

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* L)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* L)

Pada dunia tumbuhan, terdapat berbagai macam tumbuhan yang berbeda-beda, begitu juga dengan manfaatnya. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al Qur'an surat Thaha (20) ayat 53 :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَخَرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya : “Yang Telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang Telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (QS: Thaha: 53).

Ayat di atas menunjukkan bahwa, tumbuhan dapat tumbuh di bumi ini karena adanya air hujan, dengan air hujan tersebut Allah SWT menumbuhkan tumbuhan yang bermacam-macam. Menurut ath-Thabari dalam tafsirnya, kata

'أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى' yang artinya tumbuhan yang bermacam-macam. Kata tersebut

mengandung makna yang cukup luas. Salah satunya adalah tumbuhan di bumi ini bermacam-macam jenisnya, termasuk juga tumbuhan yang tergolong tingkat rendah yaitu tumbuhan yang tidak jelas bagian akar, batang dan daunnya, serta tumbuhan tingkat tinggi yang sudah bisa dibedakan secara jelas bagian akar, batang dan daunnya.

Salah satu tumbuhan tingkat tinggi yang sudah dapat dibedakan antara daun, batang dan akarnya adalah tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L). Tumbuhan yang selama ini oleh masyarakat di Indonesia banyak dimanfaatkan sebagai tumbuhan pagar, tanaman pembatas ladang, serta bahan membuat karangan bunga. Padahal melalui penelitian yang telah dilakukan oleh para ahli, ternyata tumbuhan kelor memiliki kandungan gizi yang sangat luar biasa (Tilong, 2011).

Kelor merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak, dan berumur panjang (perennial), batang berkayu (lignisus), berkulit tipis, permukaan kasar, tinggi dapat mencapai 7-11 meter dan kayunya mudah patah. Cabangnya jarang, tetapi mempunyai akar kuat, arah cabang tegak atau miring, serta cenderung tumbuh lurus dan memanjang (Winarti, 2010).

Daun tanaman kelor (*Moringa oleifera* L) memiliki karakteristik bersirip tidak sempurna, berbentuk menyerupai telur. Bersusun majemuk dalam satu tangkai, tersusun berseling, dan beranak daun gasal (imparipinnatus). Ukuran bentuk helai daun mempunyai panjang 1-2 cm, lebar 1-2 cm. Daunnya tipis dan lemas, ujung pangkal tumpul (obtusus), pangkal daun membulat, tepi daun rata, susunan tulang menyirip (pinate), serta permukaan atas dan bawah halus (Winarti, 2010).

Bunga tanaman kelor (*Moringa oleifera* L) berwarna putih kekuningan dan tudung pelepah bunga berwarna hijau. Bunga kelor keluar sepanjang tahun dengan aroma bau semerbak dan menebarkan aroma khas. Bunga tersebut muncul di ketiak daun (axillaris), bertangkai panjang, serta kelopak berwarna agak putih.

Buah kelor berbentuk panjang dan segitiga, dengan panjang sekitar 20-60 cm. (Tilong, 2011).

Daun dan akarnya banyak mengandung senyawa alkali, protein, vitamin, asam amino, dan karbohidrat yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional. Biji kelor juga dapat digunakan sebagai penjernih atau koagulan air limbah, dan penyembuh asam urat, sehingga biji kelor dapat bernilai ekonomi tinggi (Silaen, 2008). Gambar daun kelor disajikan pada gambar 2.1 sebagai berikut :



Gambar 2.1 : Daun kelor (*Moringa oleifera* L) (Tilong, 2011)

2.1.2 Taksonomi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* L)

Klasifikasi tanaman kelor yang disusun berdasarkan takson-taksonnya sebagai berikut (Tilong, 2011) :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Brassicales

Suku : Moringaceae

Marga : Moringa

Jenis : *Moringa oleifera*, L

2.1.3 Sifat Kimiawi dan Kandungan Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*, L)

Tumbuhan kelor memiliki kandungan yang sangat bermanfaat dalam kehidupan, mulai dari daun, bunga, buah, biji, kulit, akar dan bahkan getahnya. Daun kelor (*Moringa oleifera* L) mengandung berbagai macam zat diantaranya adalah protein 27,51%, serat 19,25%, lemak 2,23%, serat 7,13%, kadar air 76,53%, karbohidrat 43,88% dan kalori 305,62 kal/g. Selain zat tersebut, daun kelor juga mengandung berbagai macam senyawa, salah satu diantara senyawa tersebut, ada beberapa jenis vitamin yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan (Winarti, 2010).

Antioksidan dapat berupa antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase, katalase dan glutathione peroksidase. Sedangkan antioksidan vitamin terdiri dari vitamin A, vitamin C, dan vitamin E. Beberapa contoh bahan makanan sumber antioksidan diantaranya adalah apel, tomat, teh hijau, daun kelor, dan sebagainya. Daun kelor sebagai salah satu alternatif bahan makanan sumber antioksidan belum banyak diteliti kegunaannya dalam menurunkan aktifitas radikal bebas di dalam tubuh. Berikut ini adalah macam-macam vitamin yang terkandung dalam daun kelor (Winarti, 2010).

Tabel 2.1. Kandungan vitamin pada daun kelor (*Moringa oleifera* L)

Jenis Vitamin	Kandungan vitamin (mg / 100 gram daun <i>Moringa oleifera</i>)
Vitamin A – β karoten	16,3
Vitamin B kompleks – kolin	423
Vitamin B1 – thiamin	2,6
Vitamin B2 – riboflavin	20,5
Vitamin B3 – asam nikotinat	8,2
Vitamin C – asam askorbat	17,3
Vitamin E – tocophenol asetat	113

Sumber: Winarti (2010)

Kandungan senyawa vitamin yang tercantumkan dalam tabel 2.1 di atas, adalah senyawa yang berperan sebagai antioksidan di dalam tubuh yang mampu mengikat radikal bebas yaitu seperti vitamin A, vitamin B, C, dan vitamin E. Kandungan lain dari kelor (*Moringa oleifera* L) adalah beberapa mineral, asam amino esensial, asam glutamat, asam aspartat, alanin, leusin, serta triptopan yang dibutuhkan oleh tubuh (Tilong, 2011). Winarti (2010) menambahkan bahwa daun kelor juga mengandung makro elemen seperti potasium, kalsium, magnesium, sodium, dan fosfor, serta mikro elemen seperti mangan, seng, dan besi.

Menurut an-Najjar (2006) dalam kitabnya mengemukakan bahwa, kandungan senyawa pada tanaman kelor hampir sama dengan kandungan senyawa pada tanaman kurma. Tanaman kurma merupakan tanaman tingkat tinggi yang banyak mengandung vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, fosfor, zat besi, kalsium, serta magnesium yang memiliki antioksidan yang tinggi yang mampu mencegah berbagai macam penyakit, diantaranya adalah jantung, kanker, kolestrol, serta gangguan pada sistem reproduksi

Berdasarkan penjelasan di atas tersebut, kandungan yang terdapat pada tanaman kelor (*Moringa oleifera* L) sangat banyak dan memiliki potensi yang sangat besar terhadap manusia. Sekarang ini, banyak penelitian-penelitian yang menggunakan bahan alam untuk dijadikan alternatif pengobatan dengan alasan harganya relatif murah dan penggunaannya dianggap lebih aman dibandingkan dengan obat sintetis. Empat belas abad silam Nabi Muhammad SAW telah memberikan teladan pada umatnya dengan menggunakan tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan dalam pengobatan penyakit (Minarno, 2010). Allah SWT memberikan petunjuk melalui firmanNya dalam al Qur'an surat Ash-Shafaat (37) 145-146 :

فَنَبَذْنَاهُ بِالْعَرَاءِ وَهُوَ سَقِيمٌ وَأَنْبَتْنَا عَلَيْهِ شَجَرَةً مِّنْ يَقْطِينٍ

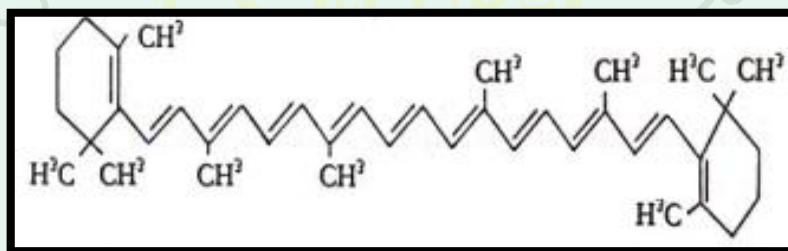
Artinya : “Kemudian kami lemparkan dia ke daerah yang tandus, sedang ia dalam keadaan sakit. Dan kami tumbuhkan untuk dia sebatang pohon dari jenis labu “(QS. Ash-Shafaat: 145-146).

Allah SWT menciptakan alam dan isinya mempunyai fungsi dan tujuan, tidak ada satupun ciptaanNya yang sia-sia termasuk tanaman kelor yang ditumbuhkanNya mengandung manfaat bagi kesehatan manusia. Ayat di atas memberikan pelajaran kepada manusia bahwa dalam tumbuhan, selain mengandung sifat estetika juga mengandung bahan-bahan aktif yang berpotensi sebagai obat. Berdasarkan penjelasan di atas bahwa di bumi ini tidak ada tanaman yang Allah SWT ciptakan dengan sia-sia. Walaupun dari jenis tanaman yang berbeda, akan tetapi senyawa kimia yang dihasilkan sama, sehingga memiliki fungsi yang sama sebagai tanaman obat alami. Salah satu yang sangat berfungsi dalam peran antioksidan pada tanaman kelor adalah pada vitamin A, B, C, dan vitamin E. Beberapa penjelasan tentang vitamin diuraikan sebagai berikut :

2.1.3.1 Vitamin A (β -karoten)

Vitamin A (β -karoten) merupakan salah satu dari 600 komponen karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang kuat untuk oksigen reaktif sehingga mampu mengikat radikal bebas (Winarsi, 2007). Karotenoid merupakan senyawa isoprenoid C_{40} dan tetraterpenoid yang terdapat dalam plastida jaringan tanaman. Muchtadi (2008) menambahkan bahwa β -karoten juga mampu menangkap oksigen reaktif dan radikal peroksil yang kemudian menetralkannya. Tilong (2011) juga menambahkan bahwa β -karoten sebagai antioksidan yang larut dalam lemak yang dapat menjaga pengrusakan oksidasi dinding sel.

Struktur kimia dari β -karoten disajikan pada gambar 2.2 berikut ini : (Winarti, 2010)



Gambar 2.2: Struktur kimia β -karoten (Winarti, 2010)

β -karoten bereaksi dengan senyawa radikal peroksil dalam 2 tahap yaitu dengan cara membentuk radikal karoten peroksil dan kemudian membentuk karoten peroksida. Senyawa β -karoten mampu berperan untuk menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas (Muhammad, 2009). β -karoten berperan penting dalam pencegahan penyakit degeneratif, yaitu dengan cara mempertahankan fungsinya sebagai antioksidan (Kumalaningsih, 2007). Senyawa β -karoten mampu berperan untuk menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas. β -karoten dapat

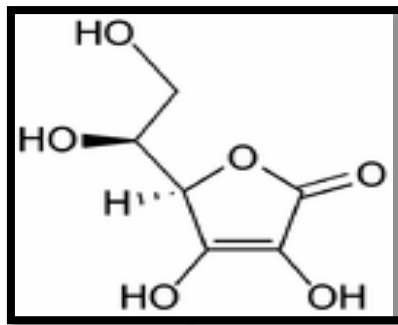
menangkap O_2 karena adanya 9 ikatan rangkap pada rantai karbonnya. Energi untuk reaksi ini dibebaskan dalam bentuk panas sedemikian rupa sehingga sistem regenerasi tidak diperlukan (Winarti, 2010).

Winarsi (2007) mengatakan bahwa asupan betakaroten yang cukup diyakini dapat mencegah berbagai macam penyakit seperti, kanker, sistem reproduksi, katarak, dan sebagainya. Penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa asupan β -karoten yang tinggi dari sayur dan buah-buahan dapat menyebabkan beberapa penyakit yang ganas seperti kanker prostat (Muchtadi, 2008).

2.1.3.2 Vitamin C (Asam Askorbat)

Vitamin C adalah substansi yang larut dalam air. Vitamin C juga menjadi antioksidan dalam cairan ekstraseluler, dan mempunyai aktivitas intraseluler yang baik (Tuminah, 1999). Kumalaningsih (2007) mengemukakan bahwa vitamin C merupakan antioksidan yang berperan penting dalam membantu menjaga kesehatan sel. Sumber vitamin C yang penting berada dalam makanan terutama berasal dari buah-buahan dan sayur-sayuran, sedangkan bahan makanan yang berasal dari hewani pada umumnya tidak merupakan sumber yang kaya akan vitamin C.

Vitamin C ini memiliki formula ($C_6H_8O_6$) dengan berat molekul (BM) sebesar 176.13. Purwantaka (2005) menyatakan bahwa vitamin C mampu menangkap radikal bebas hidroksil. Hal ini dikarenakan vitamin C memiliki gugus pendonor elektron berupa gugus enadiol. Struktur kimia vitamin C dalam bentuk asam askorbat disajikan pada gambar 2.3 berikut ini (Winarti, 2010) :



Gambar 2.3: Struktur molekul Vitamin C (Winarti, 2010)

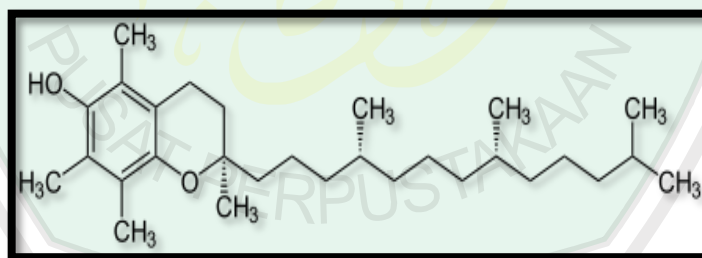
Peran vitamin C sebagai senyawa antioksidan non-enzimatis adalah dengan cara mendonorkan elektron (oksidasi) terhadap radikal oksigen seperti superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, radikal sulfur, dan radikal nitrogen oksigen yang dapat menghambat proses metabolisme tubuh (Astuti, 2009). Meskipun diketahui antioksidan ini bersifat baik, apabila jumlahnya berlebihan dapat berbahaya bagi tubuh. Vitamin C yang berlebihan akan berpotensi menjadi vitamin C radikal yang bersifat radikal bebas, sehingga glutathione tidak cukup untuk menetralkannya (Nugraheni, 2003).

Muhammad, (2009) mengemukakan bahwa, vitamin C disebut sebagai antioksidan, karena dengan elektron yang didonorkan itu dapat mencegah terbentuknya senyawa lain dari proses oksidasi dengan melepaskan satu rantai karbon. Namun, setelah memberikan elektron pada radikal bebas, vitamin C akan teroksidasi menjadi *semidehydroascorbic acid* atau *radikal ascorbic* yang relatif stabil. Muchtadi (2008) menambahkan bahwa, sifat tersebut di atas yang menjadikan sebagai antioksidan atau dengan kata lain bahwa *ascorbic acid* dapat bereaksi dengan radikal bebas, reaksi tersebut dapat mereduksi radikal bebas yang reaktif menjadi tidak reaktif.

Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan, dan juga memiliki fungsi lain yaitu menjaga dan memacu kesehatan pembuluh-pembuluh kapiler, membantu penyerapan zat besi, dapat menghambat produksi nitrosamin yang merupakan salah satu zat pemicu kanker (William 2004). Vitamin C juga diperlukan untuk melindungi molekul-molekul dalam tubuh seperti protein, peroksidasi lipid, karbohidrat dan asam nukleat (Fauzi, 2008).

2.1.3.3 Vitamin E (Tocoferol)

Vitamin E (Tocoferol) adalah substansi yang larut dalam lemak. Vitamin E merupakan antioksidan utama dalam semua membran seluler, dan melindungi asam lemak tak jenuh terhadap peristiwa oksidasi (Tuminah, 1999). Vitamin E secara alami memiliki 8 isomer yang dikelompokkan dalam 4 tocoferol (β , α , γ , δ) dan 4 tocoterienol (β , ϵ , γ , δ) homolog. Struktur kimia vitamin E disajikan pada gambar 2.4 berikut ini (Winarsi, 2007) :



Gambar 2.4: Struktur kimia vitamin E (Winarsi, 2007)

Tocoferol, terutama α -tocoferol, telah diketahui sebagai antioksidan yang mampu mempertahankan integritas membran eritrosit dan lipoprotein plasma. Sebagai antioksidan, vitamin E berfungsi sebagai donor ion hidrogen yang mampu mengubah radikal peroksil (hasil peroksidasi lipid) menjadi radikal

tocoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak merusak rantai asam lemak (winarti, 2010). Muhammad (2009) menambahkan bahwa, radikal vitamin E dapat mengalami regenerasi oleh adanya glutathione atau asam askorbat dengan cara tocoferol memindahkan atom hidrogen yang memiliki elektron tunggal sehingga dapat menyingkirkan radikal bebas peroksil lebih cepat dibandingkan dengan reaksi radikal protein membran, sehingga radikal tocoferol yang tidak reaktif akan dieliminasi oleh asam askorbat.

Manfaat paling besar dari vitamin E adalah kemampuannya sebagai antioksidan. Vitamin E berkolaborasi dengan oksigen menghancurkan radikal bebas. Secara umum, manfaat dari vitamin E antara lain mencegah penyakit hati, mengurangi kelelahan, membantu memperlambat penuaan karena oksidasi, mensuplai oksigen ke darah, menguatkan dinding pembuluh kapiler darah dan juga membantu mencegah sterilitas (Iswara, 2009). Vitamin ini berfungsi sebagai pelindung terhadap peroksidasi lemak di dalam membran (Muchtadi, 2008).

2.2 Mencit

2.2.1 Deskripsi Mencit (*Mus musculus* L)

Mencit (*Mus musculus* L) merupakan salah satu hewan percobaan yang sering digunakan di laboratorium yang biasa disebut dengan tikus putih. Mencit memiliki ciri-ciri : mata berwarna merah, kulit berpigmen, berat badan bervariasi, tetapi umumnya pada umur empat minggu berat badan mencapai 18-20 gram. Mencit dewasa dapat mencapai 30-40 gram pada umur enam bulan atau lebih (Mangkoewidjojo, 1988). Mencit membutuhkan makan setiap hari sekitar 3 sampai 5 g perhari. Biasanya mencit laboratorium diberi makan berupa pelet tanpa

batas (ad libitum). Selain itu butuh perawatan setiap hari dengan baik, karena menyayangi binatang adalah bagian dari ajaran agama Islam. Sebagaimana Nabi Muhammad SAW bersabda :

أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: فِي كُلِّ كَبِدٍ رَطْبَةٍ أَجْرٌ.

Artinya: *Abu khurairah menjelaskan bahwa rasullulah bersabda “ dalam bersikap baik terhadap limpa yang basah (binatang) ada pahalanya”. (HR. Bukhari muslim).*

Berdasarkan hadits di atas bahwa, Islam merupakan agama yang sempurna, dimana seluruh aspek kehidupan manusia telah diatur dengan rapi. Salah satunya menyayangi binatang adalah bagian dari ajaran agama Islam, maka sepanjang sejarah ummat Islam, mereka menjaga dan menjalankan prinsip ini dengan baik. Kaum muslimin melakukannya karena sikap patuh terhadap perintah agama dan adanya harapan mendapatkan pahala dari menyayangi binatang. Salah satunya adalah pada binatang dari jenis mamalia yaitu mencit. Gambar mencit disajikan gambar 2.5 sebagai berikut :



Gambar 2.5: Gambar mencit (*Mus musculus* L)

2.2.2 Klasifikasi Mencit (*Mus musculus* L)

Klasifikasi mencit adalah sebagai berikut (Booolootion, 1991) :

Kerajaan : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mammalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

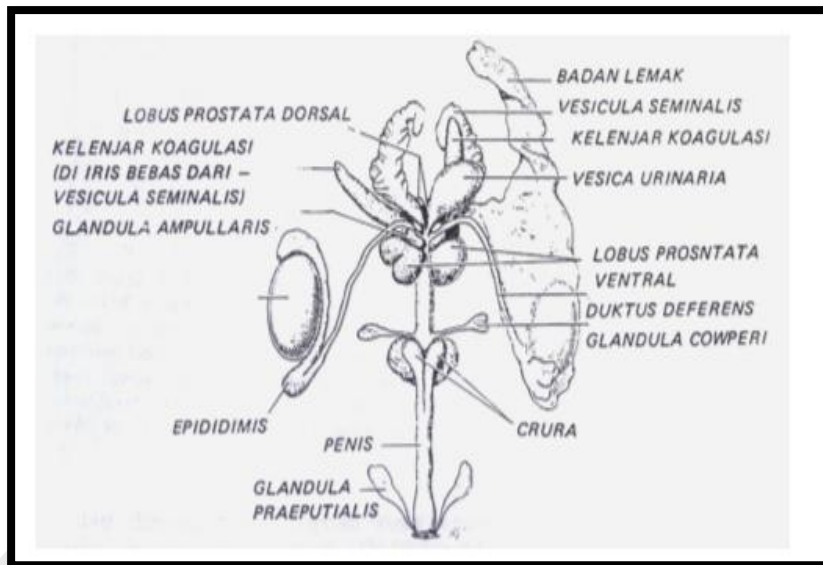
Subfamili : Murinae

Genus : Mus

Spesies : *Mus musculus* L

2.2.3 Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus* L) Jantan

Organ reproduksi jantan terdiri atas organ reproduksi primer, kelompok kelenjar kelamin pelengkap, dan organ kopulasi. Organ reproduksi primer mencit jantan disebut gonad atau testis yaitu kelenjar benih yang merupakan bagian alat reproduksi utama pada hewan jantan. Kelenjar kelamin pelengkap terdiri atas kelenjar vesikularis, kelenjar prostat, dan kelenjar cowper, serta saluran-saluran reproduksi yang terdiri dari epididimis, dan vas deferen. Organ kopulasi mencit jantan yaitu penis yang merupakan alat kelamin luar, berfungsi untuk menyalurkan sperma pada organ reproduksi betina (Marimbi, 2010). Organ reproduksi mencit jantan disajikan dalam gambar 2.6 berikut ini :



Gambar 2.6: Organ reproduksi mencit jantan (Heffner, 2006)

Yatim (1994) mengemukakan bahwa saluran reproduksi jantan terdiri dari ductuli efferens, epididimis, vas deferens, ductus ejakulatoris dan uretra. Terdapat dua macam sel epitel yang melapisi ductuli efferens yaitu sel epitel yang bersilia dan bermikrofil. Epididimis merupakan tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa. Heffener (2006) menambahkan bahwa epididimis dibentuk oleh saluran yang berlekuk-lekuk secara tidak teratur yang disebut dengan ductus epididimis. Ductus ini berawal dari puncak testis yang merupakan kepala epididimis, setelah melewati jalan yang berliku-liku, ductus ini berakhir pada ekor epididimis yang kemudian menjadi vas deferens. Saluran vas deferens merupakan lanjutan langsung dari epididimis. Saluran vas deferens berlumen lebih besar dan berdinding lebih tebal dari saluran sebelumnya, lapisan terdalam disebut lapisan mukosa yang membentuk lipatan longitudinal. Menurut Marimbi (2010) duktus ejakulatoris memiliki otot-otot yang kuat dan berperan selama ejakulasi. Saluran ini bermuara pada uretra. Uretra tersusun atas sekelompok sel epitel transisional,

jaringan ikat longgar, pembuluh darah dan dibungkus lapisan otot lurik yang tebal.

Pada alat kelamin bagian luar yaitu penis yang berfungsi untuk menyalurkan semen ke dalam tubuh betina setelah melalui proses yang telah di jelaskan di atas. Penis terdiri atas 3 batang silinder jaringan yang erektile (dapat berereksi), terdiri dari 2 batang corpora cavernosa sebelah atas, 1 batang corpus spongiosum di bawah. Corpus spongiosum menyelaputi urethra. Batang yang erektile itu terdiri dari ruangan-ruangan banyak yang kusut dan terhubung antar sesamanya. Jika penis berereksi, darah memenuhi batang silinder jaringan tadi sehingga keras dan tegang (Yatim, 1994).

2.3 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses perkembangan spermatogonia menjadi spermatozoa. Spermatogenesis terjadi pada semua tubulus seminiferus selama kehidupan seks aktif, sebagai akibat perangsangan hormon-hormon gonadotropin, adenohipofisis dan terus berlangsung selama hidup (Yatim, 1994). Proses pematangan ini menandakan bahwa manusia diciptakan oleh Allah SWT dengan terencana dan bukan terjadi secara kebetulan. Firman Allah SWT dalam al Qur'an surat al Mu'minin (23) 12-14 :

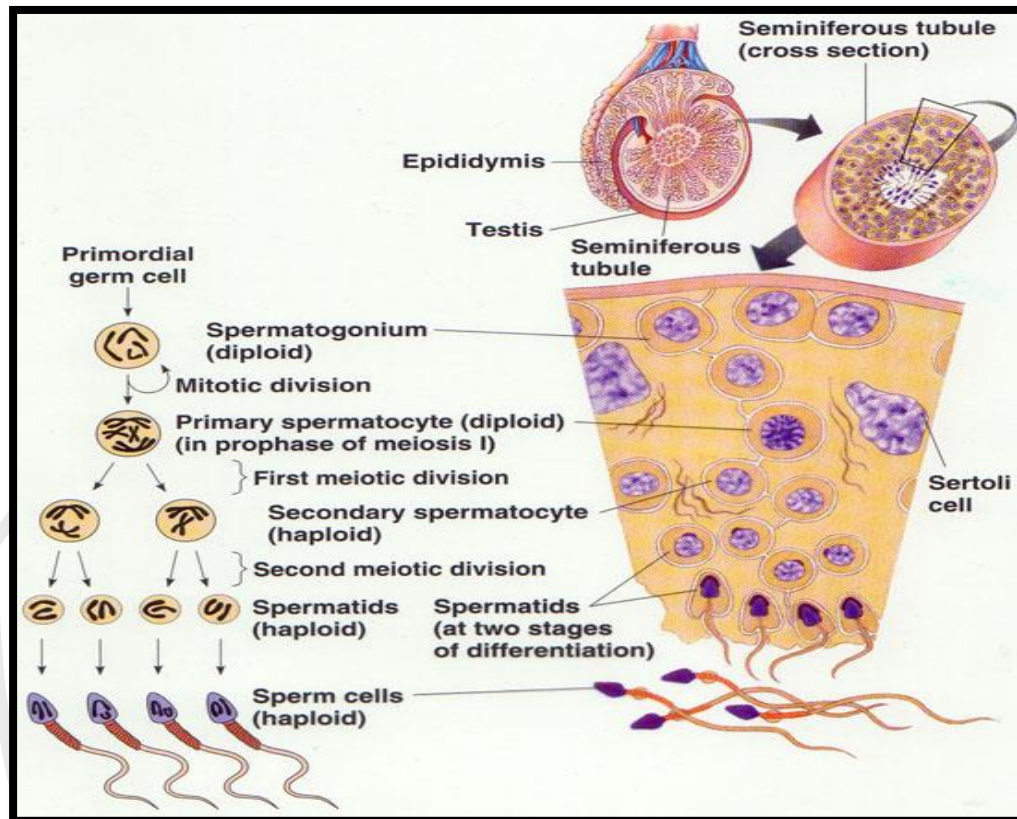
وَلَقَدْ خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ سُلَالَةٍ مِّن طِينٍ ﴿١٢﴾ ثُمَّ جَعَلْنَاهُ نُطْفَةً فِي قَرَارٍ مَّكِينٍ ﴿١٣﴾ ثُمَّ خَلَقْنَا النُّطْفَةَ عَلَقَةً فَخَلَقْنَا الْعَلَقَةَ مُضْغَةً فَخَلَقْنَا الْمُضْغَةَ عِظْمًا فَكَسَوْنَا الْعِظْمَ لَحْمًا ثُمَّ أَنْشَأْنَاهُ خَلْقًا آخَرَ فَتَبَارَكَ اللَّهُ أَحْسَنُ الْخَالِقِينَ ﴿١٤﴾

Artinya : Dan Sesungguhnya kami Telah menciptakan manusia dari suatu saripati (berasal) dari tanah. Kemudian kami jadikan saripati itu air mani (yang disimpan) dalam tempat yang kokoh (rahim). Kemudian air mani itu kami jadikan segumpal darah, lalu segumpal darah itu kami jadikan segumpal daging, dan segumpal daging itu kami jadikan tulang belulang, lalu tulang belulang itu kami bungkus dengan daging. Kemudian kami jadikan dia makhluk yang (berbentuk) lain. Maka Maha sucilah Allah, Pencipta yang paling baik (QS.al Mu'minun 12-14).

Ayat di atas menjelaskan tentang tahapan-tahapan atau proses penciptaan manusia. Tahapan tersebut yang pertama di jelaskan pada lafadh **مِنْ سُلَالَةٍ**. Menurut al-Qurthubi dalam tafsirnya bahwa kata tersebut memiliki makna dari sari pati tanah. Kemudian ayat berikutnya diawali dengan kata **ثُمَّ** yang mengandung arti adalah tahapan-tahapan atau proses yang terjadi di dalamnya. Seperti halnya pada surat al-Mu'minun 12-14 di atas mengisyaratkan bahwa, dari penciptaan manusia yang diawali dari sari pati tanah sampai terbentuk menjadi manusia sempurna di dalamnya melalui beberapa proses dan tahapan.

Ilmu pengetahuan modern menunjukkan bahwa, adanya tahapan dalam pematangan sel sperma sampai akhirnya terbentuk individu baru. Proses pematangan sel sperma itu sendiri harus melalui tahapan pembelahan dari sel spermatogonium sampai akhirnya membentuk sel spermatozoa yang disebut dengan proses spermatogenesis (Muchtaromah, 2008).

Tahapan spermatogenesis pada mencit dapat disajikan pada gambar 2.7 sebagai berikut :



Gambar 2.7: Tahapan spermatogenesis pada mencit (Campbell, 2004)

Tahap pertama spermatogenesis adalah pertumbuhan beberapa spermatogonia menjadi sel yang sangat besar yang disebut spermatosit primer, kemudian spermatosit primer akan mengalami pembelahan secara meiosis menjadi spermatosit sekunder, kemudian akan menjadi spermatid. Spermatid tidak akan membelah lagi tetapi mengalami maturasi untuk menjadi spermatozoa. Secara umum produksi spermatozoa terjadi pada saluran reproduksi jantan yang dinamakan testis. Tubulus seminiferus yang mengandung spermatogonium dan bertanggung jawab dalam proses spermatogenesis untuk produksi dan diferensiasi

spermatisit menjadi spermatid yang pada akhirnya menjadi spermatozoa (Guyton, 1987).

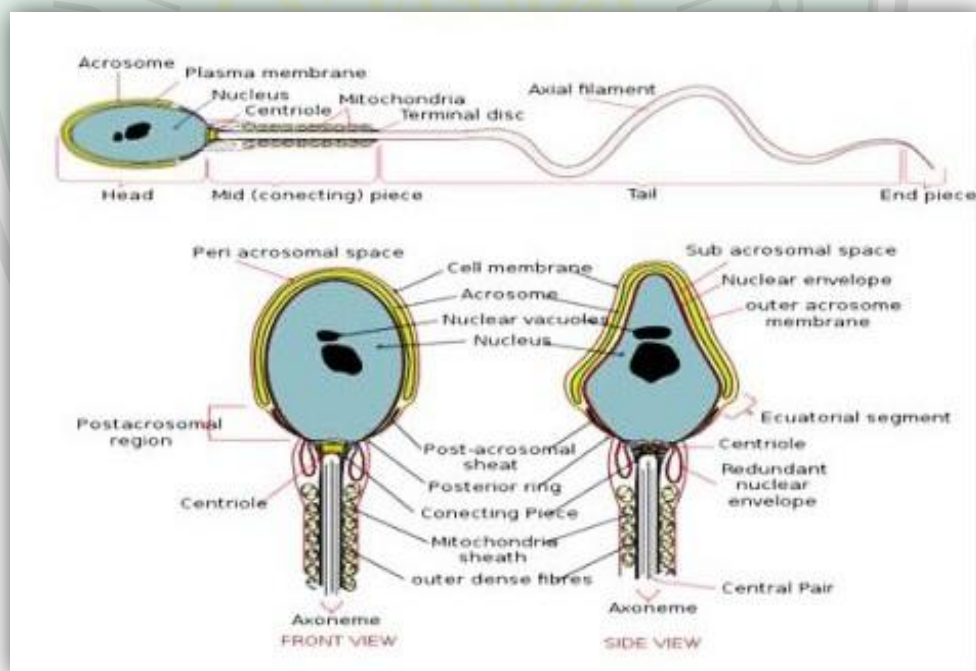
Secara umum spermatogenesis dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu tahap proliferasi atau spermatocytogenesis, tahap pertumbuhan, transformasi atau spermiogenesis. Pada spermatogenesis, follicle stimulating hormon (FSH) memiliki peranan penting, yaitu berperan dalam menstimulasi kejadian awal spermatogenesis diantaranya proliferasi spermatogonia (Marimbi, 2010).

Pada tahap proliferasi, spermatogonium mengalami pembelahan mitosis berkali-kali menjadi spermatogonium tipe A, kemudian mengalami mitosis dan hasilnya disebut spermatogonium tipe B. Spermatogonium tipe B memiliki inti bundar dan nukleolus agak di tengah. Spermatogonium tipe B bermitosis lagi menjadi spermatisit primer. Spermatisit primer akan segera mengalami pembelahan meiosis. Pada meiosis I spermatisit primer menempuh fase leptoten, zigoten, pakiten, diploten dan diakinesis dari profase lalu metafase, anafase dan telofase. Pada meiosis II pun menempuh profase, metafase, anafase dan telofase (Yatim, 1994). Hormon FSH berperan penting dalam menunjang tahap pematangan maupun reduksi meiosis spermatisit primer (Muchtaromah, 2008).

Tahapan spermatogenesis yang terakhir yaitu tahap spermiogenesis. Spermiogenesis disebut juga tahap transformasi yaitu tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid yang bundar menjadi bentuk kecebong 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. Penjelasannya adalah sebagai berikut (Yatim, 1994) :

1. Fase golgi, terjadi saat butiran proakrosom terbentuk dalam alat golgi spermatid. Butiran atau granula ini nanti bersatu membentuk satu butiran akrosom butiran ini dilapisi membran dalam gembungan akrosom (acrosomal vesicle). Gembungan ini melekat ke salah satu sisi inti yang bakal jadi bagian depan spermatozoon.
2. Fase tutup, saat gembungan akrosom makin besar, membentuk lipatan tipis melingkupi bagian kutub yang bakal jadi bagian depan. Akhirnya terbentuk semacam tutup atau topi spermatozoa.
3. Fase akrosom, terjadi redistribusi bahan akrosom. Nukleoplasma berkondensasi, sementara itu spermatid memanjang. Bahan akrosom kemudian menyebar membentuk lapisan tipis meliputi kepala tertutup, sampai akrosom dan tutup kepala membentuk tutup akrosom (disingkat akrosom saja). Sementara itu, inti spermatid memanjang dan menggepeng. Butiran nukleoplasma mengalami transformasi menjadi filamen-filamen (benang halus) yang pendek dan tebal serta kasar.
4. Fase pematangan, terjadi perubahan bentuk spermatid sesuai dengan ciri spesies. Butiran inti akhirnya bersatu, dan inti jadi gepeng bentuk pyriform, sebagai ciri spermatozoa. Ketika akrosom terbentuk jadi bagian depan spermatozoa, sentriol pun bergerak ke kutub berseberangan. Sentriol terdepan membentuk flagelum, sentriol satu lagi membentuk kelepak sekeliling pangkal ekor. Mitokondria membentuk cincin-cincin di bagian middle piece ekor, dan selubung fibrosa di luarnya. Mikrotubul muncul dan berkumpul di bagian samping spermatid membentuk satu batang besar, disebut *manchette*. Manchette ini menjepit inti sehingga jadi lonjong, sementara spermatid

sendiri memanjang, dan sitoplasma terdesak ke belakang inti. Setelah pembentukan trakhir, spermatozoa diangkut ke dalam tubulus yang lebih besar berupa rete testis untuk selanjutnya ditransportasikan ke epididimis melalui vas deferens. Setelah mencapai epididimis, sel epitel menyerap cairan rete testis dan mengeluarkan cairan epididimis, lalu berkonsentrasi dengan menyiapkan tempat bagi spermatozoa sebelum diejakulasikan. Pada saat ejakulasi, spermatozoa akan meninggalkan epididimis melalui vas deferens atau ductus deferens menuju uretra dan akhirnya keluar melalui penis (Heffner, 2006). Transformasi spermatid dapat disajikan dalam gambar 2.8 sebagai berikut :



Gambar 2.8: Tansformasi Spermatid (Heffner, 2006)

2.4 Spermatozoa

Organ reproduksi jantan pada hakekatnya merupakan alat yang berfungsi untuk menyalurkan hasil kelenjar-kelenjar berupa semen ke dalam organ reproduksi betina. Penciptaan manusia oleh Allah SWT disebutkan dalam al-Qur'an surat al-Qiyamah (75) ayat 37 :

أَلَمْ يَكُنْ نُطْفَةً مِّن مَّنِيِّ يُمْنَىٰ

Artinya :” Bukankah dia dahulu setetes mani yang ditumpahkan (ke dalam rahim)” (QS.al-Qiyamah :37)

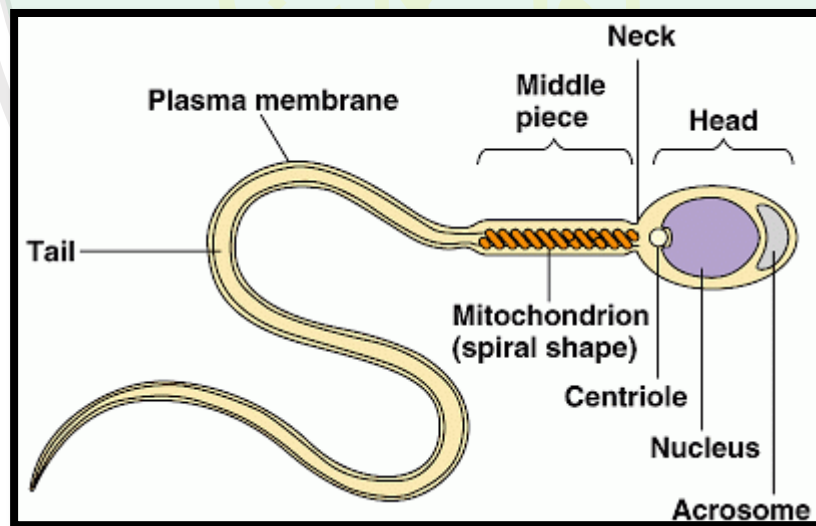
Ayat Allah SWT di atas memberikan gambaran tentang penciptaan manusia yang berasal dari setetes mani yang bercampur. Menurut an-Najjar (2006) kata نُطْفَةٌ yang artinya adalah setetes. Kata tersebut mengandung makna yang luas bahwa manusia diciptakan dari setes mani yang dikeluarkan dari organ reproduksi jantan, setelah itu melalui tahapan-tahapan yang cukup panjang sehingga menjadi manusia yang seutuhnya. Setetes mani mengandung berjuta-juta spermatozoa yang akan siap membuahi sel telur di dalam organ reproduksi betina.

Spermatozoa merupakan produk akhir dari proses spermatogenesis pada hewan jantan. Spermatozoa diproduksi di dalam tubulus seminiferus testis melalui proses yang disebut dengan spermatogenesis, dan mengalami pematangan lebih lanjut di dalam epididmis, dimana sperma disimpan sampai diejakulasikan (Tohamy, 2012). Spermatozoa mengalami maturasi di dalam epididimis dan akan dikeluarkan ketika ejakulasi (pemancaran air mani). Proses maturasi berakhir dalam corpus, dan spermatozoa menjadi matang sempurna baik secara biokimia, fisiologis dan struktural sehingga menjadi fertil (Muchtaromah, 2008).

Spermatozoa akan keluar melalui uretra bersama-sama dengan cairan yang dihasilkan oleh kelenjar vesikula seminalis, kelenjar prostat dan kelenjar cowper. Spermatozoa bersama cairan dari kelenjar-kelenjar tersebut dikenal sebagai semen (Yatim, 1994).

2.4.1 Spermatozoa Normal

Sperma yang normal terbentuk dari kepala, leher, bagian tengah, dan ekor. Kepala sperma terdiri dari inti dan akrosom. Inti mengandung bahan genetis, sedangkan akrosom mengandung berbagai enzim lisis antara lain adalah hialurodinase, CPE (*Corona Penetrating Enzim*), dan akrosin (Purwaningsih, 1996). Akrosom berperan dalam melisiskan lendir penghalang saluran kelamin betina dan selaput ovum (Yatim, 1994). Pada sel spermatozoa dapat disajikan dalam gambar 2.9 sebagai berikut ini :



Gambar 2.9: Sel spermatozoa (Wibisono, 2010)

Bagian leher spermatozoa merupakan bagian yang menghubungkan antara bagian kepala dan ekor spermatozoa. Komponen utama terdiri dari berkas-berkas fibril yang melintang yang disebut sebagai *conneting-piece* pada bagian kompleks ini merupakan tempat melekatnya *axial filamen*, sedangkan pada bagian anteriornya merupakan tempat menempelnya nukleus (Marambi, 2010).

Bagian ekor spermatozoa panjangnya 40-50 mikron, yang terbagi menjadi tiga bagian yaitu bagian tengah (*Middle piece*), bagian utama (*Principal piece*), dan bagian ujung (*end piece*) (Yatim, 1994). Komponen utama pada bagian ekor spermatozoa tersusun atas kompleks filamen aksial yang terdiri dari aksonema dengan dikelilingi berkas-berkas fibril kasar. Aksonema terdiri atas sepasang mikrotubulus sentral yang dikelilingi oleh sembilan pasang mikrotubulus dan fibril kasar *outer dense fibers*. *Outer dense fibers* pada bagian tengahnya diliputi oleh selubung mitokondria yang merupakan penghasil energi spermatozoa berupa ATP dan bertindak untuk mengaktifkan flagel sehingga menimbulkan gerakan spermatozoa (Purwaningsih, 1996).

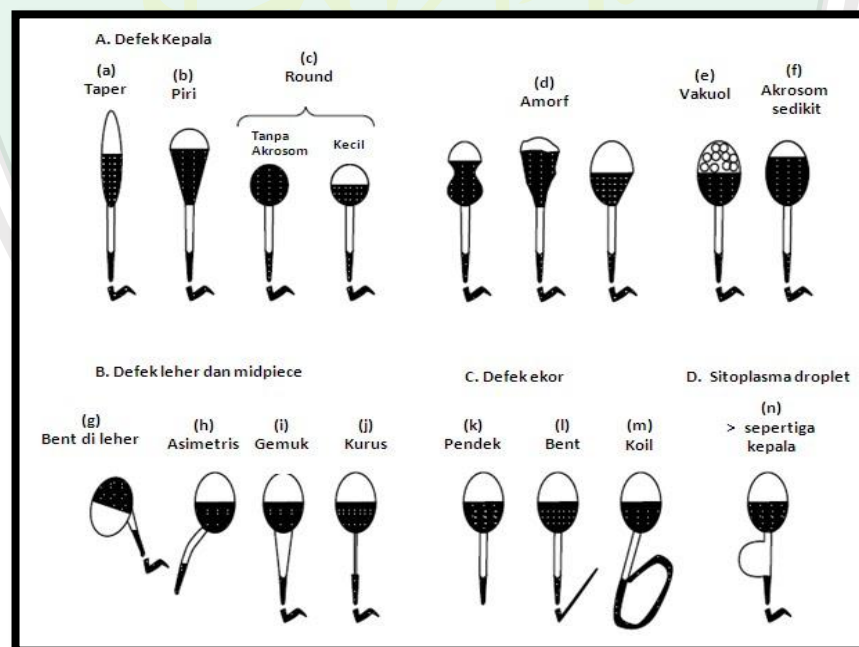
Gerakan yang terjadi pada spermatozoa meliputi gerakan ekor mendekat dan menjauh atau disebut dengan gerakan flagel. Gerakan ini disebabkan oleh gerakan yang meluncur longitudinal secara ritmis diantara tubulus posterior dan anterior yang membentuk aksonema (Marimbi, 2010).

2.4.2 Spermatozoa Abnormal

Spermatozoa dapat berbentuk lain dari biasanya, hal ini terjadi pada seseorang fertil maupun infertil. Kelainan spermatozoa disebabkan karena berbagai macam gangguan dalam spermatogenesis. Kelainan tersebut

dimungkinkan akibat dari gangguan hormonal, nutrisi, obat, radiasi, dan penyakit (Astuti, 2009).

Sperma yang abnormal sering kali ditemukan pada penderita stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif dipicu dengan adanya radikal bebas (peroksidan) yang berlebih dalam tubuh, biasanya disebabkan oleh kondisi hormonal dalam tubuh, zat aditif, dan polutan (Fauzi, 2008). Sperma yang abnormal tidak bisa membuahi sel ovum sehingga fertilisasi tidak akan pernah terjadi (Purwaningsih, 1996). Yatim (1994) menyatakan bentuk-bentuk sperma yang abnormal dapat dicirikan dengan kepala sperma gepeng, kepala sperma besar, kepala sperma kecil, bagian tengah kecil, bagian tengah besar, kepala dua, ekor pendek, letak ekor abaksial, adanya sitoplasma yang melekat pada sperma, dan ekor ganda. Bentuk spermatozoa abnormal dapat disajikan pada gambar 2.10 sebagai berikut ini :



Gambar 2.10 : Bentuk spermatozoa yang abnormal (Halim, 2004)

Abnormalitas sperma diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer terjadi akibat kelainan-kelainan spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi sesudah sperma meninggalkan tubuli seminiferi, selama perjalanan melalui saluran epididimis, selama ejakulasi atau dalam manipulasi ejakulat termasuk dalam pengambilan sperma, pemanasan yang berlebihan, pendinginan yang cepat, kontaminasi dengan air, urine, atau antiseptik (Feradis, 2010). Abnormalitas primer meliputi kepala yang terlampau besar, kepala terlampau kecil, kepala pendek melebar, pipih memanjang, kepala rangkap, ekor ganda, bagian tengah yang melipat membengkok, membesar, ekor melingkar, putus, dan membelah (Marimbi, 2010).

Salah satu faktor pemicu terjadinya abnormal pada spermatozoa adalah stres oksidatif akibat dari radikal bebas yang bersumber dari dalam maupun luar tubuh. Stress oksidatif merupakan suatu kondisi yang berhubungan dengan peningkatan kerusakan seluler yang diinduksi oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kualitas spermatozoa dapat menurun disebabkan oleh kerusakan membran spermatozoa yang kaya lemak tak jenuh oleh ROS. ROS mampu meningkatkan jumlah lipid peroksidasi yang akan menyebabkan hilangnya ATP intraseluler. Hilangnya ATP ini mengakibatkan kerusakan aksonema (tubulus sentral tidak ada, mikrotubulus luar berkurang atau tidak ada sama sekali), menurunkan viabilitas, dan menghambat motilitas (Heffner, 2006). Oleh karena itu digunakanlah antioksidan sebagai pengikat radikal bebas yang akan melindungi spermatozoa.

2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan

2.5.1 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul hasil dari metabolisme tubuh yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbitalnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan, maka akan menyebabkan senyawa radikal bebas bersifat reaktif untuk mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya (Winarsi, 2007).

Secara biokimia, proses pelepasan elektron dari suatu senyawa disebut oksidasi, sementara proses penangkapan elektron disebut reduksi. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor (Fauzi, 2008).

Target utama akibat reaktivitas radikal bebas adalah senyawa lipid, protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, karbohidrat, DNA (*deoxyribonucleic acid*), dan RNA (*ribonucleic acid*). Beberapa molekul tersebut yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh yang berada di dalam sel, sehingga mengakibatkan dinding sel menjadi rapuh (Winarsi, 2007).

Belliville, (1996) mengatakan bahwa serangan radikal bebas terhadap molekul disekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal bebas baru. Akibat serangan ini dapat mengakibatkan gangguan fungsi sel, dan kerusakan struktur sel. Efek kerja radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan oksidan pada umumnya. Di samping

memiliki reaktivitas yang sangat tinggi, radikal bebas juga tidak stabil dan berumur sangat singkat sekali.

2.5.2 Proses Pembentukan Radikal Bebas

Senyawa oksigen reaktif dapat terbentuk setiap saat dalam berbagai kegiatan, bahkan begitu kita sedang bernafas. Sumonggo (2007) mengemukakan bahwa, berdasarkan jalur pembentukannya radikal bebas dapat dibagi menjadi 2 yaitu radikal endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dihasilkan dari jumlah reaksi seluler yang dikatalisis oleh besi (Fe) dan reaksi enzimatik seperti lipooksigenase, peroksidase, NADPH oksidase dan xanthin oksidase, atau juga dapat diartikan sebagai respon normal proses biokimia intra maupun ekstra sel. Radikal bebas eksogen yaitu radikal bebas yang dihasilkan dari luar tubuh seperti polutan lingkungan yang berupa emisi kendaraan bermotor dan industri, asap rokok, radiasi, ionisasi, infeksi bakteri, jamur, virus, serta paparan zat kimia.

2.5.3 Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Kualitas Spermatozoa

Radikal bebas dapat ditemukan dalam tubuh manusia, sebagian besar tergolong ke dalam kelompok oksigen reaktif (ROS). Bila radikal bebas diproduksi in vivo, atau in vitro di dalam sel melebihi mekanisme pertahanan normal, maka akan terjadi berbagai gangguan metabolik dan seluler. Jika posisi radikal bebas yang terbentuk dekat dengan DNA, maka bisa menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga bisa terjadi mutasi atau sitotoksitas (Siregar, 2009). Radikal bebas juga bisa bereaksi dengan nukleotida sehingga menyebabkan perubahan yang signifikan pada komponen biologi sel. Radikal

bebas yang terdapat dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai menghasilkan senyawa baru, akibatnya akan berakumulasi dalam tubuh yang selanjutnya berpotensi menimbulkan stres oksidatif (Sumonggo, 2001).

Mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Selama proses fosforilasi oksidatif ini molekul oksigen dapat berikatan dengan elektron tunggal, sehingga membentuk radikal superoksida ($O_2^{\cdot -}$). Radikal superoksida yang terbentuk ini akan membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroksil reaktif ($OH^{\cdot}$) dengan cara berinteraksi dengan logam transisi reaktif seperti tembaga dan besi (Raharjo, 2006).

Stres oksidatif terjadi akibat kondisi yang tidak seimbang antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh (Hariyatmi, 2004). Kondisi ini menyebabkan efek toksik yang menyerang komponen sel yang berupa senyawa lipid, protein, asam lemak tak jenuh, DNA, dan RNA. Senyawa ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga dapat mengganggu sistem reproduksi (Winarsi, 2007). Reaksi stres oksidatif tersebut menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak organ-organ yang ada di dalam tubuh serta fungsi sel. Namun, adanya reaksi tersebut dapat dihambat oleh sistem antioksidan (Winarsi, 2007).

Hadirnya radikal bebas pada organ reproduksi akan menyebabkan perubahan sel-sel penyusun sistem reproduksi sehingga proses spermatogenesis terganggu yang salah satunya ditandai dengan rusaknya membran mitokondria sel

leydig (Sukmaningsih, 2009). Selain itu hasil penelitian Zhang (2007) mengungkapkan bahwa, radikal bebas juga dapat mengganggu biosintesis testosteron dengan cara mengurangi pengiriman kolesterol ke mitokondria oleh *Peripheral Benzodiazepine Reseptor* (PBR) yang akan menyebabkan penurunan produksi testosteron yang pada akhirnya proses spermatogenesis terganggu. Selain itu penelitian Turk (2008) menyatakan bahwa radikal bebas yang berasal dari asap rokok akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa, karena asap rokok dapat menurunkan frekuensi gerakan ekor sperma. Radikal bebas tersebut menyebabkan produksi ATP mitokondria rendah. Mitokondria merupakan tempat perombakan atau katabolisme untuk menghasilkan energi bagi pergerakan ekor sperma.

2.5.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya, kerusakan sel akan terhambat (Hariyatmi, 2004). Kumalaningsih (2007) menambahkan bahwa, suatu senyawa dikatakan memiliki sifat antioksidan bila senyawa tersebut mampu mendominasi satu atau lebih elektron kepada senyawa peroksidan, kemudian mengubah senyawa oksidan menjadi senyawa yang lebih stabil.

Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinue dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif (Winarsi, 2007).

2.5.5 Klasifikasi Antioksidan

Secara umum senyawa antioksidan dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu senyawa antioksidan enzimatik dan non-enzimatik. Senyawa antioksidan enzimatik terdiri atas enzim-enzim yang dapat merubah *reaksi oksigen spesies* (ROS) seperti *superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan, glutathione. Senyawa antioksidan enzimatik juga dapat ditandai dengan adanya molekul-molekul yang dapat memblokir aktivitas enzim seperti *Allopurinol*, dan *Xanthine Oksidase Inhibitor*, dan molekul-molekul yang biasa menangkap ion logam yang merupakan katalis potensial dari reaksi radikal bebas (Winarsi, 2007).

Antioksidan non-enzimatik dibagi menjadi dua kelompok yaitu 1) antioksidan larut lemak seperti, tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan ubiquinol. 2) Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme. Antioksidan enzimatik dan non-enzimatik tersebut bekerja sama memerangi aktivitas senyawa oksidan dalam tubuh. Terjadinya stress oksidatif dapat dihambat oleh kerja enzim-enzim antioksidan dalam tubuh dan antioksidan non-enzimatik (Tedjo, 2005).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok. Kelompok antioksidan I adalah Antioksidan Primer. Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan antioksidan primer apabila dapat menghambat pembentukan senyawa radikal baru dengan cara memutus reaksi berantai (polimerasi), kemudian mengubahnya menjadi suatu produk yang lebih stabil. Antioksidan ini meliputi enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase (Hefni, 2010).

Kelompok II adalah antioksidan sekunder. Antioksidan ini disebut juga antioksidan eksogen atau non-enzimatis. Antioksidan ini memiliki sistem pertahanan secara preventif yaitu bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak mampu bereaksi dengan komponen sekunder. Antioksidan ini berasal dari tanaman diantaranya vitamin C (asam askorbat), betakaroten, vitamin E (tokoferol), flavonoid, dan senyawa fenolik (Winarsi, 2007).

Kelompok antioksidan ke III terdiri dari kelompok antioksidan tersier yang meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini bekerja dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Winarti, 2010).

2.5.6 Mekanisme Kerja Antioksidan

Sel memiliki pertahanan yang hebat dalam melawan kerusakan oksidatif yaitu melalui antioksidan. Mekanisme kerja antioksidan dalam melindungi sel melalui beberapa cara yaitu (Belliville, 1996) :

- Mencegah pembentukan radikal bebas

- Menahan saat radikal bebas dibentuk
- Memperbaiki kerusakan oksidatif akibat radikal bebas
- Meningkatkan eliminasi molekul yang rusak
- Mencegah mutasi berlebihan

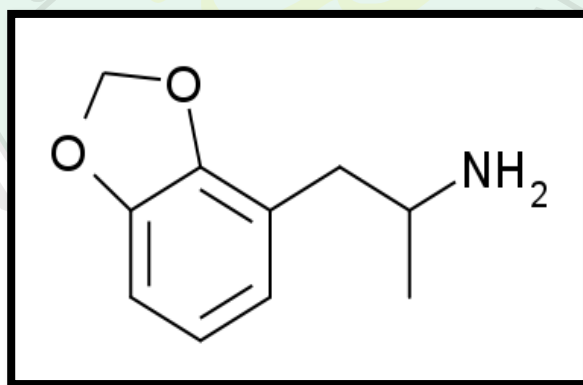
Secara umum kerja antioksidan adalah dengan menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak sendiri terdiri dari 3 tahap yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen. Tahap selanjutnya yaitu propagasi dimana radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi yang lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Hidroperoksida yang terbentuk sifatnya tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek, seperti aldehida dan keton (Winarsi, 2007). Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak tersebut di atas. Berbagai macam antitoksidan yang ada mempunyai mekanisme kerja dan kemampuan yang sangat bervariasi (Bellville, 1996).

2.6 Deskripsi Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) merupakan senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$ (Winarsi, 2007). Hayati (2006) menambahkan bahwa, MDA merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa, dan heksosa. Selain itu MDA dihasilkan melalui

reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk sampingan biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidasi lipid. Astuti (2009) mengemukakan bahwa, MDA merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Oleh sebab itu, konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. MDA dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik. MDA dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat, dan amino fosfolipid secara kovalen.

MDA dalam sel dihasilkan dari proses peroksidasi lipid oleh radikal bebas reaksi oksidasi spesies (ROS) dan biosintesis prostaglandin. MDA terbentuk dari peroksidasi *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) yang memiliki lebih dari 2 ikatan ganda, seperti asam linoleat dan asam arakhidonat. Meningkatnya produksi ROS dapat meningkatkan kadar MDA dalam sel. Oleh karena itu MDA digunakan sebagai salah satu bentuk untuk mengetahui adanya stress oksidatif dalam sel. Struktur MDA dapat disajikan dalam gambar 2.11 sebagai berikut (Raharjo, 2006):



Gambar 2.11 : Struktur Kimia MDA (Raharjo, 2006)

Pada konsentrasi tinggi, komponen sel yang mengandung asam lemak tak jenuh sangat rentan mengalami oksidasi. Derajat peroksidasi lipid dapat ditunjukkan dengan kadar MDA yang merupakan produk akhir dari PUFA (hefni, 2010). Selain itu Astuti (2009) mengemukakan bahwa ROS oleh radikal bebas diawali dengan pembentukan radikal lipid (L^*) yang terjadi bila lipid berupa asam lemak tak jenuh (LH) bereaksi dengan radikal hidroksil ($OH\cdot$). Selanjutnya radikal lipid (L^*) ini bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil (LOO^*). Radikal peroksil yang terbentuk akan bereaksi lagi dengan atom H yang berasal dari molekul lipid lain (L_1H) menghasilkan lipid hidroperoksida ($LOOH$) dan radikal lipid baru (L_1^*).

Lipid hidroperoksida adalah struktur primer peroksidasi yang bersifat sitotoksik. Melalui pemanasan atau reaksi yang melibatkan logam, lipid hidroperoksida akan dipecah menjadi produk peroksidasi lipid sekunder, yakni radikal alkoksil dan peroksil. Radikal lipid alkoksil akan bereaksi dengan lipid peroksil kemudian menginisiasi reaksi rantai lipid lainnya (Hayati, 2006).

Malondialdehyde (MDA) menjadi alat ukur yang paling banyak digunakan sebagai indikator peroksidasi lipid yang didasarkan pada proses oksidasi yang terjadi pada asam lemak tak jenuh (Siregar, 2009). Kadar MDA dapat diukur dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang akan membentuk senyawa MDA-TBA₂. Pengukuran tersebut dapat diketahui jika sampel diukur pada panjang gelombang 532-534 nm. Nilai absorbansi yang didapat dari hasil pengukuran pada panjang gelombang tersebut kemudian dibandingkan dengan larutan standart (Fauzi, 2008).

2.7 Timbal

2.7.1 Tinjauan Umum Timbal

Timbal atau timah hitam (Pb) merupakan logam berat yang terdapat secara alami di dalam kerak bumi dan tersebar ke alam dalam jumlah kecil melalui proses alami maupun buatan. Apabila timbal terhirup atau tertelan oleh manusia, akan beredar mengikuti aliran darah, diserap kembali di dalam ginjal dan otak, dan disimpan di dalam tulang dan gigi. Manusia terkontaminasi timbal melalui udara, debu, air dan makanan (Achmad, 2004).

Raharjo (2006) menambahkan bahwa timbal (Pb) adalah salah satu jenis logam berat yang berasal dari kerak bumi, karena proses alam dan penambangan menyebabkan timbal dapat dijumpai pada ekosistem makhluk hidup. Logam timbal banyak digunakan pada kehidupan sehari-hari, dari kosmetik sampai bahan bakar kendaraan bermotor. Jalur masuknya timbal ke dalam tubuh manusia dapat melalui saluran pencernaan lewat makanan dan minuman, hirupan asap kendaraan bermotor serta hasil industri dan melalui penyerapan kulit.

2.7.2 Sifat Fisika dan Kimia Timbal (Pb)

Timbal adalah logam berat, dengan nomor atom 82, berat atom 207,19 dan berat jenis 11,34. Bersifat lunak dan berwarna biru keabu-abuan dengan kilau logam yang khas sesaat setelah dipotong. Kilauanya akan segera hilang sejalan dengan pembentukan lapisan oksida pada permukaannya, mempunyai titik leleh $327,5^{\circ}\text{C}$ dan titik didih 1740°C (Achmad, 2004).

Lebih dari 95% timbal merupakan senyawa anorganik dan umumnya dalam bentuk garam timbal anorganik, kurang larut dalam air, dan selebihnya berbentuk

timbal organik. Senyawa timbal organik ditemukan dalam bentuk senyawa tetraethyllead (TEL) dan tetramethyllead (TML). Jenis senyawa ini hampir tidak larut dalam air, namun dapat larut dalam pelarut organik, misalnya dalam lipid (Raharjo, 2006).

Akumulasi timbal dalam tubuh dapat menyebabkan gangguan terhadap berbagai sistem dalam tubuh. Hal ini terjadi karena adanya keracunan timbal. Ukuran keracunan ditentukan oleh kadar dan lamanya pemaparan senyawa timbal asetat. Keracunan dapat dibagi menjadi dua yaitu keracunan akut dan keracunan kronis yang disebabkan oleh adanya kadar timbal yang berlebih (melebihi ambang batas) (Fauzi, 2008).

Toksisitas timbal pada kesehatan manusia mempunyai pengaruh yang luas, dari gangguan syaraf, gangguan metabolisme tulang sampai kerusakan ginjal dan gangguan fungsi hati. Bahkan penelitian terakhir menunjukkan bahwa logam timbal memiliki sifat karsinogenik yang dapat merangsang terjadinya kanker pada manusia (Intani, 2010).

2.8 Mekanisme Kerja Radikal Bebas, Antioksidan, Terhadap MDA dan Kualitas Spermatozoa

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Salah satu target akibat radikal bebas adalah senyawa lipid, protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein, karbohidrat, serta DNA dan RNA. Beberapa molekul tersebut yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh yang berada di dalam sel (Fauzi, 2008). Kerusakan sel akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui adalah peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Hal ini akan memicu terjadinya peningkatan produk *Reactive Oxygen Species* (ROS). Aktivitas ROS yang berlebih dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif. Suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan (Siregar, 2009).

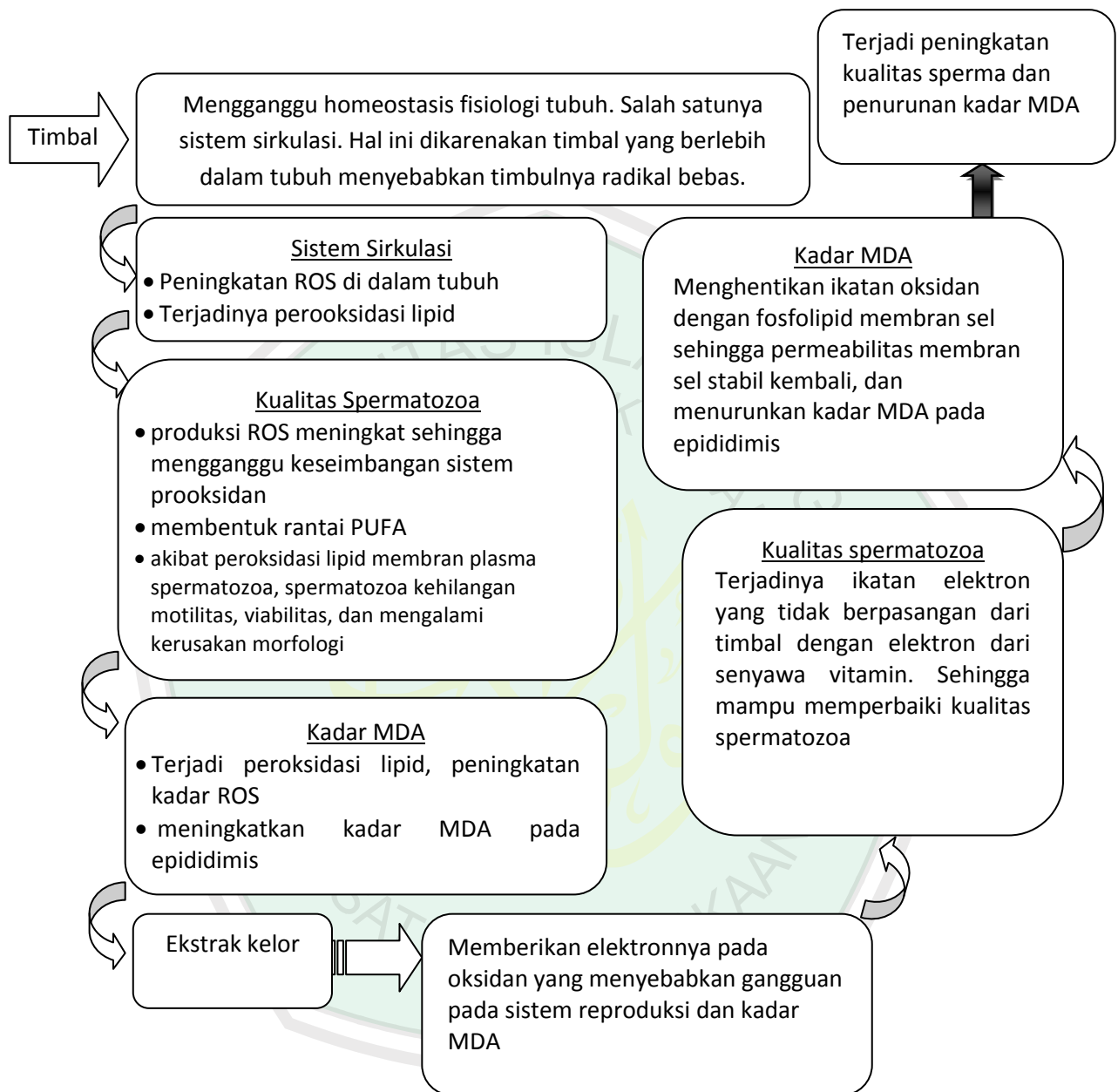
Akibat radikal bebas di dalam tubuh maka akan terjadi beberapa gangguan penyakit, salah satunya adalah sistem reproduksi. Pada keadaan normal, terdapat keseimbangan antara pembentukan ROS dan aktivitas antioksidan dalam saluran reproduksi jantan, sehingga hanya membutuhkan sejumlah kecil ROS untuk regulasi fungsi normal spermatozoa (Astuti, 2009). Namun pada kondisi patologis, misalnya paparan dari asap rokok atau polusi, produksi ROS akan meningkat sehingga mengganggu keseimbangan sistem prooksidan. Selanjutnya, spermatozoa mengalami stres oksidatif karena membran plasmanya mengandung banyak *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dan sitoplasmanya mengandung sedikit enzim antioksidan. Stres oksidatif akan menimbulkan peroksidasi lipid membran plasma spermatozoa, sehingga spermatozoa kehilangan motilitas, viabilitas, dan mengalami kerusakan morfologi (Intani, 2010).

Menurut Hayati (2006), stress oksidatif pada spermatozoa merupakan penyebab utama disfungsi spermatozoa dengan menghambat proses oksidasi fosforilasi. Oksidasi fosforilasi yang mengganggu menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) spermatozoa. Kadar ROS yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein, dan DNA. Lipid membran plasma spermatozoa memiliki fosfolipid dengan kadar yang tinggi sehingga menyebabkan spermatozoa sangat rentan terhadap ROS. Hal ini menunjukkan bahwa membran spermatozoa

adalah target utama ROS, dan lipid adalah sasaran yang potensial. Hal ini ditandai dengan tingginya peroksidasi lipid, maka semakin tinggi kadar *malodialdehid* (MDA).

Bila stres oksidatif sangat berlebihan maka diperlukan tambahan antioksidan dari luar, Salah satunya bahan alami yang banyak dikenal oleh masyarakat adalah tanaman kelor. Vitamin C yang terkandung dalam tanaman kelor adalah suatu senyawa antioksidan yang sangat potensi untuk mengikat dampak radikal bebas. Winarti (2010) mengemukakan bahwa antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya, kerusakan sel akan terhambat. Antioksidan memiliki sistem pertahanan secara preventif yaitu bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak mampu bereaksi dengan komponen sekunder (Hariyatmi, 2004). Sehingga radikal bebas dapat diredam dengan adanya antioksidan dari luar tubuh.

Berdasarkan keterangan di atas, maka pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) kemungkinan dapat memberikan perbaikan kualitas spermazoa. Perbaikan tersebut berupa penurunan kadar MDA, serta meningkatkan kualitas spermatozoa mencit yang telah dipapar dengan menggunakan timbal aasetat. Hal tersebut terjadi karena kandungan vitamin A, vitamin C dan vitamin E dalam kelor yang berperan sebagai senyawa antioksidan yaitu memberikan donor elektron pada senyawa oksidan yang mampu memperbaiki kualitas spermatozoa. Peta konsepnya disajikan dalam gambar berikut ini :



Gambar 2.12 : Kerangka Konsep penelitian

2.9 Macam-Macam Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu zat dengan menggunakan bantuan pelarut, dimana pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larutan yang berbeda-beda dari komponen campuran tersebut. Dalam proses pemisahan dari suatu bahan (serbuk) yang menggunakan pelarut tertentu harus sesuai dengan sifat yang dipisahkan. Hal ini dikarenakan pada pemisahan zat menggunakan pelarut berdasarkan kaidah *“like dissolved like”* yang artinya senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, dan sebaliknya senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar (Harbone, 1996).

Pada serbuk daun kelor diekstraksi dengan cara maserasi. Serbuk disaring dengan vakum kolom dengan menambahkan larutan etanol 70% berulang-ulang sampai tetesan ekstraksi berwarna bening. Hasil tetesan ditampung dalam botol, kemudian dengan menggunakan alat rotari evaporator lengkap, larutan ekstrak ini dipekatkan menjadi larutan ekstrak kental.

Etanol 70% merupakan pelarut polar baik digunakan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dalam tanaman, salah satunya adalah kandungan yang ada pada tanaman kelor seperti vitamin C yang sifatnya polar. Pelarut polar cenderung universal digunakan karena biasanya walaupun polar, tetap dapat mengekstrak senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang rendah (Sundari, 2009).

Macam-macam cara metode ekstraksi diantaranya adalah (Sundari, 2009) :

a. Soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi secara berkesinambungan. Mula-mula pelarut dipanaskan sampai mendidih maka uap

pelarut akan naik melalui pipa samping, kemudian diembungkan lagi oleh pendingin tegak. Pelarut akan turun untuk mengekstrak zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila pelarut mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia terekstrak seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon.

b. Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan suhu yang sesuai kemudian dimasukkan pelarut dalam bejana tertutup sekitar 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam percolator kemudian ditambahkan pelarut. Percolator ditutup dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Selanjutnya adalah dipindahkan filtrat ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

c. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu teknik ekstraksi yang dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan pelarut 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, sambil diaduk sesekali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut. Proses ekstraksi diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

d. Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan pelarut dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih hingga pelarut menguap. Uap tersebut diembunkan dengan pendingin tegak dan diekstrak kembali berulang-ulang sampai diperoleh ekstrak yang diinginkan. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Harbone, 1996).

e. Penyulingan

Penyulingan merupakan cara ekstraksi serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal. Hal ini dikarenakan pada pemanasan biasa, maka akan terjadi kerusakan zat aktif.