB efektif berpengaruh terhadap integritas membran spermatozoa dan kadar *Malondialdehyde* (MDA) epididimis yang dipapar timbal (Pb) asetat peroral.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Fattah AM, Matsumoto K, Watanabe H. 2000. Antinociceptive Effects of *Nigella sativa* Oil and its Major Component, Thymoquinone in Mice. *EUR J Pharmacol.* 400: 89-97
- Abdullah, bin muhammad. 2004. Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1. Terjemahan. M. Abdullah Ghoffar E.M, Abdurrahim Mu'thi, Abu Ihsan al-Atsari. Bogor: Pustaka Imam Syafi'i
- Acharya UR, Acharya S, Mishra M. 2003. Lead Acetate Induce Cytotoxicity in Male Germinal Cells of Swiss Mice. *Industrial Health.* 41: 291-294
- Achmad. R. 2004. Kimia Lingkungan. Yogyakarta. Andi Offset
- Al-Albani, M.N. 2006. Shahih Sunah At-Tarmizi. Terjemahan Fachrurrazi. Jakarta: Pustaka Azam
- Al-Ali, A., Abdul, A., Mohammad, A., Nisar, A. S. (2008). Oral And Intraperitoneal LD50 Of Thymoquinone, An Active Principle Of *Nigella sativa*, In Mice nd Rates. *Jurna Ayub Medical Collage Abbottabat.* 20 (2).
- Ali, O., Gamse, B., dan Tugba, A. 2007. Antimicotic and Antibacterial Affect of the *Nigella sativa* L. Seed *Caryologia.* 60 (3):270-272
- Al-Jassir, M. (1992). Chemical Composition And Microflora Of Black cumin (*Nigella sativa*) Seeds Growing In Saudi Arabia. *Collect Agriculture And Food Science.* King Faisal University, 45: 239-242.
- Al-Qarni, A. 2008. Tafsir Muyasar, Jilid 1. Terjemah Tim Qisthi Press. Jakarta: Qisthi Press
- Anonymous. 2009. *Nagella sativa*. <http://toisdusd.multiply.com/journal/aitem/95/Nigella>. Diakses pada tanggal 18 April 2014
- Apriyanto, A. 2002. Pengaruh Pengolahan Terhadap Nilai Gizi. Makalah Seminar Online Kharisma Ke Dua. Available at: http://www.kharisma.d/files/home/makalah_anton.pdf
- Arici, M, Osman, S. dan Umit, G. 2005. Antibacterial Affect of Turkish Black Cummin (*Nigella sativa* L.) oils. *Grasas Yaceites.* 56(4): 259-262
- Astuti, S., Muchtadi, D., M. Astawan, M., Purwantara, B., Wresdiyati, T. (2009). Kualitas Spermatozoa Tikus yang Diberi Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn) dan Vitamin E. *Media Peternakan.* 32 (1): 12-21.
- Avisiena. Primary Properties of Black Seed. (Online) 2000. <http://www.blackseedusa.com> [diakses tanggal 10 November 2007].
- Aykin-Burns, N., Laegeler, A., Kellogg, G., Ercal, N. 2003. Oxidative Effects of Lead in Young and Adult Fisher 344 Rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44: 417-420
- Booolootion. R. A. 1991. *Zoology.* London: Maacmillan Publishing.
- Bourgeron, T. 2000. Mitochondrial Function and Male Fertility Result *Probl Cell Differ.* 28: 187-210
- Campbell Neil A, June B. Recc, and Lawrence G michell. 2002. *Biologi Edisi kelima Jilid 1.* Jakarta: Erlangga.
- Campbell, R.M. 2004. *Biologi Jilid Tiga.* Jakarta: Erlangga
- Darmawan. H. 2006. The Effect ROS On Sperm Function, Mitochondrial DNA, DNA Damage, Apoptosis Of Human Spermatozoa. Makalah seminar Amdrologi. Palembang
- Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup Dan Pencemaran: Hubungannya Dengan Toksikologi Senyawa Logam.* Jakarta UI PRESS
- Del rio D. Stewart AJ, Pallegrini N. 2005. A Review of Recent Studies on *Malondialdehyde* as Toxic Molecule and Biological Marker of Oxidative Stress.

- Nutr Metab Cardiovasc Dis. 15 (4); 316-328
- Dinda. 2008. Ekstraksi. <http://www.mediafarma.com/ekstraksi>. Diakses pada tanggal 16 Juni 2014
- Ding, Y., Gonick, H.C., Vaziri, N.D. 2000. Lead Promotes Hydroxyl Radical Generation and Lipid Peroxidation in Cultured Aortic Endothelial Cells. *Am J Hypertens.* 13: 552-555
- Edyson, 2003. Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin C dan E Terhadap Aktifitas Superoxide Dismutase (SOD) Dan Kadar Malondialdehyde (MDA) Pada ERITROSIT Rttus Norvegiacus Galur Wistar Yang Diinduksi L/tiroksin. *J Biosains.* 5 (3): 40-48
- Ercal, N., Gurer, H., Aykin-Burns, N. 2001. Toxic Metals and Oxidative Stress Part 1 Mechanime Involved in Metal Induced Oxidative Damage. *Curr Top Med Chem.* 1: 529-539
- Gilani AH, Aziz N, Khurram IM, Chaudhary KS, Iqbal A. 2001. Bronchodilator, Spasmolytic and Calcium Antagonist Activities of Nigella sativa Seeds (Kalonji): A Traditional Herbal Product with Multiple Medicinal Uses. *J Pak Med Assoc.* 51:115-20.
- Gillani, A., Qaiser, J., Assad, M. U. 2004. A Review Of Medical Uses And Pharmacological Aktivities Of Nigella sativa. *Pakistan Journal Of Biological Sience,* 7, 441-451.
- Guyton dan John Hall. 1997. Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit. Jakarta: EGC
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Usia Lanjut. *J. MIPA.* 14 (1) 52-59
- Hayati, A., Mangkoewidjojo, S., Hinting, A., & Moeljopawiro, S. (2006). Hubungan Kadar Mda Sperma Dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus Norvegicus*) Setelah Pemaparan 2-Methoxyethanol. *Berk. Penel. Hayati,* 11, 151-154.
- Heffner, L dan Schust, D, 2006. At a Glance Sistem Reproduksi Edisi 2. Alih Bahasa Vidhia Umami. Jakarta: Erlangga
- Jeffery, EH.1991. Biocemical Mecanisme Of Toxic Sel Injury. In: *Handbook of Toxicologi Logic Patologi.* Urbana: Akademik Press
- Junaedi, E dan Yulianti, S. 2006. Sembuhkan Penyakit dengan Habbatus Sauda' (Jintan Hitam). Jakarta : PT Agro Media Pustaka.
- Khopkar, S. M. 2003. Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta: UI Press
- Kurnia, H., Permatasari, N., & Subandi. 2011. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam terhadap MDA dan Sel Spermatogonium Tikus yang Dipapar Asap Rokok Kretek Subakut. *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 26 (3): 161-165.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Lamarinde E, Jiang H, Zini A, Kodama H, dan Gagnon C, 1997. Reactive Oxygen Species and Sperm Physiology. *Review of Reproduction* 2: 48-54.
- Lautan, J. 1997. Radikal Bebas Pada Eritrosit Dan Leukosit. *Cermin Dunia Kedokteran.* 1164951
- Marimbi. H. 2010. Biologi Reproduksi. Yogyakarta. Nusa Medika.
- MSDS (Material Saffety Data Sheet), 2005. Lead: Health Saffety and Environmental Department. Canada mental.
- Murray, RK, Granner DK, Mayyes PA, Rodwell VW. 2003. Biokimia Harper Edisi ke 25. Jakarta: EGC
- Musa, D., Nihat, D., Hatice G., Gulruh, U. Dan Muharrem, B . 2004. Anti Tumor Activity of An Ethanol Extract of Nigella sativa Seeds. *Biologia Brastislava.* 59 (6):735-740
- Musfiroh, E., 2012. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Nanopartikel Emas Dengan Berbagai Konsentrasi Sebagai Material Antiaging Dalam Kosmetik. *Journal of Chemistry.* 1(2)
- Nalbandov, AV. 1990. Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas. Cetakan 1 Edisi Ke Tiga. Jakarta: UI Press
- Nickavar, B., Faraz, M., Katayoun, J., & Mohammad, A. R. . (2003). Cemical Compostion Of Fixed And Follatile Oil Of Nigella sativa L From Iran. Iran: Department Of Pharmacognosy. School Of Pharmacy. Saheed Beheshti University Of Medica Sience
- Nurawati, D. 2002. Profil Imunohistokimia Enzim Antioksidan Copper, Zinc Superoksida Dismutase (Cu, Zn-SOD) pada Ginjal Tikus Hiperkolesterolemia.

- Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Prasetyawati, Renny C. 2003. Evaluasi Daya Antioksidatif Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Terhadap aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) Hati Tikus Yang Mengalami Perlakuan Stres. Skripsi. Bogor: IPB.
- Sanocka D and Kurpisz M. Reactive Oxygen Species and Sperm Cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2004; 2(12): 1–7.
- Savitri, E.S. 2008. Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam. Malang: UIN Press
- Setijowati, N. 1998. Pengaruh Radikal Bebas Dan Vitamin E terhadap Jumlah Circulating Endothel pada Darah Tikus yang Dipapar Asap Rokok Kretek Secara Kronik. *Majalah Kedokteran Unibraw*. 14 (3): 94-99
- Shannon. M. W. 1998. Lead: Clinical Management Of Poisoning and Drug Over dose piladelpia: WB Saunders
- Shofyan. 2010. Ekstraksi Pelarut. <http://community.um.ac.id/showthread.Php?72483/Ekstraksi/Pelarut>. Diakses Pada Tanggal 16 Juni 2014
- Sikka, S.C. 2004. Role of Oxidative Stress and Antioksidants in Andrologi and Assisted Reproductive Technology. *J. Androl*. 25: 5-18
- Soedomo. M. 2001. Pencemaran Udara (Kumpulan Karya Ilmiah). Bandung: ITB press
- Subowo. 2007. *Biologi Sel*. Bandung: Angkasa
- Sukmaningsih, A.A., 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis Pada Mencit (*Mus musculus*) yang Dipaparkan AsapRokok. *Jurnal Biologi*. 13(2): 31-35.
- Sulistyowati, Y., 2006. Pengaruh Pemberian Likopen Terhadap Status Antioksidan (Vitamin C, Vitamin E dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (*Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro
- Sultan, M., Masood, S., Fakir, M., Amer, J., Saeed, A., & Muhammad, N. 2009. Nutritional Profile Of Indigenous Cultivar Of Black cumin Seeds And Antioxidan potential Of Fixed Of Essential Oil. *Pakistan Jurnal Botani*, 41 (3), 13221–1330.
- Tramellen K.2008. Oxidative Stress and Male Infertility A Clinical Perspective. *H U M. Reprod. Update* 14: 243-258
- Tuminah, S. 2000. Radikal Bebas Dan Antioksidan: Kaitannya dengan Nutrisi dan Penyakit. *Cermin Dunia Kedokteran*. 128
- Udrayana, S.B 2004. Pengaruh Konsentrasi Kuning Telur dalam Pengencer Tris pada Separasi Spermatozoa Kambing dengan Metode Gradien Densitas Percell terhadap Integritas Membran dan Kapasitas. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang
- Umami, M. H., (2009), Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Hiperlipidemia. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- WHO. 1987. Laboratory Manual For The Examination Of Human Semen and Semen-Cervical Intraction. Melbourne: Cambridge University Press
- WHO. 1999. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, 4th ed. USA: Cambridge University press
- Winarsi H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Yatim, W. 1996. Reproduksi dan Embryologi. Bandung. Transito
- Yomes, Agus T. 2006. Sifat Prooksidan Dan Antioksidan Vitamin C Dan Teh Hijau Pada Sel Khamir *Candida sp.* Berdasarkan Peroksida Lipid.Skripsi. Bogor: IPB