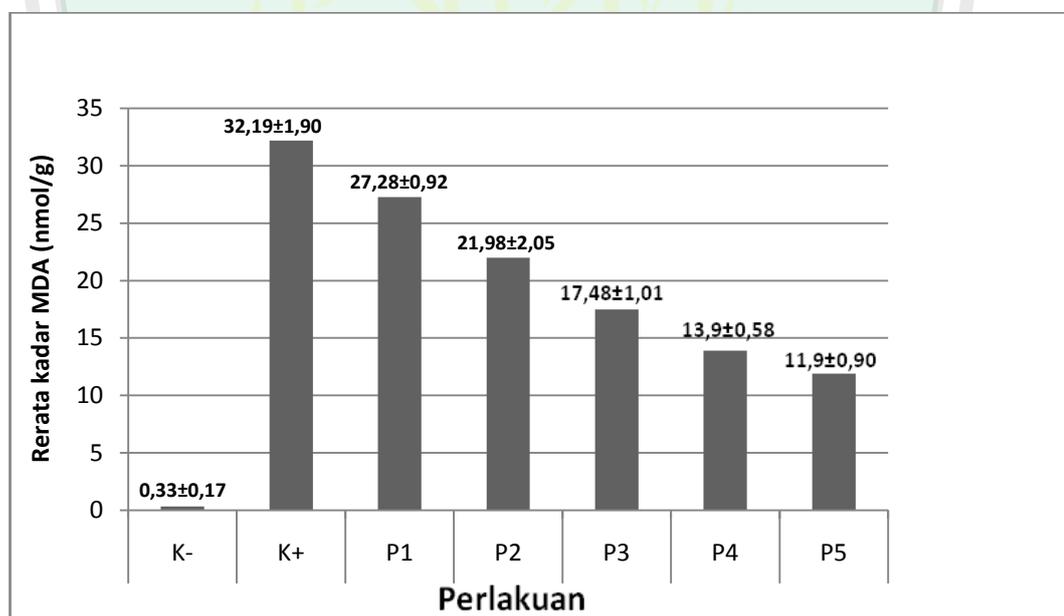


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Epididimis Mencit (*Mus musculus* L) Yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat

Hasil penelitian kadar *Malondialdehyde* (MDA) yang telah dilakukan menunjukkan jumlah kadar *Malondialdehyde* (MDA) yang berbeda. Jumlah kadar MDA Epididimis mencit (*Mus musculus* L) pada perlakuan K- (tanpa pemberian ekstrak dan tanpa pemberian timbal), K+ (tanpa pemberian ekstrak, hanya pemberian timbal), dan perlakuan dengan berbagai dosis yaitu P1 (dosis 0,1 mg/gr BB), P2 (0,2 mg/gr BB), P3 (0,3 mg/gr BB), P4 (0,4 mg/gr BB), dan P5 (0,5 mg/gr BB) ditunjukkan pada gambar 4.1 sebagai berikut :



Gambar 4.1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Berdasarkan gambar 4.1. menunjukkan bahwa perlakuan K⁺ mempunyai nilai rerata konsentrasi tertinggi (32,19±1,9) dibandingkan dengan kelompok perlakuan K⁻ (0,33±0,17), selanjutnya pada perlakuan P1, P2, P3, P4, P5 mengalami penurunan secara berurutan. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Fauzi (2008) bahwa logam berat atau Pb dapat menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Winarsi (2007) menambahkan bahwa peroksidasi lipid adalah degradasi oksidatif asam lemak yang merupakan proses autokatalitik kompleks. Proses ini berlangsung dalam beberapa tahap, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Inisiasi peroksidasi lipid dapat dipicu oleh senyawa kimia yang mampu mengekstraksi atom hidrogen. Inisiasi menyebabkan ekstraksi molekul hidrogen dari grup metilen lipid menghasilkan radikal lipid (L•). Radikal lipid bereaksi dengan O₂ dan selanjutnya membentuk *radikal lipid peroksil* (LOO•) yang bertindak sebagai inisiator selanjutnya. Radikal ini dapat bereaksi dengan asam lemak lainnya sehingga memicu reaksi rantai. Hidrogen peroksida lipid yang terbentuk (LOOH) merupakan senyawa yang tidak stabil. Peroksidasi lipid menghasilkan berbagai produk akhir yang bersifat radikal dan juga merusak makromolekul lain disekitarnya, salah satunya adalah malondialdehyde (MDA).

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa toksik yang merupakan salah satu hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lipid yang memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul C₃H₄O₂ yang dihasilkan melalui reaksi ionisasi dalam tubuh (Astuti, 2009). MDA yang terbentuk pada proses propagasi peroksidasi lipid bersifat stabil, tetapi jika ada transisi metal misalnya Fe, maka substitusi tersebut akan dikatalisa menjadi

radikal peroksil (L-O*) sehingga MDA yang dihasilkan lebih tinggi (Hariyatmi, 2004).

Hasil gambar 4.1. di atas menunjukkan bahwa penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap kadar Malondialdehyde (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar MDA yang dihasilkan. Untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan tersebut, rerata kadar MDA yang didapat dianalisa statistik dengan ANOVA tunggal taraf signifikansi α 1%. Ringkasan hasil statistik ANOVA tunggal pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Ringkasan Anova tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

SK	Db	JK	KT	F _{Hitung}	Sig. 1%
Perlakuan	5	1554.347	310.869	172.232**	0,00
Galat	24	43.319	1.805		
Total	29	1597.666			

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Data tabel ANOVA 4.1. menunjukkan signifikansi pada α 1% lebih kecil dari 0,01 ($0,00 < 0,01$) sehingga pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) sangat berpengaruh terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, dilakukan uji BNJ (beda nyata jujur). Berdasarkan uji lanjut BNJ α 1% didapatkan hasil seperti pada tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.2. Ringkasan BNJ 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Perlakuan	Rerata (nmol/g) \pm SD	Notasi α 1%
K+	32,19 \pm 1,9	a
P1	27,28 \pm 0,9	ab
P2	21,98 \pm 2,0	bc
P3	17,48 \pm 1,01	bc
P4	13,9 \pm 0,58	c
P5	11,9 \pm 0,90	c

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikansi 1%

Berdasarkan Tabel 4.2. dari uji BNJ pada taraf signifikansi 1% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat. Pada perlakuan K+ menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda dengan P1 dan berbeda dengan perlakuan lainnya (P2, P3, P4, P5). Pada P1, memberikan pengaruh yang tidak berbeda dengan K+, P2, P3 dan berpengaruh terhadap P4, dan P5. Sedangkan pada P2 memberikan pengaruh yang tidak berbeda dengan P1, P3 dan berpengaruh pengaruhnya dengan K+, P4, dan P5. Pada P3 memberikan pengaruh yang tidak berbeda dengan P1, P2, dan berbeda pengaruhnya dengan K+, P4, dan P5. Sedangkan pada perlakuan P4 dan P5 memberikan pengaruh yang tidak berbeda dengan P2 dan P3, memberikan pengaruh yang berbeda dengan K+ dan P1.

Hasil uji lanjut dengan menggunakan BNJ α 1%, bahwa pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) pada dosis P5 (0,5 mg/gr BB) merupakan dosis yang paling efektif menurunkan kadar MDA pada epididimis mencit (*Mus musculus* L) karena memiliki nilai rerata terkecil dari perlakuan lainnya (K+, P1,

P2, P3, dan P4). Hasil yang didapatkan tersebut berbeda dengan hasil penelitian Berdasarkan hasil penelitian Fauzi (2008) melaporkan bahwa pemberian vitamin C sintetis dengan dosis 0,2 mg/g BB penurunan kadar MDA sebesar 0,16 $\mu\text{M}/\text{mL}$ pada epididimis mencit yang dipapar timbal (Pb) asetat 0,1 mg/gr BB. Perbedaan ini dimungkinkan karena zat aktif daun kelor yang dipakai tidak hanya vitamin A, B, C dan E saja, tetapi juga ada zat aktif lainnya seperti mineral, asam amino esensial, asam glutamat, asam aspartat, alanin, leusin, serta triptopan. Sedangkan pada penelitian Fauzi (2008) menggunakan vitamin C sintetis yang murni.

Pengaruh yang ditimbulkan oleh ekstrak daun kelor dalam mempengaruhi kadar MDA pada epididimis mencit yang dipapar timbal diduga karena adanya aktivitas antioksidan pada daun kelor yang mampu meredam dampak radikal bebas dari Pb (Winarti, 2010). Hariyatni (2004) mengemukakan bahwa tanaman kelor memiliki suatu senyawa antioksidan yang sangat potensi untuk mengikat dampak radikal bebas dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak mampu bereaksi dengan komponen sekunder.

Pemberian timbal dapat menyebabkan stress oksidatif karena terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Dalam keadaan stress oksidatif, oksidan atau radikal bebas pada tubuh mencit betina akan mengalami peningkatan, sehingga dapat merusak berbagai macam sel seperti sel spermatozoa. Mekanisme kerusakan sel spermatozoa yang disebabkan oleh radikal bebas ini sama dengan kerusakan sel pada umumnya. Fitricia *et al.*, (2012) menyatakan bahwa sel spermatozoa merupakan metabolit sekunder yang aktif yaitu DNA *adduct*. Produksi *reactive oxygen species* (ROS) terjadi selama aktivasi metabolit sekunder. Metabolit sekunder inilah yang akan menyebabkan

DNA *adduct* (kompleks yang dibentuk oleh bagian DNA sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif pada struktur dan fungsi DNA, protein dan lipid). Metabolit sekunder yang reaktif ini dapat berinteraksi dengan pusat-pusat di DNA yang kaya elektron untuk menimbulkan mutasi. Interaksi antara timbal dengan DNA semacam ini dalam suatu sel merupakan tahap awal terjadinya karsinogenesis kimiawi.

Radikal bebas yang ditimbulkan dari timbal pertama kali akan menyerang membran sel spermatozoa yang tersusun atas fosfolipid sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran. Menurut Campbell (2004), fosfolipid dan kolesterol merupakan dasar struktur membran, sementara protein mempunyai tugas-tugas khusus seperti membantu mengangkut molekul-molekul melintasi membran sel. Ceska (2000) menyatakan bahwa komponen yang paling sering diserang oleh radikal bebas adalah lipid dari sel. Proses ikatan radikal bebas dengan lipid tersebut menyebabkan proses yang disebut peroksidasi lipid. Adanya peroksidasi lipid yang berlebihan akan menyebabkan berbagai efek biologis yang merugikan, salah satunya adalah gangguan sistem reproduksi.

Penurunan kadar MDA karena adanya antioksidan dari luar tubuh yang mampu menstabilkan hidroperoksida menjadi senyawa nonradikal. 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 dan lipid peroksil kemudian menginisiasi reaksi rantai lipid lainnya (Hayati, 2006). Mekanisme yang paling penting pada reaksi antioksidan dengan radikal bebas biasanya antioksidan bereaksi dengan radikal bebas peroksil

atau hidroksil yang terbentuk dari hidroperoksida yang berasal dari lipid. Senyawa antioksidan lain dapat menstabilkan hidroperoksida menjadi senyawa nonradikal. Penguraian hidroperoksida dapat dikatalisis oleh logam berat akibatnya senyawa-senyawa dapat mengkelat logam juga termasuk antioksidan (susilowati, 2008).

Berdasarkan penjelasan di atas bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT memiliki ukuran-ukuran yang sangat teliti serta, baik dalam kualitas maupun kuantitasnya. Seperti halnya kandungan yang ada di dalam tubuh manusia, semua diciptakan berdasarkan ukuran dan fungsinya masing-masing. Seperti firman Allah SWT dalam al Qur'an surat al Furqan (25) ayat 2 :

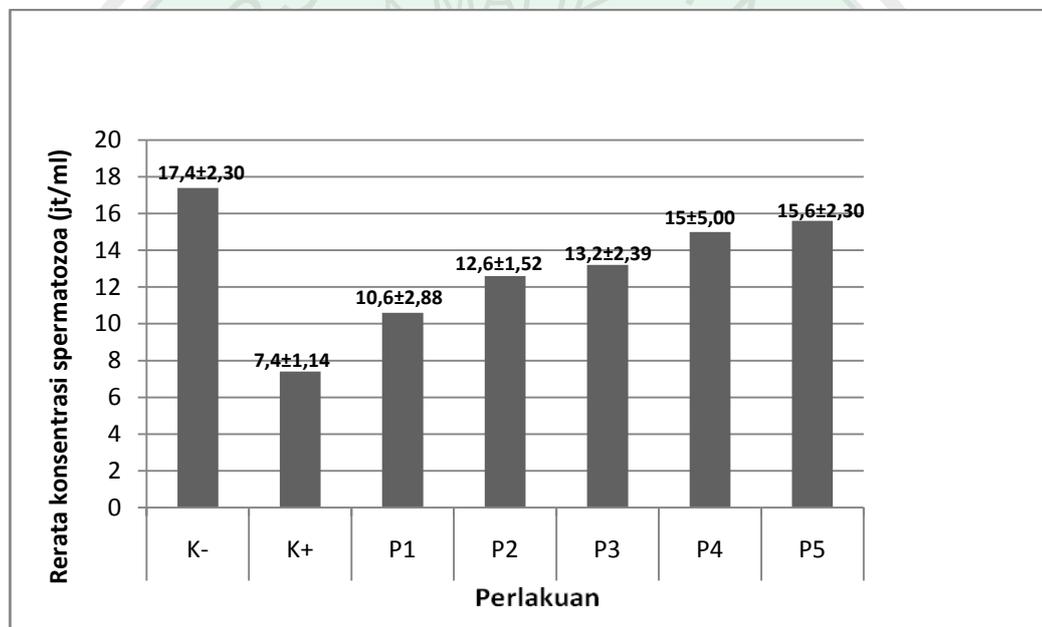
الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ
وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya : *Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan dia Telah menciptakan segala sesuatu, dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (al Furqan : 2).*

Berdasarkan ayat Allah SWT di atas menjelaskan bahwa, Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini sesuai dengan ukuran yang dibutuhkan, dan sesuai dengan fungsinya masing-masing, Seperti halnya pada radikal bebas. Radikal bebas yang ada di dalam tubuh jika berlebihan yang di dapat dari luar tubuh maka sifatnya akan berubah menjadi racun, karena kebutuhan tubuh dengan yang dihasilkan tidak sesuai maka berbahaya bagi tubuh.

4.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Epididimis Mencit (*Mus musculus* L) Yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat

Hasil perhitungan konsentrasi spermatozoa yang dilakukan menunjukkan jumlah konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) pada perlakuan K+ (tanpa pemberian ekstrak, hanya pemberian timbal), K- (tanpa pemberian ekstrak dan timbal), dan perlakuan dengan berbagai dosis yaitu P1 (dosis 0,1 mg/grBB), P2 (0,2 mg/gr BB), P3 (0,3 mg/gr BB), P4 (0,4 mg/gr BB), dan P5 (0,5 mg/gr BB) ditunjukkan pada gambar 4.2 sebagai berikut :



Gambar 4.2. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap konsentrasi spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Berdasarkan gambar 4.2. menunjukkan bahwa perlakuan K+ (diberi perlakuan timbal) mempunyai nilai rerata konsentrasi terendah ($7,4 \pm 1,14$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan K- (tanpa perlakuan) ($17,4 \pm 2,30$), selanjutnya pada perlakuan P1, P2, P3, P4, P5 mengalami peningkatan. Penurunan konsentrasi spermatozoa pada kelompok K+ diduga akibat pemaparan timbal

selama 7 dari luar tubuh, dimana timbal merupakan suatu radikal bebas yang sangat berbahaya jika terlalu berlebihan di dalam tubuh.

Produksi radikal bebas di dalam tubuh sudah diatur oleh Allah SWT dalam keadaan seimbang, hal ini bertujuan untuk memberikan kemaslahatan kepada umat manusia seperti yang tersirat dalam al Qur'an surat al-Infithaar (82) ayat 7:

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾

Artinya : Yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh) mu seimbang (al Infithar :7).

Qurtubi (2008) mengatakan bahwa Lafadz **الَّذِي خَلَقَكَ** (Dia menciptakan kamu) dan **فَعَدَلَكَ** (menjadikan susunan tubuhmu seimbang). Lafadz **فَسَوَّاكَ** merujuk pada manusia yang telah diciptakan secara seimbang. Allah SWT menciptakan secara seimbang susunan tubuh agar fungsi tubuh berjalan dengan baik. Kurang atau lebihnya suatu komponen dalam tubuh akan mengakibatkan ketidakseimbangan fungsi tubuh, sehingga tidak dapat berjalan dengan baik. Begitu pula pada produksi radikal bebas di dalam tubuh. Secara alamiah yang dihasilkan oleh tubuh tidak bersifat toksik terhadap sel, yang salah satunya adalah pada sel spermatozoa. Pada penelitian tersebut di atas pemaparan timbal (Pb) secara terus menerus atau berlebihan akan menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh yang memicu kondisi stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif terjadi ketika produksi radikal bebas (peroksidan) dan antioksidan di dalam tubuh tidak seimbang, sehingga berakibat pada kerusakan sel dan berpengaruh terhadap konsentrasi sperma.

Timbal (Pb) yang masuk ke dalam tubuh akan dihidrolisis dalam hati, dalam keadaan terus menerus timbal mampu meningkatkan produksi radikal bebas. Fauzi (2008) mengemukakan bahwa pemaparan timbal selama 30 hari akan meningkatkan produksi radikal bebas di dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas di dalam tubuh juga mempengaruhi proses spermatogenesis sel germinal yang terjadi di dalam testis. Pengaruh yang diakibatkan pada spermatogenesis dengan cara merusak membran mitokondria sel leydig sehingga hormon testosteron terhambat. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Zhang *et al* (2007) bahwa radikal bebas yang berasal dari golongan *phyrethroid* dapat menyebabkan kerusakan pada membran mitokondria sel leydig sehingga mengganggu biosintesis hormon testosteron. Rusaknya membran mitokondria sel leydig akibat reaktivitas radikal bebas akan menghambat konversi kolesterol menjadi *pregnenolon* yang dikatalisis oleh sitokrom P-450cc. *Pregnenolon* merupakan bahan dalam biosintesis hormon testosteron. Ketika konversi *pregnenolon* terhambat maka akan menyebabkan spermatogenesis juga terhambat, sehingga konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan juga terhambat. Sedangkan pada epididimis pemberian timbal (Pb) akan mempengaruhi proses maturasi spermatozoa.

Hasil gambar 4.2. di atas bahwa penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap konsentrasi spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat menunjukkan adanya pengaruh rerata konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan. Untuk mengetahui adanya pengaruh rerata tersebut, rerata yang didapatkan dianalisa statistik dengan ANOVA tunggal taraf signifikansi α 1%. Ringkasan

hasil statistik ANOVA tunggal pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.3 :

Tabel 4.3. Ringkasan Anova tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap konsentrasi spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

SK	db	JK	KT	F_{Hitung}	Sig.
Perlakuan	5	229.600	45.920	5.752**	0,00
Galat	24	191.600	7,983		
Total	29	421.200			

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Data tabel ANOVA 4.3. menunjukkan signifikansi α 1% lebih kecil dari 0,01 ($0,00 < 0,01$) pada taraf signifikansi 1% sehingga pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) sangat berpengaruh terhadap konsentras spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, dilakukan uji BNJ (beda nyata jujur). Hasil uji lanjut BNJ α 1% didapatkan hasil seperti pada tabel 4.4. sebagai berikut:

Tabel 4.4. Ringkasan BNJ 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap konsentrasi spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Perlakuan	Rata-Rata (jt/ml) \pm SD	Notasi α 1%
K+	7,4 \pm 1,14	a
P1	10,6 \pm 2,88	ab
P2	12,6 \pm 1,52	bc
P3	13,2 \pm 2,39	bc
P4	15 \pm 5,00	cd
P5	15,6 \pm 2,30	cd

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikansi 1%

Berdasarkan tabel 4.4. dari uji BNJ pada taraf signifikan 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap konsentrasi spermatozoa pada epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar oleh timbal (Pb) asetat dapat diketahui bahwa pada perlakuan K+ dan P1 memberikan pengaruh yang sama, akan tetapi pada K+ memberikan pengaruh yang berbeda dengan P2, P3, P4, dan P5. Sedangkan pada P1, P2, dan P3 memberikan pengaruh yang sama, akan tetapi pada P1 memberikan pengaruh yang berbeda dengan P4, dan P5. Pada P2, P3, P4 dan P5 memberikan pengaruh yang sama dalam meningkatkan konsentrasi sperma.

Hasil uji lanjut dengan menggunakan BNJ α 1% menunjukkan bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) pada dosis P5 (0,5 mg/gr BB) merupakan dosis yang paling efektif meningkatkan konsentrasi spermatozoa pada epididimis mencit (*Mus musculus* L) sebesar $15,6 \pm 2,30$. Hal tersebut karena adanya aktivitas radikal bebas yang berasal dari Pb dengan antioksidan yang berasal dari daun kelor yang diberikan. Sesuai dengan penelitian Hefni (2010) melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol jahe merah pada tikus putih yang dipapar *alettherin* pada dosis 200 mg/kg BB mampu menurunkan konsentrasi spermatozoa tikus putih sebesar 17, 28 jt/ml. Johnson *et al* (1991) mengemukakan bahwa, peningkatan radikal bebas yang ditimbulkan akibat dari pemaparan zat kimia *allettherin* akan menyebabkan terganggunya mikrotubulus sel sertoli yang kemudian diikuti oleh penurunan sekresi cairan tubulus seminiferus. Cairan tersebut berperan dalam menyediakan nutrisi dan hormon dalam mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel germinal. Rusaknya sel-sel sertoli akan mengganggu proses spermiogenesis maupun spermatogenesis sehingga konsentrasi

sperma menurun. Menurut Mahriani (2008) gangguan pada sel-sel sertoli akan menghambat regenerasi dan pematangan sel germinal, yang akan menyebabkan kematian sel-sel germinal melalui mekanisme apoptosis. Penghambatan regenerasi dan pematangan sel germinal akan mempengaruhi konsentrasi sperma yang dihasilkan.

Kerusakan-kerusakan di atas tersebut akibat radikal bebas dapat dicegah dengan mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung senyawa antioksidan. Antioksidan dapat mencegah dan meredam akibat kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas untuk menjadi radikal bebas yang lebih stabil yang sifatnya tidak merusak. Menurut Kumalaningsih (2007) antioksidan diperlukan untuk menginaktivasi berkembangnya reaksi senyawa oksidasi dengan cara mendonorkan satu atau lebih elektron pada senyawa peroksidan, kemudian mengubah senyawa oksidan menjadi senyawa yang lebih stabil yang sifatnya tidak merusak.

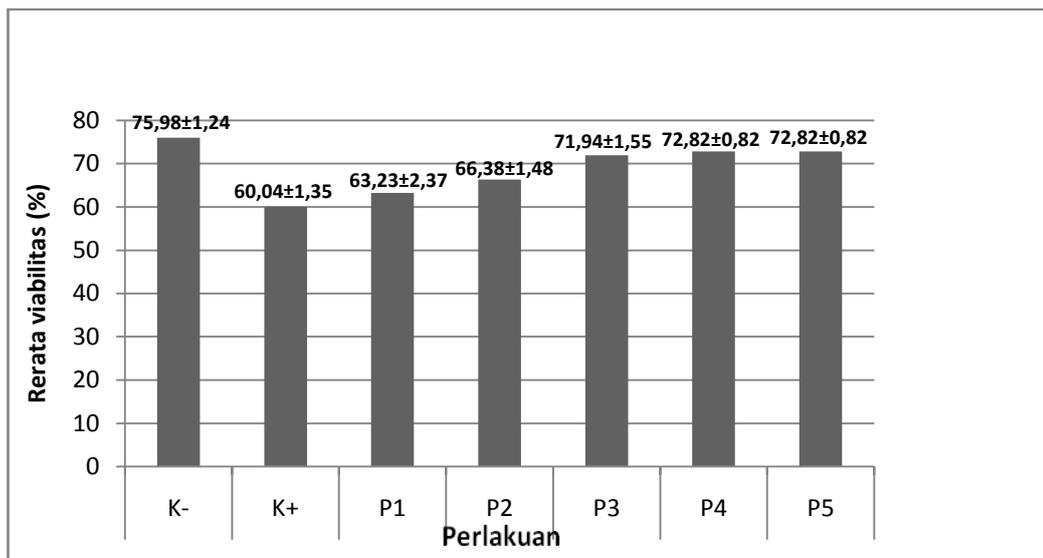
Antioksidan yang digunakan untuk meredam dampak radikal bebas timbal (Pb) pada penelitian ini yaitu berasal dari kandungan senyawa ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L). Tilong (2011) mengemukakan bahwa kandungan senyawa daun kelor (*Moringa oleifera* L) yang berperan sebagai antioksidan dan di dalam tubuh yang mampu mengikat radikal bebas yaitu seperti vitamin A, 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 triptofan yang dibutuhkan oleh tubuh. 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.

Hasil penelitian Septina (2002) bahwa, antioksidan vitamin C dapat digunakan untuk menghambat terjadinya peroksidasi lipid. Penghambatan peroksidasi lipid oleh senyawa antioksidan dilakukan dengan cara mendonorkan satu atau lebih radikal hidrogen kepada senyawa radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil. Akibat senyawa radikal bebas yang sudah stabil, maka kerusakan sel spermatozoa dapat dihindari, sehingga proses spermatogenesis kembali normal.

4.3. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Epididimis Mencit (*Mus musculus* L) Yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat

Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa yang dilakukan dengan perbesaran 400X, menunjukkan hasil abnormalitas yang berbeda. Viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) pada K+ (tanpa pemberian ekstrak, hanya pemberian timbal), K- (tanpa pemberian ekstrak dan tanpa timbal) dan perlakuan dengan berbagai dosis yaitu P1 (dosis 0,1 mg/grBB), P2 (0,2 mg/gr BB), P3 (0,3 mg/gr BB), P4 (0,4 mg/gr BB), dan P5 (0,5 mg/gr BB) ditunjukkan pada gambar 4.3 sebagai berikut :



Gambar 4.3: Pengaruh ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap viabilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Hasil pengamatan pada gambar 4.3. diketahui jumlah rerata viabilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) setelah pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) mengalami perbedaan. Berdasarkan gambar 4.3. menunjukkan bahwa perlakuan K+ (diberi perlakuan timbal) mempunyai nilai rerata viabilitas terendah ($60,04 \pm 1,35$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan K- (tanpa perlakuan) ($75,98 \pm 1,24$), selanjutnya pada perlakuan P1, P2, P3, P4, P5 mengalami peningkatan. Penurunan viabilitas spermatozoa pada perlakuan K+ diakibatkan oleh pemberian timbal yang merupakan radikal bebas dari luar tubuh.

Pemaparan timbal secara terus menerus akan memicu peningkatan konsentrasi ROS pada sel spermatozoa. Pembentukan ROS secara normal sebenarnya merupakan proses fisiologis tubuh yang diperlukan dalam kelangsungan hidup sel spermatozoa, tetapi dalam jumlah yang berlebihan akan bersifat toksik terhadap sel spermatozoa. Pembentukan ROS di dalam tubuh oleh

Allah SWT sudah diatur dengan ukuran dan batasan yang tidak berlebihan, hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al Qur'an suat ar-Ra'ad (13) ayat 8 :

اللَّهُ يَعْلَمُ مَا تَحْمِلُ كُلُّ أُنْثَىٰ وَمَا تَغِيضُ الْأَرْحَامُ وَمَا تَزْدَادُ ۗ وَكُلُّ شَيْءٍ
عِنْدَهُ بِمِقْدَارٍ ﴿٨﴾

Artinya : Allah mengetahui apa yang dikandung oleh setiap perempuan, dan kandungan rahim yang kurang Sempurna dan yang bertambah. dan segala sesuatu pada sisi-Nya ada ukurannya (ar-Ra'ad: 8).

Qurtubi (2008) menyatakan bahwa lafadz بِمِقْدَارٍ mengandung makna sesuai ukurannya. Berdasarkan ayat Allah SWT di atas, segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT sesuai dengan ukuran dan dan batasan yang tidak berlebihan. Allah SWT menciptakan segala sesuatu didunia ini sesuai dengan kebutuhan makhluk hidup, termasuk dalam pengaturan pembentukan radikal bebas ROS, dalam konsentrasi yang normal ROS dapat bermanfaat bagi tubuh, tetapi dalam jumlah berlebih ROS mampu bersifat toksik terhadap sel penyusun makhluk hidup. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Intani (2010) bahwa ROS dalam konsentarsi yang normal diperlukan sebagai mediator penting terhadap fungsi spermatozoa dan terlibat sebagai induksi hiperaktivasi, kapasitasi, reaksi akrosom, serta fungsi spermatozoa dan sel telur.

Peningkatan ROS yang berasal dari hasil metabolisme timbal dapat merusak membran mitokondria sel spermatozoa sehingga tidak bisa menghasilkan ATP yang diperlukan untuk kelangsungan hidup spermatozoa. Peningkatan ROS juga dapat menyerang struktur DNA sehingga akan menyebabkan kematian pada spermatozoa (Fauzi, 2008).

Susilowati (2008) mengemukakan bahwa pemaparan dari golongan insektisida *pyrethroid* dapat membentuk senyawa radikal bebas ROS. Peningkatan ROS pada spermatozoa atau plasma seminalis dapat menyebabkan kerusakan asam lemak khususnya asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh merupakan komponen penting dari fosfolipid penyusun membran spermatozoa. ROS yang berlebih akan mampu menginaktivasikan enzim glikolitik, dan pemutusan rantai DNA yang akan menyebabkan kematian sel spermatozoa. Winarsi (2007) menambahkan, ketika asam lemak tak jenuh bereaksi dengan kelompok ROS berupa radikal hidroksil akan menyebabkan reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Keadaan peroksidasi lipid yang terus menerus akan mengakibatkan terakumulasinya ROS dalam plasma, dan selanjutnya akan meningkatkan kerusakan membran sel spermatozoa. Rusaknya membran plasma akan mengganggu proses metabolisme, sehingga sintesa ATP tidak berjalan dengan normal dan berakibat pada penurunan viabilitas spermatozoa.

Hasil gambar 4.3. di atas bahwa penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap viabilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat menunjukkan adanya pengaruh perlakuan. Untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan tersebut, rerata viabilitas spermatozoa dapat dianalisa statistik dengan ANOVA tunggal taraf signifikansi α 1%. Ringkasan hasil statistik ANOVA tunggal pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Ringkasan Anova tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap viabilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

SK	db	JK	KT	F _{Hitung}	Sig.
Perlakuan	5	618.311	123.662	49.978**	0.00
Galat	24	59.384	2.474		
Total	29	677.696			

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Data tabel ANOVA 4.5. signifikansi α 1% lebih kecil dari 0,01 (0,00 < 0,01) pada taraf signifikansi 1% sehingga pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) sangat berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa pada mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar oleh timbal (Pb) asetat. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan, uji BNJ (beda nyata jujur). Berdasarkan uji lanjut BNJ α 1% didapatkan hasil seperti pada tabel 4.5. sebagai berikut:

Tabel 4.5. Ringkasan BNJ 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap viabilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Perlakuan	Rata-Rata(%) \pm SD	Notasi α 1%
K+	60,04 \pm 1,35	a
P1	63,23 \pm 2,37	a
P2	66,38 \pm 1,48	b
P3	71,94 \pm 1,55	b
P4	72,82 \pm 0,82	c
P5	72,82 \pm 0,82	c

Keterangan : Angka yang didampingi dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Berdasarkan tabel 4.5. dari hasil uji BNJ taraf signifikansi 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap viabilitas spermatozoa mencit yang dipapar timbal dapat diketahui bahwa pada K+ dan P1 memberikan pengaruh yang sama, akan tetapi K+ dan P1 memberikan pengaruh yang berbeda dengan P2, P3, P4, dan P5. Pada P2 dan P3 memberikan pengaruh yang sama,

akan tetapi memberikan pengaruh dengan K+, P1, P4, dan P5. Pada P4 dan P5 memberikan pengaruh yang sama, akan tetapi memberikan pengaruh yang berbeda dengan K+, P1, P2, dan P3. Pemberian ekstrak kelor yang mempunyai efektivitas tertinggi pada peningkatan jumlah viabilitas spermatozoa mencit yang dipapar timbal yaitu pada kelompok perlakuan P5 (dosis 0,5 mg/gr BB) karena berdasarkan uji lanjut mempunyai nilai rerata tertinggi dibandingkan yang lainnya.

Berdasarkan penjelasan di atas bahwa peningkatan nilai rerata dikarenakan adanya senyawa antioksidan yang berperan dalam menangkal radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas, sehingga membuat radikal bebas lebih stabil dan bersifat tidak merusak. Antioksidan bersifat *scavenger* (penangkap) terhadap radikal bebas (Siregar, 2009). Antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berasal dari kandungan daun kelor. Menurut Winarti (2010) bahwa tanaman kelor banyak mengandung zat aktif seperti beberapa vitamin, meneral, dan zat-zat lainnya yang berperan sebagai antioksidan.

Senyawa antioksidan memberikan efek perlindungan pada kerusakan membran sel spermatozoa yang ditimbulkan dari efek reaktif radikal bebas. Menurut Winarsi (2007) mengatakan bahwa, senyawa vitamin C pada tanaman kelor berfungsi sebagai antioksidan alami yang mampu mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa akibat dari kegiatan peroksidasi lipid, yang ditandai dengan kemampuannya memprtahankan kegiatan enzim antioksidan seperti superoksidase dismutase (SOD), katalase, glutation peroksida.

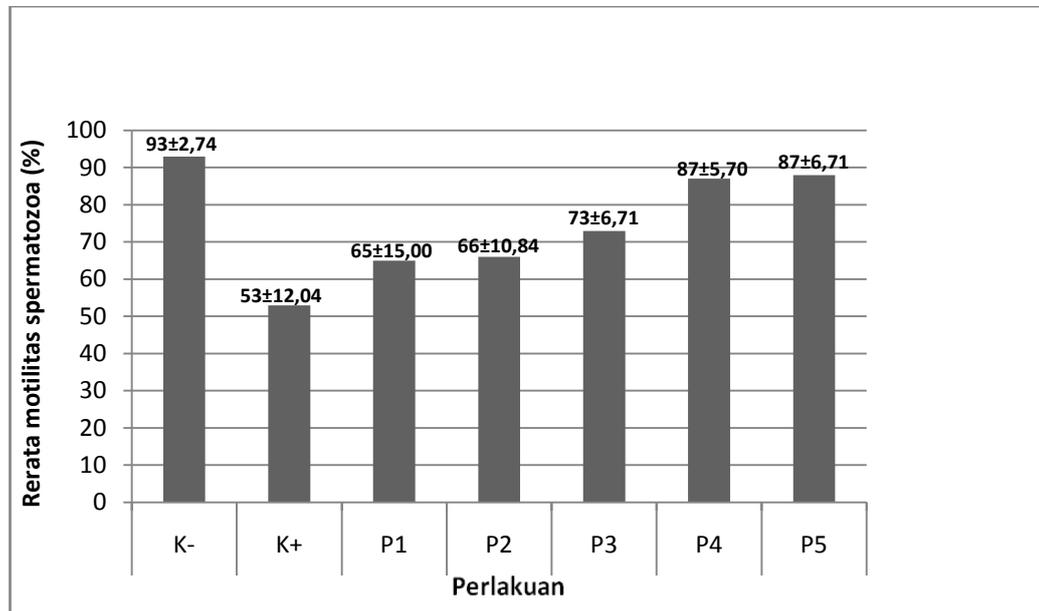
Komponen utama membran plasma spermatozoa berupa senyawa fosfolipid yang berasal dari asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh merupakan komponen terpenting dalam mempertahankan fluiditas membran plasma yang dibutuhkan untuk memelihara kegiatan biologis, biokimia, sehingga apabila kondisi membran plasma normal, maka akan meningkatkan viabilitas spermatozoa (Susilowati, 2008).

Membran plasma yang rusak menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel pada kepala spermatozoa sehingga banyak senyawa-senyawa yang tidak diinginkan dapat dengan mudah masuk ke dalam sel. Hal ini mengakibatkan terjadinya perubahan berupa pembengkakan dan kerusakan bagian kepala spermatozoa sehingga menyebabkan kerusakan membran akrosom yang terletak dibagian anterior kepala spermatozoa. Membran spermatozoa yang sudah rusak menyebabkan enzim-enzim hidrolitik yang terkandung di dalam akrosom keluar yang berakibat tudung akrosom yang dimiliki spermatozoa tidak utuh sehingga spermatozoa mengalami mati (Fitriani, 2010).

4.4. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Motilitas Spermatozoa Epididimis Mencit (*Mus musculus* L) Yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat

Hasil pengamatan motilitas spermatozoa yang dilakukan dengan perbesaran 400X menunjukkan hasil motilitas yang berbeda. Motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) pada perlakuan K⁺ (tanpa pemberian ekstrak, hanya pemberian timbal), K⁻ (tanpa pemberian ekstrak dan timbal), dan perlakuan dengan berbagai dosis yaitu P1 (dosis 0,1 mg/grBB), P2 (0,2 mg/gr

BB), P3 (0,3 mg/gr BB), P4 (0,4 mg/gr BB), dan P5 (0,5 mg/gr BB) ditunjukkan pada gambar 4.4 sebagai berikut :



Gambar 4.4. Pengaruh ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap motilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Berdasarkan gambar 4.4. menunjukkan bahwa perlakuan K+ (diberi perlakuan timbal) mempunyai nilai rerata motilitas terendah ($53 \pm 12,04$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan K- (tanpa perlakuan) ($93 \pm 2,74$), selanjutnya pada perlakuan P1, P2, P3, P4, P5 mengalami peningkatan. Penurunan motilitas diakibatkan oleh pengaruh pemberian timbal yang merupakan radikal bebas dari luar tubuh. Pemaparan secara terus menerus mampu meningkatkan konsentrasi ROS (*reaktive oxygen species*). ROS dikenal dengan molekul yang sangat reaktif dan digolongkan sebagai radikal bebas karena memiliki elektron yang tidak berpasangan. Pembentukan ROS sebenarnya merupakan proses fisiologi tubuh, namun apabila terjadi peningkatan yang berlebihan maka akan

menimbulkan stres oksidatif. Peningkatan ROS dapat merusak membran mitokondria sel sperma sehingga menurunkan jumlah ATP yang dihasilkan untuk keperluan pergerakan sperma (Winarti, 2010). Zang *et al* (2007) mengatakan bahwa pada golongan *allethrin* dapat meningkatkan produksi ROS. Peningkatan ROS dapat memicu kerusakan sel, termasuk sel sertoli, sel germinal, dan sel spermatozoa. Pada sel spermatozoa, ROS akan menyerang membran mitokondria sehingga mengurangi jumlah ATP yang dihasilkan. Sukmaningsih (2007) menambahkan bahwa penurunan jumlah ATP dapat mengakibatkan kerusakan pada aksonema. Aksonema pada spermatozoa berfungsi sebagai motor penggerak sperma untuk mencapai sel telur. Aksonema dibentuk oleh mikrotubula yang berasal dari sentriol pada inti spermatozoa. Motilitas progresif sperma dipengaruhi oleh ketersediaan energi yang menyebabkan gesekan antar mikrotubula.

Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan ATP di dalam selubung mitokondria pada badan ekor sel spermatozoa melalui reaksi-reaksi penguraian menjadi ADP (*adenosin dhipospat*) dan AMP (*adenosin monopospat*), sehingga apabila terjadi kerusakan pada membran mitokondria mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa (Ghazali, 2002). Khaki (2009) mengemukakan bahwa spermatozoa sangat rentan terhadap kerusakan akibat ROS yang berlebihan karena kandungan konsentrasi yang tinggi asam lemak tak jenuh ganda dalam membran plasmanya. ROS yang berupa radikal hidroksil dapat bereaksi dengan asam lemak tak jenuh dan menyebabkan timbulnya reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan merusak struktur matriks lipid membran spermatozoa, dan menyebabkan hilangnya motilitas spermatozoa.

Hasil gambar 4.4. di atas bahwa penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap motilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat menunjukkan adanya perbedaan rerata motilitas yang dihasilkan. Untuk mengetahui adanya perbedaan rerata tersebut, dapat dianalisa statistik dengan ANOVA tunggal taraf signifikansi α 1%. Ringkasan hasil statistik ANOVA tunggal pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Ringkasan Anova tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap motilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

SK	Db	JK	KT	F_{Hitung}	Sig.
Perlakuan	5	4484.167	896.833	8.821**	0.00
Galat	24	2440.000	101.667		
Total	29	6924.167			

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Data tabel ANOVA 4.5. menunjukkan signifikansi α 1% $< 0,01$ ($0,00 < 0,01$) sehingga pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) sangat berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa pada mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar oleh timbal (Pb) asetat. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, dilakukan uji BNJ (beda nyata jujur). Berdasarkan uji lanjut BNJ α 1% didapatkan hasil seperti pada tabel 4.6. sebagai berikut:

Tabel 4.6. Ringkasan BNJ 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap motilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Perlakuan	Rata-Rata (%) \pm SD	Notasi α 1%
K+	53 \pm 12,04	a
P1	65 \pm 15,00	ab
P2	66 \pm 10,84	ab
P3	73 \pm 6,71	bc
P4	87 \pm 5,70	cd
P5	87 \pm 6,71	cd

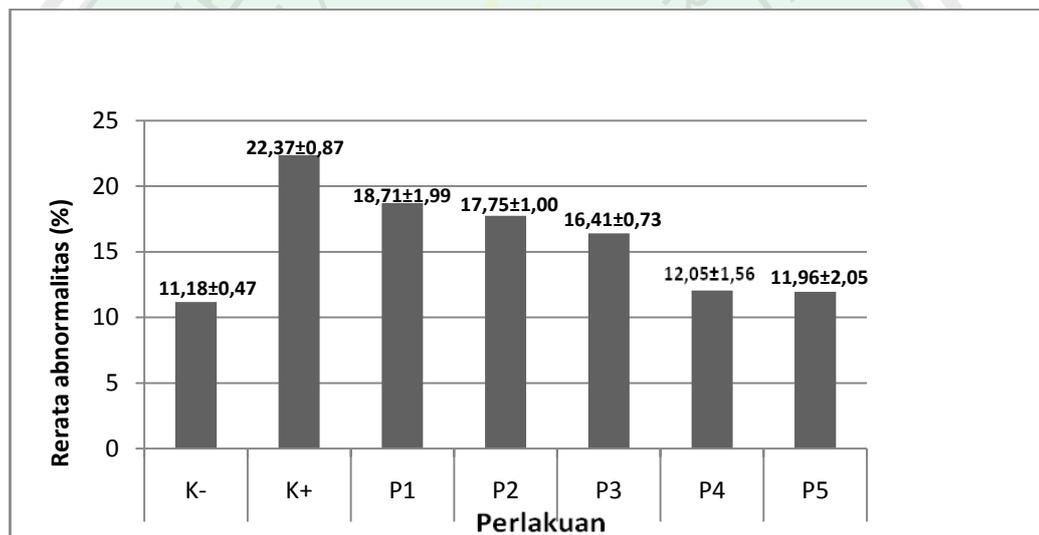
Keterangan : Angka yang didampingi dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Berdasarkan tabel 4.6. dari hasil uji BNJ pada taraf signifikan 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap motilitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat dapat diketahui bahwa pada K+, P1, dan P2 memberikan pengaruh yang sama, akan tetapi pada K+ memberikan pengaruh yang berbeda dengan P3, P4, dan P5. Sedangkan pada perlakuan P1, P2, dan P3 memberikan pengaruh yang sama, akan tetapi pada perlakuan P1, P2, dan P3 memberikan pengaruh yang berbeda terhadap P4, dan P5. Hasil uji lanjut dengan menggunakan BNJ α 1% menunjukkan bahwa pada dosis P5 (0,5 mg/gr BB) merupakan dosis yang paling efektif meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang dipapar timbal asetat karena memiliki nilai rerata tertinggi dari yang lainnya (K+, P1, P2, P3, P4). Hasil yang didapatkan tersebut berbeda dengan hasil penelitian Nugraheni (2009) yang mengemukakan bahwa penambahan vitamin C sintetis sebesar 0,024 mg/gr BB mampu peningkatan kecepatan gerak spermatozoa sebesar 38,8%. Perbedaan ini dimungkinkan karena vitamin yang digunakan berbeda, yaitu dari bahan alam dan C sintetis murni.

Kerusakan membran mitokondria sel spermatozoa akibat sifat reaktif dari radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme timbal (Pb) dapat diredam dengan senyawa antioksidan dari luar tubuh. Senyawa antioksidan yang dipakai adalah dari bahan alam seperti tanaman kelor. Winarti (2010) mengatakan bahwa daun kelor mampu meningkatkan kualitas spermatozoa yang disebabkan adanya kandungan bahan aktif yang berasal dari paparan timbal yang bertindak sebagai radikal bebas. Selain itu Ara (2008) mengemukakan bahwa ekstrak daun kelor secara signifikan mampu menurunkan peroksidasi lipid dan menghambat terjadinya reaksi berantai akibat dari serangan radikal bebas dengan mempertahankan kegiatan enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksida. Penghambatan terjadinya reaksi berantai oleh antioksidan akan mencegah produksi radikal bebas baru, sehingga kondisi radikal bebas di dalam tubuh dapat stabil. Kondisi antioksidan dan radikal bebas yang stabil akan menjaga aktivitas membran sel spermatozoa termasuk dalam menghasilkan ATP yang diperlukan dalam proses biokimia dan motilitas spermatozoa, sehingga motilitas spermatozoa meningkat. Peningkatan motilitas spermatozoa karena hadirnya zat aktif di dalam ekstrak daun kelor seperti vitamin A, B, C, E serta zat lainnya seperti fosfor, kalsium, dan magnesium yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Antioksidan pada daun kelor mampu meredam dampak yang ditimbulkan oleh radikal bebas dari hasil metabolisme timbal (Pb).

4.5. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Abnormalitas Spermatozoa Epididimis Mencit (*Mus musculus* L) Yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat

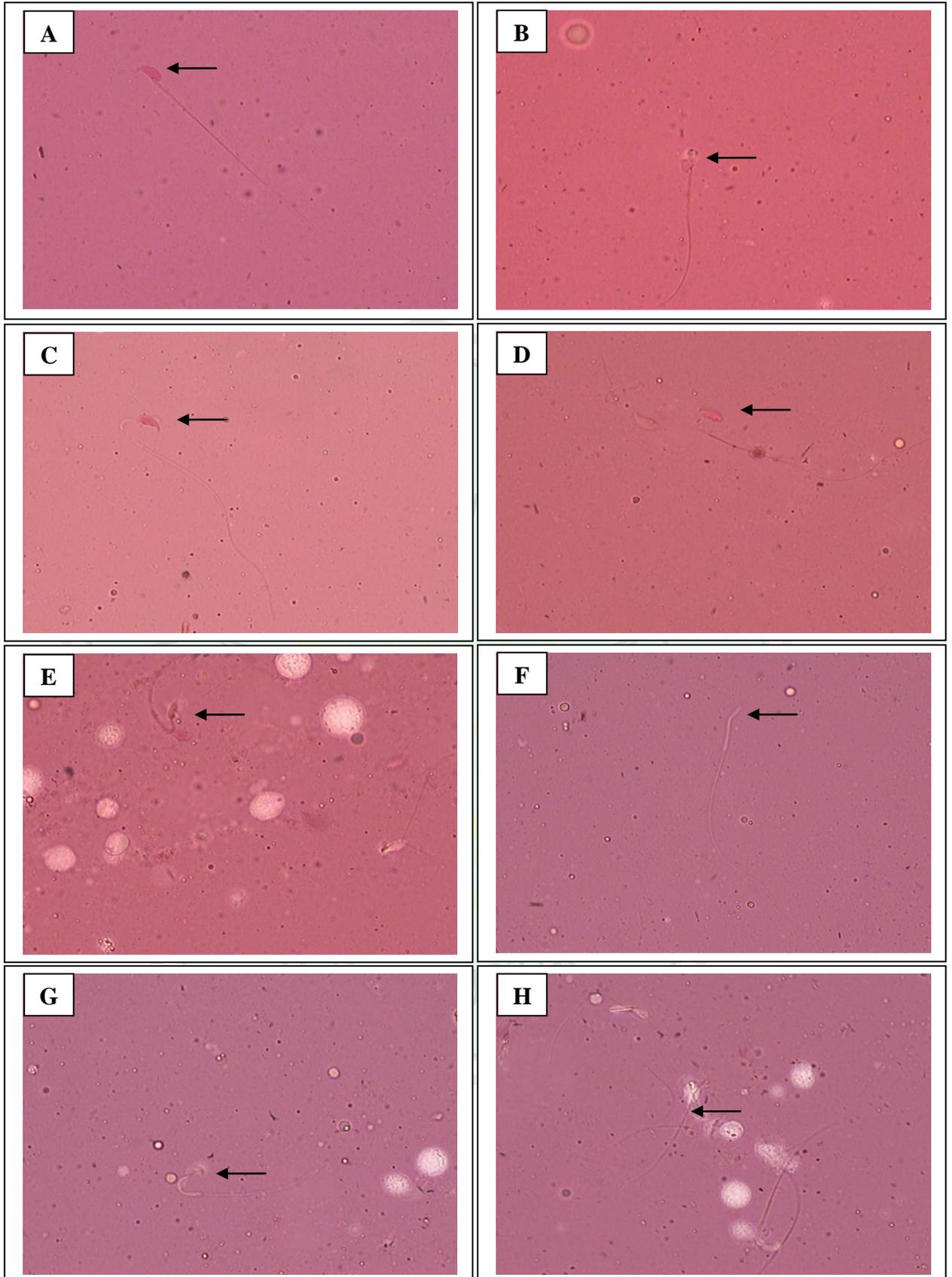
Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa yang dilakukan dengan perbesaran 400X, menunjukkan hasil abnormalitas yang berbeda. Abnormalitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) pada perlakuan K+ (hanya pemberian timbal), K- (tanpa pemberian ekstrak dan timbal), dan perlakuan dengan berbagai dosis yaitu P1 (dosis 0,1 mg/grBB), P2 (0,2 mg/gr BB), P3 (0,3 mg/gr BB), P4 (0,4 mg/gr BB), dan P5 (0,5 mg/gr BB) ditunjukkan pada gambar 4.5. sebagai berikut :



Gambar 4.5. Pengaruh ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap abnormalitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Berdasarkan gambar 4.5. menunjukkan bahwa perlakuan K+ (diberi perlakuan timbal) mempunyai nilai rerata abnormalitas tertinggi (22,37±0,87) dibandingkan dengan kelompok perlakuan K- (tanpa perlakuan) (11,18±0,47), selanjutnya pada perlakuan P1, P2, P3, P4, P5 mengalami penurunan. Menurut Intani (2010) bahwa pemberian timbal pada mencit secara oral akan masuk ke

dalam paru-paru yang selanjutnya akan diikat oleh membran alveolus, dan diedarkan keseluruh tubuh. Timbal kemudian dihidrolisis dalam hati dan menghambat enzim mikrosom sel hati. Penghambatan mikrosom sel hati oleh timbal akan merusak jalan detoksifikasi racun dan berpotensi menghasilkan radikal bebas. Hal ini sesuai yang diungkapkan oleh Zang *et al* (2007) secara umum radikal bebas turunan dari golongan *pyrethroid* menyebabkan penghambatan enzim mikrosom sel hati melalui persaingan di tempat pengikatan sitokrom P-450cc. Adanya penghambatan enzim mikrosom sel hati, dapat merusak salah satu jalan detoksifikasi dasar tubuh pada metabolisme endogen dan eksogen, sebagai dampaknya hati tidak mampu medetoksifikasi racun secara sempurna, sehingga mengakibatkan munculnya metabolit sekunder yang berpotensi menghasilkan efek toksik dan bertindak sebagai radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan efek kronik yang mengakibatkan gangguan fungsi sel, dan gangguan pada sistem reproduksi. Intani (2010) menambahkan bahwa toksisitas timbal dalam tubuh dapat menyebabkan efek kronik yang mengakibatkan kerusakan struktur sel, penyakit autoimun, penyakit kanker, serta gangguan sistem reproduksi. Gangguan pada sistem reproduksi salah satunya karena hadirnya radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh akibat paparan timbal. Radikal bebas dapat menyebabkan abnormalitas pada morfologi spermatozoa. Abnormalitas pada spermatozoa yang dapat teridentifikasi antara lain : ekor putus, kepala sperma putus, ekor sperma pendek, ekor sperma bengkok, kepala sperma kecil, kepala sperma ganda, dan ekor sperma melingkar (Gambar 4.6)



Gambar 4.6. Hasil Pengamatan abnormalitas terdiri dari : (A) sperma normal, (B) Kepala pecah, (C) Kepala bengkok, (D) Kepala putus, (E) Kepala gepeng, (F) Ekor putus, (G) Ekor ganda, (H) kepala ganda (Perbesaran 400X)

Abnormalitas spermatozoa akibat serangan radikal bebas tersebut dapat terjadi ketika dalam proses spermatogenesis atau juga dapat terjadi setelah sperma meninggalkan tubulus seminiferus. Menurut Hayati (2006) bahwa senyawa radikal bebas yang menyebabkan stres oksidasi dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid pada membran spermatozoa sehingga terjadi kerusakan membran dan penurunan integritas membran spermatozoa, pada akhirnya berdampak terhadap penurunan abnormalitas spermatozoa. Toelihere (1993) mengatakan bahwa kelainan morfologi spermatozoa dapat diklasifikasikan 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.

Abnormalitas primer pada spermatozoa akibat reaktivitas radikal bebas terjadi karena radikal bebas dapat menyerang membran mitokondria sel leydig dan mikrotubulus sel sertoli. Kerusakan membran mitokondria sel leydig dan mikrotubulus sel sertoli akan mengganggu proses pematangan sel germinal dalam tubulus seminiferus, sehingga spermatozoa yang dihasilkan tidak sempurna (Hefni, 2010). Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Srivastava (2006) pemaparan zat kimia dari golongan *pyrethroid* selama 45 hari akan memicu kerusakan mitokondria sel leydig dan mikrotulus sel sertoli, selanjutnya diikuti

oleh penurunan nutrien dan hormon untuk untuk mengatur proses spermatogenesis atau pematangan sel germinal.

Hasil gambar 4.5. di atas bahwa penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap abnormalitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat menunjukkan adanya perbedaan rerata abnormalitas. Untuk mengetahui adanya pengaruh rerata tersebut, rerata yang didapatkan dianalisa statistik dengan ANOVA tunggal taraf signifikansi α 1%. Ringkasan hasil statistik ANOVA tunggal pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.7.:

Tabel 4.7. Ringkasan Anova tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap abnormalitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

SK	Db	JK	KT	F_{Hitung}	Sig.
Perlakuan	5	406.499	81.300	37.846**	0.00
Galat	24	51.556	2.148		
Total	29	458.055			

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Data tabel ANOVA 4.7. menunjukkan signifikan α 1% lebih kecil dari < 0,01 ($0,00 < 0,01$) sehingga pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) sangat berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa pada mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar oleh timbal (Pb) asetat. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan, uji lanjut BNJ (beda nyata jujur). Berdasarkan uji lanjut BNJ α 1% didapatkan hasil seperti pada tabel 4.8 sebagai berikut:

Tabel 4.8. Ringkasan BNT 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap abnormalitas spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus* L) yang dipapar timbal (Pb) asetat

Perlakuan	Rata-Rata (%)±SD	Notasi α 1%
K+	22,37±0,87	a
P1	18,71±1,99	a
P2	17,75±1,00	b
P3	16,41±0,73	b
P4	12,05±1,56	b
P5	11,96±2,05	c

Keterangan : Angka yang didampingi dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Berdasarkan tabel 4.8. dari hasil uji BNJ pada taraf signifikan 1% tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap abnormalitas spermatozoa mencit yang dipapar timbal dapat diketahui bahwa pada perlakuan K+ dan P1 memberikan pengaruh yang sama, tetapi memberikan pengaruh yang berbeda dengan P2, P3, P4 dan P5. Pada P2, P3, dan P4 memberikan pengaruh yang sama, tetapi memberikan pengaruh berbeda dengan pada K+, P1 dan P5. Sedangkan pada P5 memberikan pengaruh terhadap K+, P1, P2, P3, dan P4.

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Oludoro (2009) yang mengatakan bahwa abnormalitas spermatozoa akibat pemaparan asap rokok dapat menimbulkan kerusakan DNA yang diakibatkan pengaruh dari ROS. Kerusakan DNA terjadi akibat tekanan oksidatif yang mampu meningkatkan ROS sehingga merusak fragmentasi DNA yang mengakibatkan apoptosis. Hal ini yang menyebabkan spermatozoa banyak yang mati dan dapat menyebabkan infertil.

Reaktivitas radikal bebas dari metabolisme timbal dapat dicegah dengan pemberian antioksidan. Usaha untuk pencegahan ini termasuk dalam ikhtiar makhluk Allah SWT untuk mencapai kesembuhan penyakitnya. Allah SWT memerintahkan kepada manusia untuk menggunakan obat dan upaya-upaya untuk

tidak bertentangan dengan kodrat ketergantungan manusia (tawakkal) kepada Allah SWT. Pengobatan merupakan jalan usaha untuk penyembuhan, tetapi yang menyembuhkan penyakit hanyalah kuasa Allah SWT. Seperti ucapan nabi Ibrahim a.s yang di sampaikan dalam al-Qur'an surat asy-Syu'ara (26) ayat 80 :

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِي

Artinya : *Dan apabila Aku sakit, dialah yang menyembuhkan aku*
(asy-Syu'ara: 80).

Ayat di atas mengemukakan bahwa Allah SWT akan menyembuhkan hamba-Nya yang sakit. Tafsir Al-Mishbah menjelaskan pada lafadz **يَشْفِينِي**

mengandung arti menyembuhkan, masyarakat yang hidup di zaman Nabi Ibrahim mengalami sakit, namun mereka masih saja meminta pertolongan kepada berhala-berhala mereka. Nabi Ibrahim menyampaikan kepada masyarakat yang hidup pada saat itu supaya sadar bahwa sesungguhnya Allah SWTlah yang memberi sakit, dan Dialah yang akan menyembuhkan sakit itu. Karena sesungguhnya Dialah yang memberi kesembuhan, serta Dia pula yang mematikan, juga menghidupkan kita kembali untuk mempertanggungjawabkan segala amal perbuatan kita, setelah kita mati nanti. Akan tetapi tidak serta merta Allah SWT memberi kesembuhan begitu saja. Kita sebagai manusia yang diberi akal dan pikiran diperintahkan untuk berusaha mencari berbagai alternatif pengobatan. Jadi kita diperintahkan untuk berusaha lebih dahulu barulah kemudian memasrahkan hasilnya kepada Allah SWT (Shihab, 2002).

Saat sekarang ini banyak bahan alternatif yang bisa digunakan untuk penyembuhan segala jenis penyakit. Salah satunya adalah pada tanaman kelor

yang banyak mengandung senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mencegah peroksidasi lipid dan dapat meredam dampak radikal bebas sehingga lebih stabil dan tidak merusak. Senyawa antioksidan yang digunakan untuk meredam dampak dari radikal bebas akibat timbal adalah zat aktif pada daun kelor. Menurut Tilong (2011) senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada tanaman kelor yang mampu mengikat radikal bebas yaitu seperti vitamin A,B, C, dan vitamin E. Winarti (2010) menambahkan bahwa 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. daun kelor juga mengandung makro elemen seperti potasium, kalsium, magnesium, sodium, dan fosfor, serta mikro elemen seperti mangan, seng, dan besi.

Uloduro (2009) melaporkan bahwa, kandungan bahan aktif pada tanaman kelor yang berupa vitamin A,B, C, dan vitamin E, serta makro elemen lainnya mampu bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas, memberikan perlindungan dominatif pada kerusakan DNA, menghambat peroksidasi lipid, serta mencegah timbulnya reaksi berantai oleh radikal bebas. Lilibeth (2010) menambahkan bahwa, selain kandungan antioksidan, tanaman kelor juga memiliki androgenik yang mampu meningkatkan konsentrasi hormon testosteron dalam serum. Hadirnya antioksidan dalam tanaman kelor akan memberikan perlindungan secara dominatif dari kerusakan membran mitokondria sel spermatozoa akibat dari radikal bebas yang dihasilkan dari timbal, sehingga kualitas spermatozoa meningkat termasuk menurunnya jumlah abnormalitas pada spermatozoa.