



**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT HIPERLIPIDEMIA**

LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Oleh:

HAYYINA MASLIHATUL UMAMI

G2A 005 088

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2009

HALAMAN PERSETUJUAN

Telah disetujui oleh dosen pembimbing , laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah dari :

Nama : Hayyina Maslihatul Umami

NIM : G2A 005 088

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Diponegoro

Tingkat : Program Pendidikan Sarjana

Bagian : Biologi

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JINTAN HITAM
(*Nigella sativa*) TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA
MENCIT HIPERLIPIDEMIA**

Pembimbing : dr.Achmad Zulfa Juniarto, M.Si.Med, Sp.And

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh program pendidikan sarjana.

Semarang, 12 Agustus 2009

Pembimbing

dr.Achmad Zulfa J, M.Si.Med, Sp.And
NIP. 132 163 896

HALAMAN PENGESAHAN**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT HIPERLIPIDEMIA**

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

yang disusun oleh :

HAYYINA MASLIHATUL UMAMI

NIM : G2A 005 088

telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal

TIM PENGUJI

Semarang, 15 Agustus 2009

Ketua Penguji

Penguji

dr.Tri Indah Winarni, M.Si.Med

NIP. 132 163 892

dr.Eka Chandra Herlina, MrepSc, Sp. OG

NIP. 131 875 467

Pembimbing

dr.Achmad Zulfa J, M.Si.Med, Sp.And

NIP. 132 163 896

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
DAFTAR ISI	iv
ABSTRAK.....	vi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan umum.....	2
1.3.2 Tujuan khusus.....	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sistem Reproduksi Pria	4
2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Organ-Organ Reproduksi....	4
2.1.2 Hormon- Hormon Reproduksi Pria.....	8
2.2 Spermatogenesis.....	10
2.3 Spermatozoa	12
2.4 Hiperlipidemia.....	14
2.5 Infertilitas pada Hiperlipidemia.....	15
2.6 Diet Lemak Babi.....	17

2.7	Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	18
2.7.1	Morfologi.....	18
2.7.2	Kandungan dan khasiat	19
BAB 3	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	22
3.1	Kerangka Teori.....	22
3.2	Kerangka Konsep	22
3.3	Hipotesis Penelitian	23
BAB 4	METODOLOGI PENELITIAN	24
4.1	Rancangan Penelitian.....	24
4.2	Sampel	24
4.2.1	Kriteria inklusi.....	24
4.2.2	Kriteria eksklusi.....	24
4.3	Data.....	25
4.4	Instrumen	25
4.5	Cara Pengumpulan Data	25
4.6	Definisi operasional	25
4.7	Alur Penelitian.....	28
4.8	Analisis	29
BAB 5	HASIL PENELITIAN.....	30
BAB 6	PEMBAHASAN.....	33
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
	DAFTAR PUSTAKA	37
	LAMPIRAN	

The effect of Nigella sativa Oil on Sperm Count of Hyperlipidemic Mice

Hayyina Maslihatul Umami*, Achmad Zulfa Juniarto**

ABSTRACT

Background :

Nigella sativa oil had unsaturated fatty acid and antioxidant activity, could increase sperm count in hyperlipidemic mice. Hyperlipidemic was proved could induce infertility in study before. This study was aimed to prove the effect of *Nigella sativa* oil on sperm count of hyperlipidemic mice.

Method :

This was a post test only control group design study on 25 male Wistar mice, randomly labeled into 5 groups. Group K-, standard dietary for 44 days; group K+, standard dietary plus 2 ml/day lard per sonde for 44 days; group P1, P2, and P3 standard dietary plus 2 ml/day lard per sonde for 44 days and given *Nigella sativa* oil with dose 0.009 ml/day; 0.09 ml/day; and 0.9 ml/day. Treatment with *Nigella sativa* oil was given for 18 days. For group K-, their blood cholesterol was counted in early; group K+, P1, P2 and P3 blood cholesterol was counted after 15 days dietary with lard and counted again at 44th day before termination to know that the mice were in hyperlipidemia or not. Then, all mice were terminated and counted their sperm count.

Result :

Mean score of sperm count on group P2 was highest (5.20), while group K+ was the lowest (1.40). Group K- was higher than group K+; P1, P2, and P3 were higher than K- and K+. There was significant difference in sperm count between groups that showed in Oneway ANOVA test. And also significant differences between group K+ and P2 in Post Hoc test.

Conclusions:

Nigella sativa oil was given in hyperlipidemic mice caused a significant improvement of sperm count.

Keywords :

Nigella sativa, spermatozoa, hyperlipidemia.

* Student of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

** Lecturer of Biology's Departement Faculty of Medicine Diponegoro University, Semarang

Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Hiperlipidemia

Hayyina Maslihatul Umami*, Achmad Zulfa Juniarto**

ABSTRAK

Latar Belakang :

Minyak *Nigella sativa* mengandung asam lemak tak jenuh dan memiliki aktivitas antioksidan, yang mungkin dapat meningkatkan jumlah spermatozoa pada kondisi hiperlipidemia. Telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya bahwa hiperlipidemia mampu menyebabkan infertilitas. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek minyak *Nigella sativa* terhadap jumlah spermatozoa mencit hiperlipidemia.

Metode :

Penelitian ini menggunakan pendekatan *post test only control group design* pada 25 ekor mencit *Wistar* jantan, secara random dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok K-, diberi diet standar selama 44 hari; K+, diberi diet standar ditambah diet lemak babi 2 ml/hari per sonde selama 44 hari; P1, P2 dan P3 diberi diet standar dan diet lemak babi 2 ml/hari per sonde selama 44 hari dan diberi minyak *Nigella sativa* dengan dosis 0,009 ml/hari; 0,09 ml/hari; and 0,9 ml/hari. Minyak *Nigella sativa* diberikan selama 18 hari. Untuk kelompok K-, dihitung kadar kolesterol darahnya di awal penelitian; kelompok K-, P1, P2 dan P3 dihitung kadar kolesterol darahnya setelah diberi diet lemak babi selama 15 hari dan dihitung kembali pada hari ke 44 sebelum diterminasi untuk memastikan apakah mencit telah mengalami hiperlipidemia atau belum. Kemudian, semua mencit diterminasi dan dihitung jumlah spermatozoanya.

Hasil :

Jumlah spermatozoa rata-rata pada kelompok P2 adalah jumlah yang tertinggi (5,20), sedangkan kelompok K+ adalah kelompok dengan jumlah rata-rata terendah. Jumlah spermatozoa pada kelompok K- lebih tinggi dari pada K+ ;jumlah spermatozoa pada kelompok P1, P2 dan P3 lebih tinggi dari pada K- dan K+. Terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah spermatozoa antarkelompok yang ditunjukkan oleh uji *Oneway ANOVA*. Dan terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah spermatozoa antara kelompok P2 dan kelompok K+ yang ditunjukkan oleh tes *Post Hoc*.

Kesimpulan :

Minyak *Nigella sativa* yang diberikan pada mencit yang hiperlipidemia menyebabkan peningkatan jumlah spermatozoa yang signifikan.

Kata kunci :

Nigella sativa, spermatozoa, hiperlipidemia.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

** Dosen pengajar bagian Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infertilitas masih menjadi permasalahan bagi 15 % dari pasangan suami istri.¹ Faktor infertilitas pria memegang peranan 50% dari keseluruhan kasus.² Dan dari kausa tersebut, dinyatakan bahwa 5 % disebabkan oleh kualitas sperma yang tidak baik. Salah satu kondisi yang dapat menyebabkan kualitas sperma yang tidak baik adalah hiperlipidemia.³

Hiperlipidemia adalah suatu peningkatan konsentrasi setiap atau semua lipid dalam plasma, meliputi hipertrigliseridemia, hiperkolesterolemia, dan lain-lain. Istilah hiperlipidemia disebut juga disebut juga hiperlipemia, lipemia dan lipidemia.⁴

Pada keadaan hipertrigliseridemia dan hiperkolesterolemia, kualitas semen yang dihasilkan tidak baik dan bisa memberi efek langsung pada fungsi testis, sehingga dapat menyebabkan infertilitas. Pada tikus hiperlipidemia, terjadi pula penurunan yang signifikan dari kadar testosteron plasma. Penurunan ini terjadi akibat dari degenerasi sel Leydig, reduksi diameter nukleus sel Leydig, atau karena penurunan kadar LH dan aktivitas testikular dari 17 β -hidroksisteroid dehidrogenase.³

Minyak *Nigella sativa* memiliki efek antihiperqlikemi, hipolipidemi dan aktivitas antioksidan, yang dapat membantu peningkatan jumlah spermatozoa. Asam lemak tidak jenuh yang terkandung dalam minyak *Nigella sativa* sangat

dibutuhkan dalam proses maturasi spermatozoa. Selain itu, asam lemak tidak jenuh juga menstimulasi aktivitas 17β -hydroxysteroid dehidrogenase, yang merupakan enzim penting dari jalur sintesis testosteron.³

1.2 Perumusan Masalah

Apakah hiperlipidemia dapat mempengaruhi jumlah spermatozoa mencit strain *Wistar*?

Apakah pemberian minyak *Nigella sativa* dapat memperbaiki jumlah spermatozoa pada mencit *Wistar* yang diinduksi hiperlipidemia?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui apakah pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) meningkatkan jumlah spermatozoa yang diinduksi hiperlipidemia.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh hiperlipidemia terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Wistar*.
2. Mengetahui manfaat *Nigella sativa* terhadap jumlah spermatozoa mencit *Wistar* yang diinduksi hiperlipidemia.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat, antara lain :

1. Memberikan informasi mengenai infertilitas pada keadaan hiperlipidemia.
2. Menambah dasar ilmiah tentang penggunaan minyak *Nigella sativa*.
3. Memberikan data penguat yang mendukung manfaat *Nigella sativa* terhadap dunia medis, sehingga menjadi pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Reproduksi Pria

Sistem reproduksi pria terdiri atas organ – organ reproduksi dan regulasi hormon. Sistem reproduksi pada pria dapat dibagi menjadi tiga subdivisi utama. Pertama, spermatogenesis yang berarti terbatas pada pembentukan sperma. Kedua, kinerja kegiatan seksual pria dan yang ketiga adalah pengaturan fungsi reproduksi pria oleh berbagai hormon. Hasil akhir dari sistem ini adalah spermatozoa, beserta cairan semen yang melingkupinya, dan hormon – hormon reproduksi. Sistem ini melakukan tugas dalam hal produksi, penyimpanan, pematangan, dan penyaluran sperma keluar tubuh.⁵

2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Organ – Organ Reproduksi

Organ genitalia pria terdiri atas organ genitalia interna dan eksterna. Organ genitalia interna terdiri atas sepasang testis, sepasang ductus deferens, vesiculae seminalis, kedua ductus ejakulatorius, prostat dan glandula bulbouretralis. Sedangkan alat genital eksterna terdiri dari penis, skrotum dan uretra.⁶

2.1.1.1 Organ Genitalia Interna

Testis normal berjumlah 2 buah dan berbentuk ovoid, masing-masing dilingkupi oleh kantong yang disebut skrotum.⁷ Testis terdiri atas dua kompartemen, yaitu tubular dan interstisial. Kedua kompartemen ini bersinergi untuk melakukan dua fungsi testis,⁸ yaitu:

1. Produksi dan maturasi gamet jantan (spermatogenesis)
2. Sintesis dan sekresi hormon seksual (steroidogenesis)

Kompartemen tubular

Testis terdiri atas 900 lilitan tubulus seminiferus, yang masing-masing mempunyai panjang rata-rata lebih dari 5 meter dan merupakan tempat pembentukan sperma.⁵ Atau di dalam testis terdapat 250 lobulus dan setiap lobulus terdiri dari dua sampai empat tubulus seminiferus.^{7,9} Epitel tubulus seminiferus terdiri atas sel spermatogenik yang menghasilkan sperma dan sel penyokong, yaitu sel Sertoli. Sperma yang dihasilkan adalah sperma immotil, yang nantinya akan dimatangkan oleh organ-organ reproduksi yang lain. Walaupun immotil, spermatozoa yang dihasilkan telah dilengkapi dengan struktur flagel yang kompleks.⁸ Fungsi sel Sertoli antara lain (1) penyokong, proteksi dan regulasi nutrisi selama pembentukan sperma, (2) fagositosis, (3) sekresi dan (4) produksi hormon anti mullerian pada masa embrional.⁹ Sel Sertoli juga membentuk sistem "blood testis barrier" untuk melindungi spermatogenesis dari zat-zat asing dalam darah.^{8,9}

Kompartemen Interstisial

Sel yang paling penting dalam kompartemen ini adalah sel Leydig. Sel ini berfungsi untuk menghasilkan hormon testosteron. Proliferasi sel Leydig pada testis dewasa agak rendah dan dipengaruhi oleh LH.⁹ Selain sel Leydig, isi dari kompartemen ini yang lain adalah jaringan ikat, jaringan saraf, pembuluh darah dan limfe^{8,9} dan sel imun, seperti makrofag dan limfosit.⁹

2.1.1.2 Tractus Reproduksi Interna dan Aksesoria

Organ aksesoria terdiri atas epididimis, vas deferens, duktus ejakulatorius dan uretra, termasuk di dalamnya terdapat glandula aksesoria yaitu vesikula seminalis, glandula prostat dan glandula bulbouretralis.⁸ Ada juga literatur yang mencantumkan bahwa epididimis, vas deferens, duktus ejakulatorius, vesikula seminalis dan glandula bulbouretralis termasuk ke dalam organ genitalia interna, sedangkan uretra termasuk dalam organ genitalia eksterna.⁶

Sperma yang masih immotil tersebut kemudian dialirkan ke dalam epididimis, suatu tubulus lain yang berbentuk lilitan dengan panjang sekitar 6 meter.⁵ Tubulus semeniferus bergabung menjadi epididimis. Epididimis dimulai dari testis bagian proximal, turun di sepanjang permukaan posterior testis, dan naik ke atas untuk melanjut sebagai vas deferens. Sperma yang diproduksi oleh tubulus semeniferus akan mengalami pematangan pada organ ini. Sel sperma yang immotil dapat tersalurkan dengan bantuan kontraksi peristaltik epididimis yang ritmik dan stereocilia.^{8,9} Apabila terjadi disfungsi pada penyimpanan spermatozoa di epididimis, kemungkinan dapat menyebabkan infertilitas.⁸

Selanjutnya sperma akan melewati saluran yang disebut vas deferens. Vas deferens berjalan disepanjang medial testis, ke arah proximal, melalui canalis inguinalis, kemudian menembus prostat. Sebelum masuk ke prostat, vas deferens mengalami dilatasi yang disebut ampulla.^{8,9} Epididimis mengarah ke dalam vas deferens yang membesar yang disebut ampulla vas deferens tepat sebelum vas deferens memasuki korpus kelenjar prostat.⁵ Segmen yang menembus prostat disebut duktus ejakulatorius, kemudian akan bergabung dengan uretra.^{8,9}

Vesikula seminalis, yang masing-masing terletak di sebelah prostat, mengalir ke dalam ujung ampula prostat.⁵ Glandula aksesoria mensekresikan cairannya untuk menjaga kelangsungan hidup sperma terutama setelah sperma keluar dari tubuh. Vesikula seminalis mensekresikan cairan semen yang mengandung karbohidrat yang berfungsi untuk motilitas sperma. Jenis karbohidrat yang disekresikan adalah fruktosa.^{8,9} Cairan semen juga mengandung prostaglandin⁷ yang berfungsi untuk merangsang kontraksi otot organ reproduksi wanita, dalam rangka membantu pergerakan sperma ke arah sel telur. Glandula prostat memproduksi cairan yang bersifat alkali untuk menetralkan pH sekret vagina, sedangkan glandula bulbourethralis mensekresi cairan untuk lubrikasi glans penis. Munculnya cairan ini sering kali mendahului sensasi ejakulasi dan oleh karena itu, kadang-kadang dikenal dengan “pre-come”.¹⁰

Isi dari ampula prostat dan vesikula seminalis masuk ke dalam duktus ejakulatorius terus melalui korpus kelenjar prostat dan masuk ke dalam uretra internus. Duktus prostatikus selanjutnya mengalir langsung ke dalam uretra. Akhirnya, uretra merupakan penghubung terakhir dari testis ke dunia luar. Uretra disuplai dengan mukus yang berasal dari sejumlah besar kelenjar uretra kecil yang terletak sepanjang dan bahkan lebih jauh lagi dari kelenjar bulbourethralis (kelenjar Cowper) bilateral yang terletak di dekat asal uretra.⁵

2.1.1.3 Organ Genitalia Eksterna

Organ yang dimaksud adalah penis yang berfungsi sebagai alat kopulasi pria. Pada potongan melintang terdiri atas tiga bagian jaringan erektil, yaitu dua

corpus cavernosum dan sisanya corpus spongiosum.⁵ Dan di dalamnya terdapat uretra yang merupakan saluran urogenitalis.

2.1.2 Hormon – Hormon Reproduksi Pria

Hipotalamus, hipofisis anterior dan testis adalah poros yang meregulasi sistem reproduksi pria dengan cara sekresi hormon. Hormon-hormon ini menginisiasi dan menjaga produksi sperma serta bertanggung jawab terhadap karakteristik seks sekunder pria. Mekanisme pengaturan dari sekresi hormon ini dikenal dengan mekanisme umpan balik (*feed back mechanism*)⁸

GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon)

GnRH (Gonadotropin Releasing hormon) adalah suatu peptida dengan 10 asam amino yang disekresikan oleh neuron-neuron yang sel-sel induknya terletak dalam nukleus arcuatus dari hipotalamus⁵ dan disekresikan ke hipofisis melewati sistem portal secara pulsatil. Waktu paruh GnRH sangat pendek (< 10 menit), sebagian besar akan mengalami degradasi di hipofisis segera setelah disekresi, oleh beberapa peptidase.⁸ Pengaturan sekresi GnRH dilakukan oleh sistem limbik di otak. Obat-obatan dan ramuan tradisional diketahui juga dapat mempengaruhi kecepatan sekresi GnRH oleh hipotalamus.^{5,11} Fungsi hormon ini adalah menstimulasi pelepasan hormon gonadotropin hipofisis yaitu FSH dan LH. Pada manusia, kontrol GnRH yang paling berperan adalah testosteron dengan mekanisme feed back negatif.⁸

Hormon Gonadotropik

Hormon Gonadotropin terdiri atas FSH (Follicle Stimulating Hormon) dan LH (Luteinizing Hormon). LH pada pria dikenal dengan nama ICSH (Interstitial

Cell Stimulating Hormon).⁸ FSH dan LH merupakan glikoprotein yang terdiri dari dua rantai polipeptida yaitu alfa dan beta. Rantai alfa dapat ditemui pada hampir semua hormon, sedangkan rantai beta, meskipun secara struktural sama dengan rantai alfa, berbeda pada tiap hormon dan memberikan aksi yang spesifik.⁸ FSH mempunyai waktu paruh yang lebih lama daripada LH.^{8,12} Hal ini menyebabkan kadar FSH dalam sehari relatif tidak berfluktuasi jika dibandingkan dengan LH.¹²

Baik LH maupun FSH mengeluarkan pengaruhnya pada jaringan target di dalam testis terutama melalui aktivasi sistem *second messenger siklik adenosin monofosfat*, yang selanjutnya akan mengaktifkan sistem enzim khusus dari sel-sel target berikutnya.⁵

Perbedaan FSH dan LH yang terutama adalah fungsi. FSH bertanggungjawab terhadap spermatogenesis,^{8,9} sedangkan LH bertanggungjawab terhadap produksi hormon testosteron.⁸ Secara bersamaan FSH dan LH penting untuk spermatogenesis yang normal.¹² Testosteron menghambat sekresi kedua hormon ini. Lebih lanjut, sekresi FSH juga dikendalikan oleh inhibin, yang menekan produksi dan pelepasan FSH oleh hipofisis anterior.^{8,9}

Hormon Testosteron

Testosteron diproduksi oleh sel Leydig, di dalam kompartemen interstitial testis. Sintesis testosteron merupakan hasil kerjasama dua organela sel, yaitu mitokondria dan retikulum endoplasma halus. Testosteron bertanggungjawab atas perkembangan karakteristik seks sekunder pria. Selain itu, testosteron merupakan regulator lokal spermatogenesis yang terbaik.⁸

Salah satu efek tidak langsung dari Growth Factor/Growth Hormon (GH) adalah proliferasi seluler.¹² GH yang penting dalam regulasi lokal spermatogenesis adalah transforming growth factor (TGF) alfa dan beta, inhibin dan aktivin, nerve growth factor (NGF), insulin like growth factor I (IGF I) dan epidermal growth factor (EGF).⁸

Hormon Estrogen

Hormon estrogen dibentuk dari testosteron oleh sel-sel Sertoli ketika sel Sertoli sedang dirangsang oleh LH, yang mungkin juga penting untuk spermiogenesis. Sel-sel Sertoli juga mensekresi suatu protein pengikat androgen yang mengikat testosteron dan estrogen serta membawa keduanya ke dalam cairan di dalam lumen tubulus seminiferus, membuat hormon testosteron dan estrogen tersedia untuk pematangan sperma.⁵

2.2 Spermatogenesis

Spermatogenesis terjadi di semua tubulus seminiferus selama kehidupan seksual aktif, sebagai akibat dari rangsangan hormon gonadotropin hipofisis anterior, dimulai dari rata-rata usia 13 tahun dan berlanjut sepanjang hidup.⁵

Spermatogenesis merupakan proses yang sangat kompleks, di mana spermatogonium berkembang menjadi spermatozoa.¹³ Proses ini diawali dengan suatu pembelahan mitotik, kemudian diikuti dengan pembelahan meiosis sehingga terbentuk spermatid yang mengandung kromosom haploid. Spermatogenesis berlangsung di dalam tubulus seminiferus. Di dalam tubulus seminiferus terdapat berbagai sel dengan tahap perkembangan yang berbeda. Sel - sel ini dapat dibedakan menjadi spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder,

spermatid dan spermatozoa. Spermatogenesis terbagi atas beberapa tahapan, umumnya dikenal tiga tahap spermatogenesis yaitu spermasitogenesis, meiosis, dan spermiogenesis.⁸

Spermasitogenesis merupakan tahap yang paling awal dalam pembentukan spermatozoa. Spermatogonium membelah secara mitotik untuk membentuk spermatosit primer yang mengandung 46 kromosom. Tahap selanjutnya adalah meiosis yang berfungsi untuk mereduksi materi genetik.⁸

Meiosis terdiri atas dua fase. Fase pembelahan yang pertama menghasilkan spermatosit primer dengan 23 kromosom. Fase yang kedua menghasilkan spermatid dengan 23 kromosom. Tahap ini merupakan tahap yang sangat penting, karena pada tahap inilah dapat terbentuk spermatid dengan materi genetik yang jumlahnya setengah dari sel induknya. Selanjutnya, spermatid dengan 23 kromosom ini akan dilengkapi jumlah kromosomnya oleh sel telur pada saat fertilisasi.⁸

Spermatid akan mengalami suatu proses differensiasi yang kompleks yaitu spermiogenesis. Spermiogenesis meliputi pembentukan akrosom, kondensasi dan elongasi nucleus, perkembangan flagellum, dan pengurangan sitoplasma.¹¹ Hasil akhirnya adalah spermatozoa yang matur dan siap dikeluarkan ke lumen tubulus semeniferus. Pelepasan spermatozoa ke dalam lumen tubulus disebut spermiasi. Spermiasi dipengaruhi oleh modifikasi hormonal, temperatur, dan zat toksik.¹⁰ Spermatozoa yang tidak dilepaskan ke dalam lumen akan difagositosis oleh sel Sertoli.⁸ Waktu yang dibutuhkan agar spermatogenesis dapat berlangsung dengan

lengkap berbeda – beda untuk masing – masing spesies yaitu 51 – 53 hari pada tikus, 37 –43 hari pada kera, dan sekurang – kurangnya 64 hari pada manusia.⁸

2.3 Spermatozoa

Hasil akhir spermatogenesis adalah spermatozoa dewasa. Strukturnya menyerupai kecebong kecil dengan panjang 0,06 mm. Spermatozoa yang matur terdiri atas tiga bagian utama yaitu (1) kepala / head, (2) leher / midpiece dan (3) ekor / tail.⁹ Pada literatur yang lain disebutkan bahwa spermatozoa terdiri atas empat bagian, yaitu (1) kepala / head, (2) leher / middle piece, (3) tubuh /principal piece dan (4) ekor / end piece.⁷

Salah satu bagian yang penting dari struktur spermatozoa adalah akrosom. Akrosom adalah bagian dari kepala spermatozoa yang berasal dari nukleus yang mengalami kondensasi dan elongasi. Akrosom mengandung enzim hidrolitik seperti hyaluronidase, neuraminidase, dan protease. Enzim – enzim ini berfungsi untuk menembus corona radiata dan zona pellucida di sekeliling sel telur. Proses pengeluaran enzim ini disebut Reaksi akrosom, yang juga menandai langkah pertama terjadinya fertilisasi. Pada bagian leher terdapat banyak mitokondria yang tersusun spiral. Mitokondria beragregasi pada bagian proximal flagellum, sehingga bagian ini tampak menebal. Pengumpulan mitokondria pada leher spermatozoa sangat penting dalam pergerakan sel dan konsumsi energi yang tinggi. Ekor, atau disebut juga dengan flagellum spermatozoa terdiri dari beberapa mikrotubuli yang dilingkupi oleh membran sel yang memanjang. Pergerakan

flagellum adalah hasil dari interaksi mikrotubuli, ATP, dan dynien, yaitu suatu protein dengan aktivitas ATP-ase.⁵

Spermatozoa merupakan hal yang paling penting dalam pemeriksaan fertilitas pria. Kualitas dan kuantitas spermatozoa, serta cairan semen di sekitarnya dapat diketahui dari suatu analisis semen. Standar yang digunakan sebagai nilai rujukan hasil analisis semen adalah standar WHO 1992. Beberapa parameter yang penting dari ketentuan tersebut adalah densitas (jumlah), motilitas, dan morfologi.¹⁴

Jumlah spermatozoa merupakan pengukuran spermatogenesis yang akurat sedangkan motilitas spermatozoa merupakan pengukuran kasar maturasi epididimis dan kapabilitas fungsional spermatozoa. Semakin banyak jumlah spermatozoa yang terdapat pada ejakulat tidak selalu menunjukkan bahwa seseorang pria semakin subur. Konsentrasi spermatozoa yang tinggi dapat menimbulkan tabrakan antara spermatozoa motil, atau antara spermatozoa motil dan immotil, yang berakibat turunnya presentase motilitas progresif.¹⁵

Persentase motilitas spermatozoa kemungkinan sama penting, bahkan lebih penting daripada konsentrasi spermatozoa. Motilitas penting selama spermatozoa bergerak dalam traktus reproduksi wanita dan untuk kesuksesan interaksi spermatozoa dengan oosit.¹⁵ Meskipun demikian pada beberapa teknologi reproduksi buatan seperti ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection), parameter ini bukan sesuatu yang mutlak. Dengan teknologi tersebut, spermatozoa yang immotil sekalipun masih dapat digunakan untuk membuahi sel telur.

2.4 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia adalah istilah umum bagi peningkatan konsentrasi setiap atau semua lipid dalam plasma meliputi hipertrigliseridemia, hiperkolesterolemia dan lain-lain. Hiperlipidemia disebut juga dengan hiperlipemia, lipemia dan lipidemia.⁴ Di dalam darah kita ditemukan tiga jenis lipid, yaitu kolesterol, trigliserid, dan fosfolipid. Oleh karena sifat lipid yang susah larut dalam lemak, maka perlu dibuat bentuk yang terlarut. Untuk itu dibutuhkan suatu zat pelarut yaitu suatu protein yang dikenal dengan nama apolipoprotein atau apoprotein. Pada saat ini dikenal sembilan jenis apoprotein yang diberi nama secara alfabetis, yaitu Apo A, Apo B, Apo C dan Apo E. Senyawa lipid dengan apoprotein ini dikenal dengan nama lipoprotein. Setiap lipoprotein terdiri atas kolesterol (bebas atau ester), trigliserid, fosfolipid dan apoprotein. Lipoprotein berbentuk sferik dan mempunyai inti trigliserid dan kolesterol ester dan dikelilingi oleh fosfolipid dan sedikit kolesterol bebas. Apoprotein ditemukan pada permukaan lipoprotein. Peningkatan jumlah lipoprotein secara otomatis juga terjadi peningkatan jumlah lipid.¹⁶

Gambaran yang paling sering didapatkan berupa peningkatan kadar trigliserida dan penurunan kadar HDL.² Dalam sebuah studi terbaru, pemberian makanan yang mengandung kolesterol pada tikus jantan meningkatkan kolesterol plasma total, trigliserida dan LDL, sementara itu kadar HDL menurun. Diet tinggi kolesterol yang mengakibatkan hiperlipidemia, menjadi faktor penting dalam perkembangan abnormal dari sistem reproduksi pria.¹⁷

Hiperkolesterolemia terbukti bisa menyebabkan peningkatan jumlah oksigen radikal dan lipid peroksidasi pada jaringan yang berbeda. Lipid peroksidasi adalah faktor penting dalam mempengaruhi perubahan bentuk spermatozoa.³

ROS merupakan radikal bebas yang mempunyai kemampuan oksidatif yang cukup tinggi. Radikal bebas adalah senyawa (tidak hanya derivat oksigen) yang mengandung satu atau lebih elektron bebas sehingga bersifat tidak stabil. Senyawa ROS yang paling berperan dalam sistem reproduksi adalah adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), peroksil (ROO^-) dan hidroksil (OH^-). Selain itu, derivat nitrogen seperti nitrogen oksida (NO^-) dan peroksinitat ($ONOO^-$), juga memegang peranan penting pada fertilitas dan sistem reproduksi.¹⁹

Peningkatan ROS memiliki kolerasi positif dengan konsentrasi LDL pada pasien hiperlipidemia, namun berkolerasi negatif dengan konsentrasi HDL. Hal inilah yang memacu timbulnya stres oksidatif. Stres oksidatif timbul sebagai konsekuensi peningkatan yang berlebihan dari produksi ROS dan terganggunya mekanisme pertahanan oleh antioksidan.³

2.5 Infertilitas pada Hiperlipidemia

Pada keadaan hipertrigliseridemia dan hiperkolesterolemia, kualitas semen yang dihasilkan tidak baik dan bisa memberikan efek langsung pada fungsi testis sehingga bisa menginduksi infertilitas.³

Pada tikus hiperlipidemia terdapat penurunan signifikan dari kadar testosteron plasma. Penurunan ini kemungkinan akibat dari degenerasi sel Leydig,

reduksi diameter nukleus sel Leydig, atau karena penurunan kadar LH, dan aktivitas testikular dari 17β -hidroksisteroid dehidrogenase.³

Hiperkolesterolemia terbukti bisa menyebabkan peningkatan jumlah oksigen radikal dan peroksidasi lipid pada jaringan yang berbeda.³ Proses peroksidasi lipid akan menimbulkan kematian sel.² Lipid peroksidasi adalah faktor penting dalam mempengaruhi perubahan bentuk spermatozoa.³

Peningkatan ROS memiliki kolerasi positif dengan konsentrasi LDL pada pasien hiperlipidemia, namun berkolerasi negatif dengan konsentrasi HDL. Hal inilah yang memacu timbulnya stres oksidatif. Stres oksidatif timbul sebagai konsekuensi peningkatan yang berlebihan dari produksi ROS dan terganggunya mekanisme pertahanan oleh antioksidan.³ Peningkatan ROS yang tidak terkontrol mempunyai peran penting terhadap infertilitas pria karena dapat menyebabkan stres oksidatif yang akan menyebabkan berkurangnya motilitas, viabilitas dan kerusakan akrosom spermatozoa.¹⁸ Mekanisme utama dalam proses kerusakan membran spermatozoa oleh ROS adalah pada reaksi peroksidasi lipid atau LPO (*Lipid Peroxidation*).¹⁹ Di sisi lain, spermatozoa yang abnormal juga memproduksi ROS, sehingga ROS dalam semen akan meningkat.²

ROS berpotensi toksik pada kualitas dan fungsi sperma. Spermatozoa mudah terserang oleh induksi stres oksidatif karena dalam membran plasmanya banyak terkandung asam lemak. Stres oksidatif berperan sebagai mediator kerusakan pada membran plasma, sehingga mengurangi fungsi sperma. ROS menginduksi lipid peroksidasi yang merupakan agen penyebab perubahan morfologi sperma. Stres oksidatif menginduksi kerusakan DNA yang

mempercepat apoptosis sel epitel germinal, sehingga menurunkan hitung jumlah sperma.³

Reduksi yang signifikan dari konsentrasi sperma dan persentasi spermatozoa motil, pada kondisi hiperkolesterolemia juga berhubungan dengan kecacatan fungsi sekresi sel sertoli dan sel Leydig, yang membuat ketidaksempurnaan spermatogenesis dan maturasi spermatozoa di epididimis, sehingga terjadi penurunan motilitas sperma dan peningkatan abnormalitas morfologi sperma.³

Efisiensi reproduksi yang rendah pada tikus hiperkolesterolemia, ditandai dengan penurunan indeks fertilitas, berat vesikula seminalis, kadar testosteron plasma, motilitas sperma, dan hitung jumlah sperma, dan terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa, sebagai efek langsung hiperlipidemia yang diakibatkan oleh ketidakteraturan axis hipotalamus-pituitari (*FSH-LH linked mechanism*) dan kerusakan spermatogenesis, serta peningkatan stress oksidatif. Bersamaan dengan itu, hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia menyebabkan peningkatan ROS dan kadar lipid peroksidasi di jaringan yang berasosiasi dengan penurunan efek antioksidan.³

2.6 Diet Lemak Babi

Lemak babi biasanya diperoleh dari beberapa bagian tubuh babi yang memiliki jaringan lemak yang tebal, yang bisa dibuat dari dua proses, yaitu pembuatan cara kering dan cara basah. Pembuatan cara basah, lemak babi direbus atau dikukus pada suhu tinggi sehingga lemak yang tidak larut dalam air, akan mengendap di permukaan campuran atau terpisah pada sebuah prosedur sentrifusi.

Adapun pada pembuatan metode kering, lemak babi dipajan pada oven suhu tinggi tanpa menggunakan air. Metode kering dan metode basah menghasilkan produk yang berbeda. Metode basah, menghasilkan produk yang rasanya netral, warnanya cerah dan memiliki suhu pengasapan yang tinggi. Sedangkan metode kering, menghasilkan lemak babi yang berwarna coklat, berasa dan memiliki suhu pengasapan yang relatif rendah. Meskipun kadar kolesterol pada lemak babi lebih rendah dari pada mentega, tetapi secara umum, lemak babi mengandung kolesterol dan asam lemak jenuh yang tinggi.²⁰

2.7 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Nigella sativa merupakan salah satu spesies dari genus *Nigella* yang memiliki kurang lebih 14 spesies tanaman yang termasuk dalam famili Ranunculaceae. Tanaman ini berasal dari Eropa Selatan, Afrika Utara, dan Asia Selatan. Nama lain *Nigella Sativa* diantaranya adalah : Kalonji (bahasa Hindi), Kezah (Hebrew), Chamushka (Rusia), Habbatus Sauda' (Arab), Siyah daneh (Persian), Fennel Flower / Black Carraway / Nutmeg Flower / Roman Coriander / Black Onian Seed (English), atau Jintan Hitam (Indonesia).²¹

Hasil olahan dari jintan hitam telah banyak dipasarkan di Indonesia, berupa minyak, biji, ekstrak dan lain sebagainya. Minyak jintan hitam yang beredar dengan merek dagang Habbatus sauda' telah lama dikenal oleh sebagian masyarakat, mudah diperoleh di pasaran dengan harga yang terjangkau. Sehingga peneliti tertarik untuk membuktikan efek minyak jintan hitam secara ilmiah terhadap dunia medis.

2.7.1 Morfologi

Nigella sativa atau jintan hitam pahit ini merupakan jenis tanaman bunga , tumbuh setinggi 20-50 cm , berbatang tegak, berkayu dan berbentuk bulat menusuk.²¹

Daun runcing ,bercabang, bergaris (namun garis daunnya tidak seperti benang ; tidak seperti ciri daun tumbuhan genus *Nigella* pada umumnya), daunnya kadang-kadang tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan. Bentuk daunnya bulat telur berujung lancip. Di bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus.²¹

Tumbuhan jintan hitam memiliki bunga yang bentuknya beraturan. Bunga ini kemudian menjadi buah berbentuk bumbung atau buah kurung berbentuk bulat panjang. Bunganya menarik dengan warna biru pucat atau putih, dengan 5-10 mahkota bunga.²¹

Buahnya keras seperti buah buni. Berbentuk besar, menggebung, berisi 3-7 unit folikel, masing-masing berisi banyak biji atau benih yang sering digunakan manusia sebagai rempah-rempah. Memiliki rasa pahit yang tajam dan bau seperti buah strawberry. Digunakan terutama pada permen dan minuman keras. Bijinya berwarna hitam pekat.²¹

2.7.2. Kandungan dan Khasiat

Khasiat yang dimiliki jintan hitam ini berasal dari kandungan kimia yang ada di dalamnya. Kandungan kimia jintan hitam terdiri dari minyak atsiri, minyak lemak, d-limonena, simena, glukosida, saponin, zat pahit, jigelin, nigelon, dan

timokonon. Berbagai kandungan ini didapat dari biji jintan hitam. Selama berabad-abad, minyak dan herba *Nigella sativa* telah digunakan oleh jutaan orang di Asia, Timur Tengah, dan Afrika sebagai rempah-rempah untuk bumbu maupun pengobatan tradisional. Ibnu Sina (980-1037), dalam karya terbesarnya *The Canon of Medicine*, menyatakan khasiat jintan hitam dapat menstimulasi energi di tubuh dan membantu penyembuhan dari kelelahan atau kurang semangat.²²

Minyak *Nigella sativa* mengandung hingga 50% asam linoleat, 25% asam oleat, 12% asam palmitat, 2,84% asam stearat, 0,34% asam linolenat dan 0,35% asam miristat. Berbagai penelitian telah memperlihatkan efek *Nigella sativa* sebagai (1) analgesik, (2) antipiretik, (3) antihipertensi, (4) bronkodilator, (4) antibakteri, (5) berpotensi meningkatkan sistem kekebalan tubuh, (6) antioksidan, (7) antitumor dan (8) antidiabetik.²²

Penelitian tentang jintan hitam juga menunjukkan adanya potensi antioksidan. Dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dua dimensi yang menguji minyak esensial dari jintan hitam, didapatkan kandungan aktif tersebut antara lain *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethol*, dan *4-terpineol*. Keempat bahan tersebut memiliki aktivitas *OH radical scavenging* yang efektif pada peroksidasi lipid non enzimatis dan degradasi *deoxyribose*. (Khotimah,...) Sebuah penelitian lain mencoba membandingkan efek antioksidan thymoquinon dan *terbutylhydroquinone* (TBHQ) secara *in vitro*. Kedua bahan tersebut terbukti mampu menghambat peroksidasi lipid mikrosomal. Selain itu terbukti bahwa thymoquinon lebih aktif berperan sebagai *superoxside anion scavenger* daripada TBHQ.²²

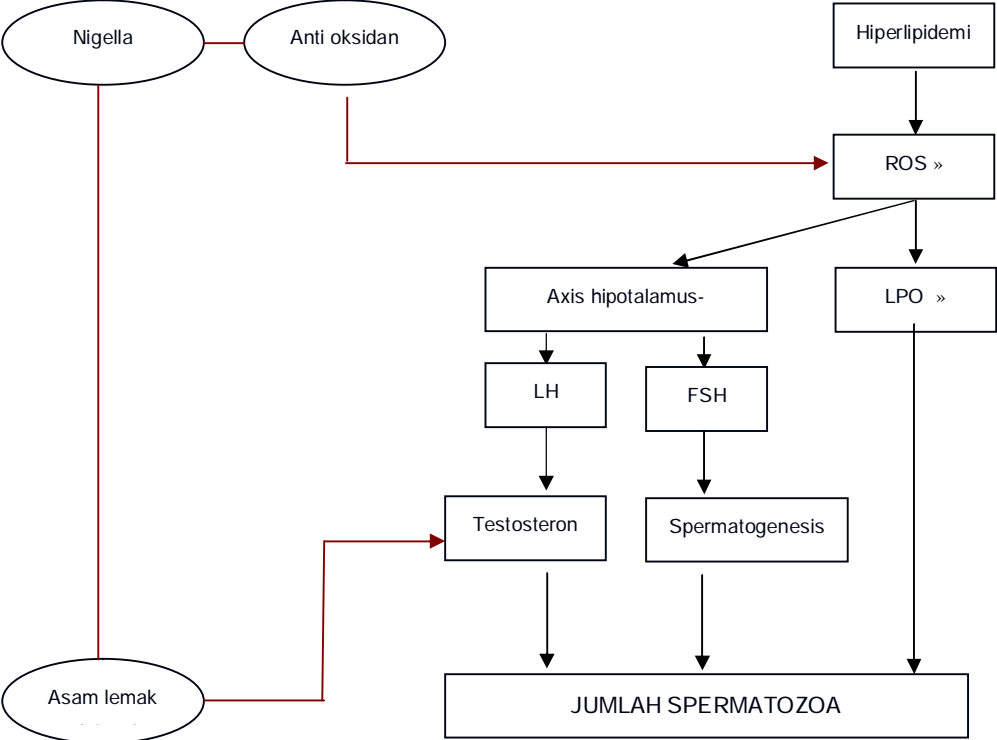
Pemberian ekstrak *Nigella sativa* dalam sebuah penelitian pada tikus hiperlipidemia, menyebabkan penurunan yang signifikan dari kolesterol, trigliserida, dan konsentrasi LDL, sekaligus meningkatkan kadar HDL. Reduksi konsentrasi lipid oleh *Nigella sativa* kemungkinan hasil dari efeknya terhadap lipoprotein serta efek hipolipidemik asam oleat dan linoleat, sebagai asam lemak-tidak jenuh, yang merupakan komponen utama minyaknya.²²

Asam lemak-tidak jenuh yang terkandung dalam *Nigella sativa* dapat menstimulasi aktivitas 17β -hydroxysteroid dehidrogenase, enzim penting dari jalur sintesis testosteron. Sehingga mengakibatkan tikus hiperlipidemia mengalami penurunan kadar testosterone plasma yang signifikan. Penurunan ini terjadi akibat dari degenerasi sel Leydig, reduksi diameter nukleus sel Leydig, atau karena penurunan kadar LH dan aktivitas testikular dari 17β -hidroksisteroid dehidrogenase.²²

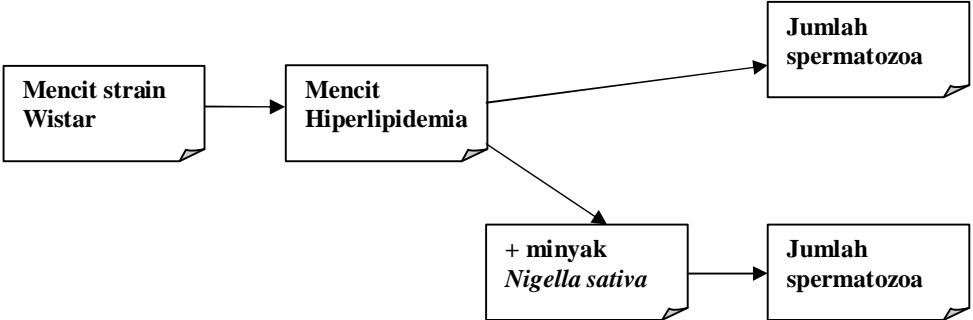
BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



3.2. Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis

Jumlah spermatozoa pada mencit strain *Wistar* yang hiperlipidemia lebih sedikit dibandingkan dengan mencit yang normal dan jumlah spermatozoa tersebut akan meningkat dengan pemberian minyak *Nigella sativa*.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi bidang biologi. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang pada bulan Mei sampai dengan Juni 2009.

4.2 Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah mencit jantan strain *Wistar* galur murni yang diperoleh dari UPHP (Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Sample penelitian ini adalah mencit jantan strain *Wistar* yang memenuhi kriteria penelitian berikut ini :

4.2.1 Kriteria inklusi

1. Mencit strain *Wistar* jantan
2. Umur 8-12 minggu
3. Berat badan 150 gram

4.2.2 Kriteria eksklusi

1. Terdapat abnormalitas anatomi yang nampak
2. Mencit tampak sakit, tidak bergerak secara aktif.
3. Mencit yang mati selama penelitian.

4.3 Data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini merupakan data primer, yaitu jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Wistar*.

4.4 Instrumen

4.4.1 Bahan

1. Mencit strain *Wistar* jantan
2. Minyak *Nigella sativa*
3. Lemak babi
4. Bahan-bahan pemeriksaan jumlah spermatozoa
5. Bahan makanan dan minuman mencit

4.4.2 Alat

1. Kandang hewan coba
2. Timbangan
3. Mikroskop cahaya dengan sumber arus listrik
4. Alat-alat pemeriksaan jumlah spermatozoa
5. Sonde lambung

4.5 Cara Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 25 ekor mencit *Wistar*²³ jantan. Pada 11 hari pertama, semua mencit diberi perlakuan adaptasi dengan diberi diet standar. Setelah itu, diperlakukan sesuai dengan kelompok masing-masing. Ikhtisar perlakuan tiap kelompok adalah sebagai berikut :

Kelompok kontrol negatif (K-) :

1. Hari ke 12 dan seterusnya diberi diet standar.

2. Diukur kadar lipid darahnya.
3. Hari ke 44 diterminasi dan dihitung jumlah spermatozoanya.

Kelompok kontrol positif (K+) :

1. Hari ke 12 – 44 diberikan diet standar dan diet lemak babi.
2. Hari ke 44 diterminasi dan dihitung jumlah spermatozoanya.

Kelompok perlakuan 1 (P1) :

1. Hari ke 12 – 44 diberikan diet standar dan diet lemak babi 2 ml/hari
2. Hari ke 27 – 44 diberikan minyak *Nigella sativa* sebanyak 0,009 ml/hari.²⁴
3. Hari ke 44 diterminasi dan dihitung jumlah spermatozoanya.

Kelompok perlakuan 2 (P2) :

1. Hari ke 12 – 44 diberikan diet standar dan diet lemak babi 2 ml/hari.
2. Hari ke 27 – 44 diberikan minyak *Nigella sativa* sebanyak 0,09 ml/hari
3. Hari ke 44 diterminasi dan dihitung jumlah spermatozoanya.

Kelompok perlakuan 3 (P3) :

1. Hari ke 12 – 44 diberikan diet standar dan diet lemak babi 2 ml/hari.
2. Hari ke 27 – 44 diberikan minyak *Nigella sativa* sebanyak 0,9 ml/hari
3. Hari ke 44 diterminasi dan dihitung jumlah spermatozoanya.

Pada hari ke-44 mencit tersebut diterminasi, kemudian diambil sampel sperma pada tiap-tiap kelompok untuk diperiksa jumlah spermatozoa. Sampel diambil dari vas deferens yang dipotong. Bagian yang dipotong tadi, dimasukkan dalam cawan pengencer yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 1 cc, kemudian diaduk agar sperma keluar dan menjadi homogen. Sperma yang homogen dihisap dengan

menggunakan pipet eritrosit sampai angka 0,5 dan dilanjutkan dengan menghisap NaCl 0,9% sampai angka 101. Kemudian pipet eritrosit dikocok dengan memutar-mutar mengikuti sumbu sagital agar sperma menjadi lebih homogen setelah diencerkan. Beberapa tetesan pertama dibuang, lalu sperma diteteskan di atas bilik hitung Neubauer Improved yang telah ditutup dengan deck glass terlebih dahulu. Preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 10X. Prosedur pemeriksaan jumlah spermatozoa dilakukan pada masing-masing kelompok. Jumlah spermatozoa dihitung dari rerata lima lapangan pandang.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Minyak *Nigella sativa*

Minyak *Nigella sativa* didapat secara komersil di pasaran dengan merek Habbatus sauda' yang diproduksi oleh PT. Habatussauda International Indonesia.

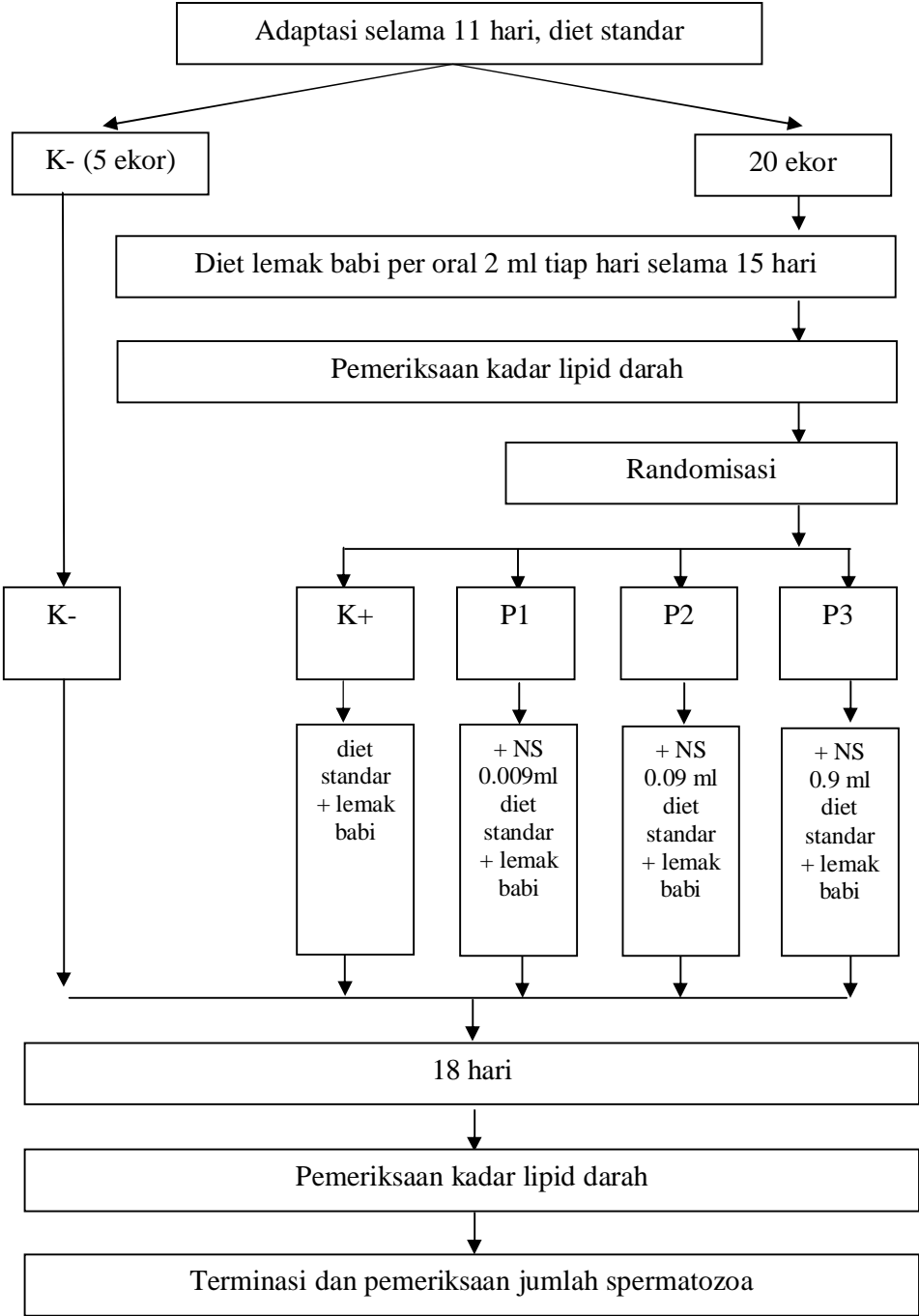
4.6.2 Jumlah spermatozoa

Jumlah spermatozoa adalah banyaknya spermatozoa yang dihitung dari rerata 5 lapangan pandang, di bawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 10 kali.

4.6.3 Mencit Hiperlipidemia

Mencit dibuat hiperlipidemia dengan pemberian diet lemak babi sebanyak 2 ml tiap hari.

4.7 Alur Penelitian



4.8 Analisis

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS 15.0 for Windows*. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk*. Jika didapatkan distribusi data yang normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji statistik parametrik *One Way ANOVA*, dan jika didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji statistik *Post Hoc (Tukey HSD)*. Sedang jika didapatkan distribusi data yang tidak normal, maka dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*, dan jika dari hasil uji statistik tersebut ada perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitney U*.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Dari pemeriksaan kadar kolesterol darah mencit yang diinduksi hiperlipidemia dan setelah diberi terapi dengan minyak *Nigella sativa*, didapatkan adanya perbedaan yang cukup bermakna.

Tabel.1. Kadar kolesterol pada hewan penelitian

Kelompok	Kolesterol (mg/dl)	
	Pre	Post
K(-)	58,298	-
K(+)	74,702	69,088
P 1	79,172	59,854
P 2	86,508	72,048
P 3	110,732	60,716

Keterangan :

K(-) : kelompok mencit normal dengan diet standar

K(+): kelompok mencit hiperlipidemia

P 1 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,009 ml/hari

P 2 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,09 ml/hari

P 3 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,9 ml/hari

Pre : sebelum terapi minyak *Nigella sativa*

Post : setelah terapi minyak *Nigella sativa*

Data jumlah spermatozoa didapatkan dengan deskripsi sebagai berikut :

Tabel.2 . Jumlah spermatozoa pada hewan penelitian

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K (-)	2.20	1.304	1	4
K (+)	1.40	1.140	0	3
P 1	4.00	1.871	2	6
P 2	5.20	2.280	2	8
P 3	3.20	1.789	1	6

Keterangan :

K(-) : kelompok mencit normal dengan diet standar

K(+): kelompok mencit hiperlipidemia

P 1 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,009 ml/hari

P 2 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,09 ml/hari

P 3 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,9 ml/hari

Terdapat penurunan rerata jumlah spermatozoa dari kelompok kontrol negatif ke kelompok kontrol positif. Rerata jumlah spermatozoa paling rendah didapatkan pada kelompok kontrol positif (1.40) dan paling tinggi didapatkan pada kelompok P2 (5.20).

Uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal. Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene*. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik *Oneway ANOVA*, yang menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada jumlah spermatozoa antarkelompok. Karena hasilnya bermakna, analisis data dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan bermakna antar masing-masing kelompok.

Tabel.3 . Perbandingan hasil analisis jumlah spermatozoa antar kelompok

p	K (-)	K (+)	P 1	P 2	P 3
K (-)	-	0.946	0.486	0.082	0.887
K (+)	0.946	-	0.161	0.018*	0.486
P 1	0.486	0.161	-	0.805	0.946
P 2	0.082	0.018*	0.805	-	0.384
P 3	0.887	0.486	0.946	0.384	-

Keterangan : * = Berbeda bermakna ($p < 0,05$)

K(-) : kelompok mencit normal dengan diet standar

K(+): kelompok mencit hiperlipidemia

P 1 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,009 ml/hari

P 2 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,09 ml/hari

P 3 : kelompok dengan pemberian *Nigella sativa* 0,9 ml/hari

Perbedaan yang bermakna terdapat antara kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan dua (P2), dengan $p = 0.018$.

BAB 6

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah spermatozoa pada kelompok kontrol positif (K+) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-). Namun penurunan jumlah tersebut, secara analisis data statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah spermatozoa pada kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok kontrol negatif (K-).

Induksi lemak babi menimbulkan gangguan pada keseimbangan kadar lipid darah, sehingga menyebabkan kenaikan kadar kolesterol dan trigliserid. Pada keadaan hipertrigliseridemia dan hiperkolesterolemia, kualitas semen yang dihasilkan tidak baik dan bisa memberikan efek langsung pada fungsi testis sehingga bisa menginduksi infertilitas.³

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa diet lemak babi yang diberikan, belum signifikan menurunkan jumlah spermatozoa. Hal ini diperkirakan karena waktu pemberian diet lemak babi yang tidak lama, yaitu 15 hari pertama tanpa terapi dengan minyak jantan hitam dan dilanjutkan 18 hari berikutnya disertai pemberian minyak jantan hitam. Di sisi lain, spermatogenesis merupakan proses yang sangat kompleks, yang mana spermatogonium berkembang menjadi spermatozoa dan didukung oleh hormon-hormon yang mempengaruhi sistem reproduksi. Waktu yang dibutuhkan agar spermatogenesis dapat berlangsung dengan lengkap pada mencit yaitu 51 – 53 hari.⁸

Jumlah spermatozoa dari kelompok perlakuan, yaitu kelompok perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3), menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+).

Peningkatan jumlah spermatozoa dimungkinkan karena minyak *Nigella sativa* menyebabkan penurunan yang signifikan dari kolesterol dan trigliserida, serta meningkatkan kadar HDL. Reduksi konsentrasi lipid oleh *Nigella sativa* kemungkinan merupakan hasil dari efeknya terhadap lipoprotein serta efek hipolipidemik asam oleat dan linoleat, sebagai asam lemak-tidak jenuh, yang merupakan komponen utama minyaknya. Asam lemak-tidak jenuh yang terkandung dalam *Nigella sativa* dapat menstimulasi aktivitas 17β -hydroxysteroid dehidrogenase, enzim penting dari jalur sintesis testosteron.²²

Minyak *Nigella sativa* mengandung asam linoleat hingga 50%, 25% asam oleat, 12% asam palmitat, 2,84% asam stearat, 0,34% asam linolenat dan 0,35% asam miristat.²²

Minyak *Nigella sativa* juga memiliki potensi antioksidan dari bahan aktif yang terkandung di dalamnya, yaitu *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethol*, dan *4-terpineol*. Keempat bahan tersebut memiliki aktivitas *OH radical scavenging* yang efektif pada peroksidasi lipid nonenzimatis dan degradasi *deoxyribose*.²⁵ Stres oksidatif merupakan hasil dari ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS, dimana terjadi peningkatan pembentukan ROS tanpa diimbangi eliminasinya oleh antioksidan dalam tubuh.² Walaupun ROS terdapat secara fisiologis pada sperma, namun jumlah yang berlebihan menyebabkan stress oksidatif.²⁶ Peningkatan ROS dapat merusak membran mitokondria sehingga

terjadi pelepasan protein sitokrom C menyebabkan hilangnya fungsi potensial membran mitokondria, yang menginduksi apoptosis sel sperma.²⁷ Pada minyak *Nigella sativa*, aktivitas antioksidan *thymoquinon* memegang peranan sangat penting sebagai protektor spermatozoa terhadap ROS yang meningkat pada kondisi stres oksidatif.³

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Terdapat penurunan jumlah spermatozoa pada mencit hiperlipidemia, dibandingkan dengan mencit yang normal.
2. Pemberian minyak *Nigella sativa* sebanyak 0.09 ml/hari selama 18 hari berpengaruh signifikan terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit hiperlipidemia.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian minyak *Nigella sativa* terhadap morfologi spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agarwal A, Said TM. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJUI* 2005 ; 95: 503-7
2. Agarwal A, Prabakaran SA. Oxidative stress and antioxidants in male infertility: a difficult balance. *IJRM* 2005; 3:1-8
3. Bashandy AES. Effect of fixed oil *Nigella sativa* on male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *Int J Pharmacol* 2007 ; 3:27-33
4. Dorland, WA Newman. Kamus Kedokteran Dorland. Ed.29, Editor : Huriawati Hartanto. Jakarta : EGC;2000
5. Guyton AC, Hall EJ. Buku ajar fisiologi kedokteran. Ed. 9, Editor : Setiawan I, Jakarta : EGC. halaman 1045 ; 1997
6. Moore KL, Agur AM.R. Anatomi Klinis Dasar. Editor : Sadikin Vivi, Saputra Virgi. Jakarta : Hipocrates.halaman : 162-167; 2002
7. Shier D, Butler J, Lewis R. Hole's Essential of Human Anatomy and Physiology. 8th ed. New York, USA: McGrawHill .p.498-508;2003
8. Nieschlag E, Behre HM, editor. Andrology Male Reproductive Health Dysfunction. 2nd ed. Berlin:Springer.p.24-57;2000
9. Janquiera LC, Caneiro J, Kelley RO. Basic Histology.9th ed. New York, USA:McGrawHill. p.406-419 ; 1998
10. Montaque DK. Disorders of male sexual function, Chicago: Yar Book Medical Publisers, Inc ; 1998
11. Wuryantari MN. Perkembangan Mutakhir Fisiologi Fungsi Testis: Dari Organ Sampai Gen. Majalah Kedokteran Indonesia ; 50: 337-84 ;2000
12. Fauci, Braunwald, Isselbacher, Wilson, Martin, Kasper, et al. 1998. In : Harrison's Principle of Internal Medicine. 14th ed. Vol 2. New York: McGrawHill ; p : 1980-1981 ;1998
13. Meldru DR. Infertilitas. Dalam buku : Hacker NF, Moore JG, editor. Esensial obstetri dan ginekologi. ed 2. Jakarta: Hipokrates, halaman : 598-602 ;2001
14. Keel BA, May JV, De Jonge CJ, editors. Handbook of assisted reproduction laboratory. Boca Raton, USA: CRC Press ; p:82 ;2002

15. Centola GM, Ginsburg KA, editors. Evaluation and treatment of the infertile male. Cambridge, Great Britain: Cambridge University Press; 1996
16. Adam John FM. Dislipidemia. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, halaman:1926 ; 2006
17. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, et al. Negative Effects of Increased Sperm DNA Damage in Relation to Seminal Oxidative Stress in Men with Idiopathic and Male Factor Infertility. Fertility and Sterility ; 2003
18. Ozdamara AS, et al. Testicular oxidative stress. Urologia Internationalis; 2004
19. Sikka, et al. Oxidative Stress and Role of Antioxidant in Normal and Abnormal Sperm Function. Frontiers in Bioscience 1, e78-86 ; 1996
20. Lard. 2009. Available from URL: HYPERLINK <http://www.wikipedia.com>
21. *Nigella sativa*. 2005. Available from URL: HYPERLINK <http://www.seedbiology.department.com>
22. *Nigella sativa*. 2007. Available from URL: HYPERLINK <http://www.wikipedia.com>
23. WHO. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of TraditionalMedicine.
<http://www.who.int/medicinedocs/collect/medicinedocs/pdf/whozip42e/whozip42e.pdf> --> WHOpdf
24. Hendrik H. Habbatus Sauda'. Surakarta : Penerbit Al Umat ; 2005
25. Khotimah S. Pengaruh pemberian ekstrak jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar GHS paru dan hepar tikus Wistar yang dipapar asap rokok. Jurnal Biosains Pascasarjana (JBP) ; 8: 7-12 ; 2006
26. Hawsawi ZA, Ali BA, Bamosa AO. Effect of *Nigella sativa* and thymoquinone on blood glukose in albino rats. Available from URL : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=retrieve&db=pubmed&dopt=abstractplus&list_uids=17264566
27. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, et al. Prevention of apoptosis by bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. Science 1997; 275: 1129-32

LAMPIRAN

Descriptives

Perlakuan		Statistic	Std. Error				
Jumlah Spermatozoa	K (-)	Mean	2.20	.583			
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.58			
			Upper Bound	3.82			
		5% Trimmed Mean	2.17				
		Median	2.00				
		Variance	1.700				
		Std. Deviation	1.304				
		Minimum	1				
		Maximum	4				
		Range	3				
		Interquartile Range	3				
		Skewness	.541	.913			
		Kurtosis	-1.488	2.000			
		K (+)	K (+)	Mean	1.40	.510	
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.02	
					Upper Bound	2.82	
5% Trimmed Mean	1.39						
Median	1.00						
Variance	1.300						
Std. Deviation	1.140						
Minimum	0						
Maximum	3						
Range	3						
Interquartile Range	2						
Skewness	.405			.913			
Kurtosis	-.178			2.000			
P 1	P 1			Mean	4.00	.837	
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.68	
					Upper Bound	6.32	
		5% Trimmed Mean	4.00				
		Median	5.00				
		Variance	3.500				
		Std. Deviation	1.871				
		Minimum	2				
		Maximum	6				
		Range	4				
		Interquartile Range	4				

		Skewness	-0.382	.913
		Kurtosis	-2.898	2.000
P 2		Mean	5.20	1.020
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	2.37	
		Upper Bound	8.03	
		5% Trimmed Mean	5.22	
		Median	6.00	
		Variance	5.200	
		Std. Deviation	2.280	
		Minimum	2	
		Maximum	8	
		Range	6	
		Interquartile Range	4	
		Skewness	-0.405	.913
		Kurtosis	-1.178	2.000
P 3		Mean	3.20	.800
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	.98	
		Upper Bound	5.42	
		5% Trimmed Mean	3.17	
		Median	3.00	
		Variance	3.200	
		Std. Deviation	1.789	
		Minimum	1	
		Maximum	6	
		Range	5	
		Interquartile Range	3	
		Skewness	.821	.913
		Kurtosis	2.363	2.000

Perlakuan

Case Processing Summary

Perlakuan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jumlah Spermatozoa	K (-)	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	K (+)	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P 1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P 2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P 3	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Spermatozoa	K (-)	.221	5	.200(*)	.902	5	.421
	K (+)	.237	5	.200(*)	.961	5	.814
	P 1	.304	5	.149	.817	5	.111
	P 2	.237	5	.200(*)	.961	5	.814
	P 3	.345	5	.053	.863	5	.238

* This is a lower bound of the true significance.
 a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Spermatozoa

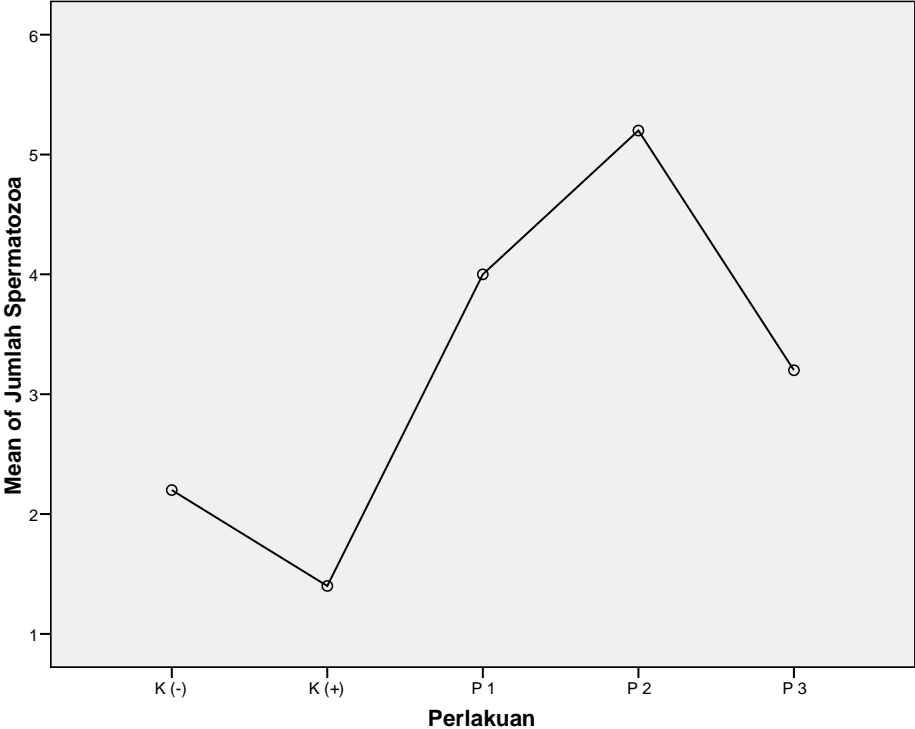
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.914	4	20	.475

ANOVA

Jumlah Spermatozoa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44.400	4	11.100	3.725	.020
Within Groups	59.600	20	2.980		
Total	104.000	24			

Means Plots



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Spermatozoa
Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K (-)	K (+)	.800	1.092	.946	-2.47	4.07
	P 1	-1.800	1.092	.486	-5.07	1.47
	P 2	-3.000	1.092	.082	-6.27	.27
	P 3	-1.000	1.092	.887	-4.27	2.27
K (+)	K (-)	-.800	1.092	.946	-4.07	2.47
	P 1	-2.600	1.092	.161	-5.87	.67
	P 2	-3.800(*)	1.092	.018	-7.07	-.53
	P 3	-1.800	1.092	.486	-5.07	1.47
P 1	K (-)	1.800	1.092	.486	-1.47	5.07
	K (+)	2.600	1.092	.161	-.67	5.87
	P 2	-1.200	1.092	.805	-4.47	2.07
	P 3	.800	1.092	.946	-2.47	4.07
P 2	K (-)	3.000	1.092	.082	-.27	6.27
	K (+)	3.800(*)	1.092	.018	.53	7.07
	P 1	1.200	1.092	.805	-2.07	4.47
	P 3	2.000	1.092	.384	-1.27	5.27
P 3	K (-)	1.000	1.092	.887	-2.27	4.27
	K (+)	1.800	1.092	.486	-1.47	5.07
	P 1	-.800	1.092	.946	-4.07	2.47
	P 2	-2.000	1.092	.384	-5.27	1.27

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Jumlah Spermatozoa

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
K (+)	5	1.40	
K (-)	5	2.20	2.20
P 3	5	3.20	3.20
P 1	5	4.00	4.00
P 2	5		5.20
Sig.		.161	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**Rerata Kadar Lipid Darah Mencit
(diet lemak babi)**

Kelompok	Kolesterol (mg/dl)	
	Pre	Post
K(-)	63.95	-
K(-)	59.64	-
K(-)	44.31	-
K(-)	59.16	-
K(-)	64.43	-
K(+)	85.52	92.70
K(+)	56.0	61.80
K(+)	79.72	74.96
K(+)	77.79	48.64
K(+)	74.48	67.34
P 1	81.10	59.79
P 1	70.90	84.12
P 1	97.10	45.78
P 1	76.97	65.52
P 1	69.79	44.06
P 2	84.41	70.39
P 2	79.72	74.68
P 2	97.38	61.52
P 2	75.86	76.97
P 2	95.17	76.68
P 3	104.28	66.38
P 3	125.52	48.93
P 3	115.86	65.52
P 3	98.76	65.24
P 3	109.24	57.51

Keterangan:

Nilai rujukan kadar kolesterol darah pada mencit : 10 – 54 mg/dl (Kusumawati D, 2004)