

**PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK MINYAK HABATUSSAUDA (*Nigella sativa*)
TERHADAP REPRODUKSI MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

**THE EFFECT OF SUPPLEMENTATION EXTRACT OIL HABATUSSAUDA (*Nigella sativa*)
ON MALE MICE REPRODUCTION (*Mus musculus*)**

A Rahmi¹, Estuningsih S², Agungpriyono DR², A Baharun^{1a}

¹Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Djuanda Bogor, Jl. Tol Ciawi No. 1, Kotak Pos 35 Ciawi, Bogor 16720.

²Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis IPB University, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor, 16680

^aKorespondensi: Abdullah Baharun, E-mail: abdullah.baharun@unida.ac.id

(Diterima oleh Dewan Redaksi: 14 July 2022)

(Dipublikasikan oleh Dewan Redaksi: 30 April 2023)

ABSTRACT

The increased of free radicals and DNA damage in spermatozoa may effected to male fertility, so we need antioxidant component to prevent the damage. Habbatussauda (*Nigella sativa*) is a herbal indicated to improved spermatogenesis function. This study was aimed to get information about Habbatussauda supplementation effect on mice testicle function. Thirty six male mice of 4 week aged were divided into four group, each group consists of nine mice. Group I was negative control (received aquadest), group II (received 0.1 ml Habbatussauda oil extract), group III (received 0.2 ml Habbatussauda oil extract), and group IV (received 0.3 ml mixed of Habbatussauda oil extract and honey). This treatment during for two month, and the mice were euthanized and necropsied for collection testis organ as sample. The sample was processed to prepare histology slides with Hematoxylin-Eosin stain. The parameters observed include to count on and differentiate of the spermatogenic cells, Sertoli cell, and Leydig cell using software Image J[®]. Qualitative data were analyzed with SPSS[®] software with ANOVA test and followed by Duncan test. The result showed that Habbatussauda caused increasing of spermatogenic cells, Sertoli cell, and Leydig cell on group II, III, and IV which were significant ($P < 0.05$) with the negative control group.

Keywords: habbatussauda, spermatogenesis, testicle histology

ABSTRAK

Peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada DNA spermatozoa yang dapat memengaruhi fertilitas pria. Habatussauda (*Nigella sativa*) merupakan salah satu herbal yang dipercaya dapat meningkatkan fungsi spermatogenesis melalui pencegahan kerusakan DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai efektivitas pemberian Habatussauda terhadap fungsi organ reproduksi mencit jantan melalui gambaran histologi testis. Sebanyak 36 ekor mencit jantan berusia 4 minggu dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan, sehingga dalam setiap kelompok perlakuan terdiri dari 9 ekor mencit. Kelompok I adalah kontrol negatif (diberikan aquadest), kelompok II (diberikan 0,1 ml ekstrak minyak Habatussauda), kelompok III (diberikan 0,2 ml ekstrak minyak Habatussauda), dan kelompok IV (diberikan 0,3 ml campuran ekstrak minyak Habatussauda dan madu). Perlakuan diberikan selama 2 bulan, kemudian mencit dieuthanasi dan dikoleksi organ testisnya. Sampel organ testis dibuat menjadi preparat histologi dan diwarnai menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Parameter yang diobservasi adalah jumlah dan diferensiasi sel-sel spermatogenik, sel Sertoli, dan sel Leydig dengan menggunakan perangkat lunak Image J[®]. Selanjutnya data kualitatif dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak SPSS[®] versi 20 dengan menggunakan uji ANOVA dan diikuti oleh uji lanjut Duncan. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak minyak Habatussauda menyebabkan peningkatan jumlah sel-sel spermatogenik,

sel Sertoli, dan Sel Leydig pada kelompok perlakuan II, III, dan IV secara signifikan ($P < 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

kata kunci: habatussauda, spermatogenesis, histologi testis

Rahmi A, Estuningsih S, Agungpriyono DR, dan Baharun A. 2023. Pengaruh Pemberian Ekstrak Minyak Habatussauda (*Nigella sativa*) terhadap Reproduksi Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Peternakan Nusantara* 9 (1): 9-14.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis dengan suhu dan kelembaban yang sesuai untuk pertumbuhan berbagai makhluk hidup, termasuk agen penyakit infeksius. Dalam menangkal berbagai macam penyakit dibutuhkan daya tahan tubuh yang baik. Salah satu cara untuk meningkatkan daya tahan tubuh adalah dengan mengonsumsi suplemen. Habatussauda merupakan salah satu jenis suplemen makanan yang sering digunakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Komponen bioaktif Habatussauda seperti *thymoquinone* dan *nigellimin* bermanfaat dalam pengobatan kasus COVID-19 (Rahman, 2020).

Habatussauda merupakan produk suplemen yang berasal dari ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*). Tanaman ini merupakan herbal berbunga tahunan (Datta *et al.*, 2012). Spesies tumbuhan semak rendah ini termasuk dalam *family Racunculaceae* (Sultana *et al.*, 2015), di daerah subtropis tumbuh baik pada suhu $< 20^{\circ}\text{C}$ (Telafih *et al.*, 2007) dan pH tanah 7,0-7,8) (Tuncurk *et al.*, 2012). Beberapa penelitian menunjukkan efek jintan hitam sebagai antioksidan, analgesik, antipiretik, antihipertensi, bronkodilator, anti ulkus, antibakteri, imunomodulator, antijamur, atau pun antihelmentik (Sultana *et al.*, 2015). Jintan hitam berpotensi meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antitumor, dan antidiabetik (Zafar *et al.*, 2016). Jintan hitam efektif sebagai agen antiperadangan dengan menghambat keluarnya histamin pada kejadian asthma (Ikhsan *et al.*, 2018). Zafar *et al.* (2019) melaporkan suplementasi minyak jintan hitam mampu meningkatkan pengobatan pasien penyakit ginjal kronis stadium 3 dan 4.

Jintan hitam dalam bentuk komersial dikenal sebagai Habatussauda yang sering digunakan sebagai suplemen makanan dan sering dikombinasikan dengan madu. Madu mengandung senyawa penofilik yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya karsinogenesis dan mutagenesis (Abdul-Ghani *et al.*, 2008). Habatussauda dan madu dipercaya dapat meningkatkan fertilitas pada pria yang mengkonsumsinya secara rutin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak jintan hitam atau Habatussauda, baik yang diberikan secara tunggal maupun yang dikombinasikan dengan madu terhadap fungsi reproduksi mencit jantan melalui gambaran histologi organ testis. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai pembuktian secara ilmiah mengenai pengaruh konsumsi Habatussauda terhadap fungsi reproduksi pria.

MATERI DAN METODE

Masa Pra Perlakuan

Sebanyak 36 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) usia 4 minggu dipelihara di dalam kandang dari kotak plastik yang sudah dimodifikasi. Digunakan alas kandang dari kain yang diganti setiap hari untuk menjaga kebersihan. Masa pra perlakuan yaitu pemberian beberapa obat-obatan seperti antihelmentik (Albendazole) 10 mg/Kg BB banyak 2 kali dosis tunggal yaitu pada minggu 1 dan minggu ke 3, antibiotik (Amoxycillin) 1 mg/kg BB diberikan selama 5 hari berturut-turut, dan antijamur (Flagyl®) 30 mg/kg BB selama 5 hari berturut-turut setelah konsumsi antibiotik selesai. Penentuan dosis obat-obatan berdasarkan Hrapkiewicz dan Mediana (2007).

Masa Perlakuan

Mencit kemudian dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Perlakuan diberikan secara peroral dengan bantuan sonde lambung. Kelompok I (diberikan 0,1 ml aquades), kelompok II (diberikan 0,1 ml ekstrak minyak Habatussauda), kelompok III (diberikan 0,2 ml ekstrak minyak Habatussauda), dan kelompok IV (diberikan 0,3 ml kombinasi ekstrak minyak Habatussauda dan madu). Perlakuan ini diberikan setiap hari selama 8 minggu.

Koleksi Sampel, Pembuatan Preparat Histologi, dan Parameter Pengamatan

Mencit diterminasi dengan cara dislokasi os occipitalis dan dilakukan pengoleksian organ testis. Selanjutnya organ testis diproses menjadi preparat histologi dengan menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Parameter yang diamati adalah jumlah dari sel-sel spermatogenik yang ada di tubulus seminiferus, jumlah sel Sertoli, dan sel Leydig pada 10 buah tubulus seminiferus.

Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis secara menggunakan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan SPSS® versi 20.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan jumlah sel-sel spermatogenik pada tubulus seminiferus didapatkan dengan cara menghitung jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, dan spermatid (Tabel 1).

Hasil analisis menunjukkan pemberian ekstrak minyak Habatussauda dapat meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik, yaitu: sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, dan spermatid pada semua perlakuan (Tabel 1). Jumlah sel-sel spermatogenik lebih tinggi ($P < 0,05$) pada kelompok yang diberi ekstrak minyak Habatussauda (KII, KIII, dan KIV) jika

dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (KI). Kohladoo *et al.* (2014) melaporkan hal serupa yaitu suplementasi 5 ml/hari ekstrak minyak *Nigella sativa* selama 2 bulan dapat memperbaiki kualitas semen pada pria yang mengalami infertilitas. Marbat *et al.* (2013) turut melaporkan bahwa terjadi peningkatan volume, viabilitas, dan morfologi sperma normal pada pria yang mengkonsumsi 2 gram/hari ekstrak *Nigella sativa* selama 60 hari, selain itu terjadi pula peningkatan signifikan pada level FSH, LH, dan testosteron di dalam serum. Peningkatan jumlah sel-sel spermatogenik, sel Sertoli, dan sel Leydig pada kelompok perlakuan II, III, dan IV kemungkinan disebabkan oleh khasiat Habatussauda yang dapat merangsang kelenjar hipofisis untuk menghasilkan hormon perangsang folikel (*follicle stimulating hormone/ FSH*) dan hormon lutein (*luteinizing hormone/ LH*). FSH akan merangsang sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*androgen binding protein*) yang akan memacu spermatogonium untuk memulai spermatogenesis, sedangkan LH akan merangsang sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron (Senger, 2012).

Spermatogenesis merupakan proses pembentukan sel spermatozoa, yang terjadi di organ kelamin jantan yaitu testis, tepatnya di dalam tubulus seminiferus (Agustinus *et al.*, 2018). Tubulus seminiferus terdiri dari sejumlah besar sel germinal yang disebut spermatogonia (jamak). Sel spermatogonia terletak di dua sampai tiga lapis luar sel-sel epitel tubulus seminiferus (Agustinus *et al.*, 2018). Spermatogonia berdiferensiasi melalui tahap-tahap perkembangan tertentu untuk membentuk sperma. Spermatogenesis terdiri dari tiga tahap, yaitu: pertama, spermatositogenesis (spermatogonia yang mengalami mitosis berkali-kali yang akan menjadi spermatosit primer). Kedua, tahap meiosis (meiosis I spermatosit primer akan menjadi spermatosit sekunder, dan meiosis II spermatosit sekunder menjadi spermatid). Ketiga, tahap spermiogenesis (spermatid menjadi spermatozoa).

Tabel 1. Rataan jumlah sel-sel spermatogenesis, sel Sertoli dan sel Leydig pada setiap kelompok perlakuan per satuan lapang pandang 20.000 μm^2

Sel yang diamati	Perlakuan			
	KI	KII	KIII	KIV
Spermatogonia	13,50±2,62 ^a	23,13±3,94 ^b	32,54±5,40 ^c	38,94±7,90 ^d
Spermatosit primer	14,52±3,17 ^a	24,09±3,60 ^b	32,37±5,65 ^c	36,99±6,50 ^d
Spermatosit sekunder	20,64±8,00 ^a	39,39±5,63 ^b	45,07±12,09 ^c	61,35±14,74 ^d
Spermatid	16,10±4,29 ^a	26,27±4,32 ^b	43,03±13,07 ^c	52,66±11,42 ^d
Sel Sertoli	2,85±0,79 ^a	3,56±0,99 ^b	5,13±1,54 ^c	5,01±0,95 ^c
Sel Leydig	2,85±0,70 ^a	4,02±0,99 ^b	5,50±1,19 ^c	6,27±1,03 ^d

superscript berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada baris yang sama antar kelompok perlakuan; KI = kontrol negatif; KII = 0,1 ml ekstrak minyak Habatussauda; KIII = 0,2 ml ekstrak minyak Habatussauda; KIV = 0,3 ml kombinasi ekstrak minyak Habatussauda dan madu.

Ekstrak minyak Habatussauda mengandung komponen antioksidan yaitu *thymoquinone* dan asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat dan oleat (Islam *et al.*, 2017). Koohladoz *et al.* (2014) melaporkan bahwa kandungan *thymoquinone* di dalam Habatussauda kemungkinan mampu untuk menetralkan radikal bebas di dalam semen, selain itu kandungan asam lemak tak jenuhnya mampu meningkatkan parameter evaluasi sperma seperti meningkatkan motilitas spermatozoa dan menurunkan jumlah sperma abnormal. Komponen asam lemak tak jenuh di dalam ekstrak minyak Habatussauda berperan dalam sintesis hormon testosteron dengan cara meningkatkan aktivitas enzim 17 beta-hidroksisteroid dehydrogenase (Bashandy, 2006). Enzim ini berperan penting dalam sintesa hormon testosteron, sedangkan testosteron sangat dibutuhkan dalam spermatogenesis (Mahdavi *et al.*, 2014). Ping *et al.* (2014) melaporkan kandungan *thymoquinone* dapat mempengaruhi enzim fosforilasi oksidatif dan melindungi sel dari radikal bebas yang dapat memengaruhi kualitas spermatozoa.

Thymoquinone di dalam Habatussauda dilaporkan dapat mencegah terjadinya kerusakan sel akibat stres oksidatif (El-Dakhakhny *et al.* 2002). Salah satu pemacu terjadinya stres oksidatif adalah keberadaan radikal bebas. Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron

tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Radikal bebas merupakan suatu kelompok bahan kimia dengan reaksi jangka pendek yang memiliki satu atau lebih elektron bebas (Droge 2002). Kerusakan sel-sel spermatogenik oleh faktor radikal bebas dapat dicegah dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan. Kandungan antioksidan dalam Habatussauda juga berperan penting dalam melindungi organ sistem reproduksi dari efek toksik radikal bebas akibat makanan yang dikonsumsi dan radikal bebas dari lingkungan (Bashandy 2007).

Kombinasi Habatussauda dan madu pada kelompok IV memperlihatkan jumlah sel-sel spermatogenik, sel Sertoli, dan Sel Leydig tertinggi jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya kandungan madu yang dapat meningkatkan fertilitas dan vitalitas pada pria dengan mengkonsumsinya secara rutin (Sirisinghe *et al.*, 2006).



Gambar 1 Histologi organ testis mencit; (A) kelompok perlakuan I (B) kelompok perlakuan IV

Hasil analisis menunjukkan terjadi peningkatan jumlah sel-sel spermatogenik, sel Sertoli, dan sel Leydig pada gambaran tubulus seminiferous (Gambar 1). Pada kedua gambar yaitu 1A dan 1B dapat secara cepat dilihat perbandingan kerapatan sel-sel pada sebuah tubulus seminiferus mencit yang telah diberikan perlakuan yang berbeda. Hasil ini dimungkinkan oleh pemberian ekstrak minyak Habatussauda yang dikombinasikan dengan madu memiliki efektivitas dalam meningkatkan hormon testosteron dalam spermatogenesis. Mahaneem *et al.* (2011) melaporkan bahwa madu bekerja dengan cara mendukung fungsi sel Leydig dalam menghasilkan testosteron, sehingga kombinasinya dengan Habatussauda memiliki efek potensiasi dalam menghasilkan testosteron.

Kemungkinan lainnya adalah kombinasi Habatussauda dan madu memiliki efektivitas sebagai antioksidan yang akan menghambat kerusakan sel akibat radikal bebas. Sirisinghe *et al.* (2006) melaporkan bahwa madu memiliki aktivitas antibakteri dan antiradang, selain itu madu juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Mandal & Mandal, 2011). Adanya kedua aktivitas tersebut membuat jumlah sel yang rusak oleh radikal bebas menjadi menurun. Bashandy (2007) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan di dalam madu mencegah terjadinya radikal bebas yang dapat merusak sel-sel spermatogenik, sel Sertoli, maupun sel Leydig. Lebih dari itu, suplementasi kombinasi minyak Habatussauda dan madu pada media preservasi semen domba dapat memperpanjang angka recovery pada semen segar dan pasca thawing (Maidin *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Kesimpulan

Konsumsi ekstrak minyak jintan hitam atau Habatussauda, baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan madu dapat meningkatkan fungsi reproduksi mencit jantan melalui peningkatan jumlah

sel-sel spermatogenik, sel Leydig dan sel Sertoli.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Ghani AS, Dabdoub N, Muhammad R, Abdul-Ghani R, Qazzaz M. 2008. Effect of Palestinian honey on spermatogenesis in rats. *Journal of Medicinal Food*. 11(4):799-802.
- Agustinus, I'tishom R, Pramesti D. 2018. *Biologi reproduksi pria*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Bashandy AES. 2006. Effect of fixed oil *Nigella sativa* on male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *International Journal of Pharmacology*. 2(1):104-109.
- Datta AK, Saha A, Bhattacharya A, Mandal A, Paul R, Sengupta S. 2012. Black cumin (*Nigella sativa* L.)-a review. *Journal of Plant Development Sciences*. 4(1)1-43.
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Review*. 82:47-95.
- El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lambert N, Ammon HP. 2002. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 81:161-164.
- Hrapkiewicz K, Mediana L. 2007. *Clinical Laboratory Animal Medicine*. Ed ke-3. US of America: Blackwell Publishing.
- Ikhsan M, Hiedayati N, Maeyama K, Nurwidya F. 2018. *Nigella sativa* as anti-inflammatory agent in asthma. *BMC Research Note*. 11:744.
- Islam MT, Guha B, Hosen S, Riaz TA, Shahadat S, Sousa L, Santos JV, Junior JJ, Torres de Lima RM, Braga AL, Campino de Reis A, Barros de Alencar MVO, Melo-

- Cavalcante AA. 2017. Nigellalogy: a review on *Nigella sativa*. *Bioequil Avail.* 3(6):00056.
- Kolahdooz M, Nasri S, Modarres SZ, Kianbakht S, Huseini HF. 2014. Effects of *Nigella sativa* L. seed oil on abnormal semen quality in infertile men: a randomize, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine.* 21(6):901-905.
- Mahdafi R, Heshmati J, Namazi N. 2015. Effects of seed (*Nigella sativa*) on male infertility: A systematic review. *Journal of Herbal Medicine.* 5(3):133-139.
- Maidin MS, Padlan MH, Azuan SAN, Jonit R, Mohammed NH, Abdullah R. 2018. Supplementation of *Nigella sativa* oil and honey prolong the survival rate of fresh and post thawed goat sperm. *Tropical Animal Science Journal.* 41(2):94-99.
- Mandal MD, Mandal S. 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine.* 1(2)154-160.
- Marbat MM, abid Ali M, Hadi AM. 2013. The use of *Nigella sativa* as a single agent in treatment of male infertility. *Tikrit Journal of Pharmaceutical Science.* 9(1):19-29.
- Ping NC, Hashim NH, Adli DSH. 2014. Effects of *Nigella sativa* (*Habatus sauda*) oil and nicotine chronic treatments on sperm parameters and testis histological features of rats. Hindawi. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/218293>.
- Rahman MT. 2020. Potential benefits of combination of *Nigella sativa* and Zn supplements to treat COVID-19. *Journal of Herbal Medicine.* 23:100382.
- Sirisinghe RG, Halim AS, Ravichandran M, Al-Shabasi Y, Shokri AA. 2006. Abstracts 1st international conference on the medicinal use of honey. First Nourth-South Conference and Workshop on Pharmacogenetics. hlm 101- 127.
- Sultana S, Asif HM, Akhtar N, Nazar H, Ur Rahman R. 2015. *Nigella sativa*: monograph. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 4(4):103-106.
- Talafih KA, Haddad NI, Hattar BI, Kharallah K. 2007. Effect of some agricultural practices on the productivity of black cummin (*Nigella sativa*) grown under rainfed semi-arid conditions. *Jordan Journal of Agricultural Sciences.* 3:385-397.
- Tuncturk R, Tuncturk M, Ciftci V. 2012. Effect of varying nitrogens doses on yield and some yield components of black cummin (*Nigella sativa* L.). *Advances in Environmental Biology.* 5:371-374.
- Zafar K, Noorul H, Vartika S, Khalid M, Prashant S, Zeeshan A, Zahrameena S. 2016. Pharmacological activity of *Nigella sativa*: a review. *World Journal of Pharmaceutical Science.* 4(5):234-241.
- Zafar MA, Nishat S, Nasiruddin M. 2019. Role of *Nigella sativa* in renoprotection. *International Journal of Scientific Research.* 8(7):28-30.