

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Dalam perspektif islam, sebagaimana yang diungkapkan buku Tafsir Al-Maraghi bahwa manusia harus tetap berusaha mencari mencari obat untuk mengobati setiap penyakit, yang mana Allah Subhanahu Wataa'la telah menyediakan alam semesta beserta isinya ini untuk kemudian dimanfaatkan. Dalam firmanNya Allah telah memberi petunjuk sebagai berikut :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*”(Q. S Asy Syuara':7).

Ayat diatas telah memberi penjelasan sesuai dengan buku tafsir Al-Maraghi bahwa di alam semesta ini Allah Subhanahu Wataa'la telah menyediakan tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia, baik digunakan sebagai obat, bahan bangunan, dan lain-lain. Salah satu dari tanaman obat yang banyak dikenal adalah jintan hitam (*Nigella sativa*).

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

Sebagaimana hadist yang diriwayatkan oleh Abu Salamah bahwa Abu Hurairah Radhiallah Huanhu meriwayatkan dari Rasulullah Salallahu'alaihi Wasallam yang bersabda (Al-Albani, 2006):

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: "فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ" رَوَاهُ فِي مُسْنَدِهِ، وَمُسْنَدِ، وَالْبُخَارِيِّ وَابْنِ مَاجَهٍ وَالْحَدِيثُ صَحِيحٌ/الْأَحَادِيثُ الصَّحِيحَةُ .

*Hadits riwayat Abu Hurairah Radhiyallahu'anhu: Rasulullah Shallallahu alaihi wassalam bersabda: "Sesungguhnya pada jintan hitam itu terdapat obat untuk segala macam penyakit kecuali kematian".*

Sebagaimana diketahui bahwa pengobatan dengan menggunakan tumbuh-tumbuhan telah dilakukan oleh Nabi Muhammad SAW pada masanya. Pada penelitian ini menggunakan jintan hitam (Habbatus sauda') sebagai obat tradisional untuk antioksidan.

### 2.1.1 Morfologi Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

*Nigella sativa* dengan bijinya yang hitam dikenal dengan bermacam-macam nama. Terminologinya bervariasi antara satu tempat dengan tempat yang lain. Dalam bahasa Inggris disebut *Black cummin*, *black carraway*, *fennel flower*, *love in a mist*, *nutmeg flower*. Dalam bahasa Persia disebut *Shonaiz*. Dalam bahasa Arab dikenal sebagai Habbatus sauda' atau Habbatul barokah (biji yang diberkahi) (Junaedi dan Yulianti, 2006).

Jintan hitam termasuk dalam suku *Ranunculaceae*. Tanaman jintan hitam tumbuh di sekitar kawasan Mediterania, Asia Barat, India, Pakistan, Bangladesh, Afrika Timur, Eropa Tengah. Di India tumbuhan ini digunakan sebagai obat dan bumbu. Menurut Vonderman, jintan hitam didatangkan dari Indonesia ke Bombay (Junaedi dan Yulianti, 2006).

Tanaman Jintan hitam termasuk tanaman berbatang tegak dan biasanya berusuk,serta berbulu kasar yang kadang-kadang rapat atau jarang. Bulu-bulu yang ada dibatang ini umumnya berkelenjar. Daun jintan hitam berbentuk lanset dan bergaris dengan panjang 1,5-2 cm, ujung meruncing, serta memiliki tiga tulang daun yang berbulu. Daun bagian bawah bertangkai dan bagian atas duduk. Sementara itu daun pembalut bunga relatif kecil (Junaedi dan Yulianti, 2006).



Gambar 2. 1 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Tanaman ini mempunyai daun bercabang halus dang bunga berwarna putih atau ungu kebiruan pucat. Dalam satu tangkai, bunga dan daunnya tumbuh berseberangan. Daun yang letaknya lebih rendah berukuran kecil dan pendek, sedangkan letaknya yang lebih tinggi berukuran panjang (6-10 cm). Batang tanaman ini mencapai 12-18 inchi sampai buah atau bijinya masak (Avicena, 2000).

Bunga jintan hitam memiliki lima kelopak bunga dengan bentuk bukat telur, ujung agak meruncing sampai agak tumpul, seta pangkal mengecil membentuk sudut yang pendek besar. Mahkota bunga umumnya ada delapan dengan bentuk agak memanjang, lebih kecil daripada kelopak bunga, serta

bebrbulu jatang dan pendek. Bibir bunga ada dua buah. Bibir bunga bagian atas pendek, Lancet, dan ujung memanjang seperti benang. Ujung bibir bunga bagian bawah tumpul (Junaedi dan Yulianti, 2006).

Benang sari dari bunga jintan hitam ini banyak dan gundul. Kepala sari jorong dan berbentuk sedikit tajam dengan warna kuning. Bagian tanaman yang biasa dimanfaatkan orang adalah bijinya. Biji jintan hitam kesil dan pendek (Panjangnya hanya 1-3 mm), berwarna hitam bentuknya trigonal (bersudut tiga tidak beraturan), berkelenjar dan tampak seperti batu api jika diamati dengan mikroskop. Biji-bijian ini berada di dalam buah yang berbentuk bulat telur atau agak bulat (Junaedi dan Yulianti, 2006).

*Nigella sativa* membentuk kapsul buah yang terdiri dari beberapa biji trigonal berwarna putih. Ketika kapsul buah masak, kapsul akan terbuka dan biji yang ada di dalamnya akan keluar, dan menjadi hitam (Al-Jassir, 1992).

### **2.1.2 Klasifikasi Tanaman Jintan Hitam**

Klasifikasi tanaman jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah sebagai berikut (Savitri, 2008):

Kingdom Plantae

Divisi Magnoliophyta

Kelas Magnolipsida

Ordo Ranunculales

Famili Ranunculacea

Genus *Nigella*

Spesies *Nigella sativa* Linn

*Nigella sativa* merupakan salah satu spesies dari genus *Nigella* yang memiliki kurang lebih 14 spesies tanaman yang termasuk dalam famili

Ranunculaceae. 14 spesies tersebut di antaranya adalah : *Nigella arvensis*, *Nigella ciliaris*, *Nigella damascena*, *Nigella hispanica*, *Nigella integrifolia*, *Nigella nigellastrum*, *Nigella orientalis*, dan *Nigella sativa*. Tanaman ini berasal dari Eropa Selatan, Afrika Utara, dan Asia Selatan (Anonymous, 2009).

### 2.1.3 Khasiat dan Kegunaan

Biji jintan hitam pada umumnya digunakan pada pengobatan tradisional, seperti diuretik, antihipertensi, memperbaiki proses pencernaan, antidiare, stimulan nafsu makan, analgesik, antibakteri, dan digunakan untuk penyakit kulit. Jintan hitam juga telah dilakukan studi untuk aktivitas biologi dan memperlihatkan untuk antidiabetes, antikanker, imunomodulator, antimikroba, anti-inflamasi, spasmolitik, bronchodilator, hepatoprotektif, pelindung ginjal, dan antioksidan (Gillani, *et al.*, 2004). Jurnal lain juga menyebutkan bahwa jintan hitam juga dapat berfungsi sebagai *imun stimulant*, antihistamin, *hypoglycemic*, *choleretic*, dan antipiretik (Al-Ali, *et al.*, 2008).

### 2.1.4 Komponen Kimia Jintan Hitam

Komposisi kimia dalam jintan hitam antara lain asam amino (*leucine*, *valine*, *lysine*, *threonine*, *phenylalanine*, *isoleucine*, *histidine*, *methionine*, *glutamic acid*, *arginine*, *aspartic acid*, *glycine*, *proline*, *serine*, *alanine*, *tryrosine*, *cystine*), mineral (K, P, Na, Fe, Zn, Ca, Mg, Mn dan Co), asam lemak (*myristic*, *myristoleic*, *palmitic*, *palmitoleic*, *stearic*, *oleic*, *linoleic*, *arachidic*, *linolenic*, *eicosadienoic*, *lignoceric*, asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh) (Al-Jassir, 1992). Biji jintan hitam mengandung *thymoquinone (TQ)*, *hydrothymoquinone*, *plythymoquinone*, *nigellicine*, *nigellidine*, *nigellimine-N-*

*oxide, thymol, carvacrol dan alpha-hedrin* (Al-Ali, *et. al*, 2008). Kandungan jintan hitam yang lain adalah *dithyquinone, thymohydroquinone, oxy-comarin, 6-methoxy coumarine* dan *7-hydroxy-coumarin, steryl-glucosidedan tannis* (Randhawa, 2008). Selain itu, jintan hitam juga mengandung gula reduksi, alkaloid, asam organik, saponin, resin, melanthin. Melanthigin, abu, air, terpenoids, *alpipatic, alcohol, unsaturated  $\alpha$ - $\beta$ -hydroxy ketone*, sterol, and ester (Gilani, *et. al.*, 2004).

Biji jintan hitam mengandung karbohidrat, proein dan lemak cukup besar berdasarkan penelitian Sultan, *et. al.* (2009). Penelitian tersebut melaporkan bahwa jintan hitan mengandung mineral utama yaitu potassium, kalsium, fosfor dan magnesium, selain itu juga mengandung sodium, besi, mangan, seng, dan tembaga. Jintan hitam mengandung *fixed oil* dengan *polynsaturated fattyacid* sebesar  $60,17 \pm 1,53\%$ , asam lemak jenuh sebesar  $16,64 \pm 16,21$  mg/kg dan *monosaturated fatty acid* sebesar  $22,47 \pm 0,59\%$ . Kandungan karotenoid dan tokoferol sebesar  $450,66 \pm 13,17$  mg/kg dalam minyak, sedangkan dalam kandungan *thymoquinone*  $201,31 \pm 13,17$  mg/kg dalm biji. Sebagai pembanding dianalisi pula *essensial oil* dan diketahui bahwa jintan hitam mengandung *thymoquinone, dihydrotymoquinone, p-cymene, carvacrol,  $\alpha$ -thujene, thymol,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene* dan *t-anethole* sebagai komposisi utamanya. Selanjutnya, pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode peroksidasi lipid dan DPPH. Penghambatan radikal bebas pada *fixed oil* dan *essensial oil* dengan metode peroksisidasi lipid yaitu sebesar 25,62% dan 92,56%, sedangkan peggambatan radikal bebas dengan metode DPPH yaitu 32,32% dan

80,25%. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa *fixed* dan *essential oil* pada jintan hitam mengandung banyak senyawa fitokimia dan memiliki kemampuan untuk melawan berbagai penyakit *hyperglycemia* dan *hypercholesterolemia*.

Timoquinon merupakan salah satu turunan fenil propana, yang diperoleh dari oksidasi asam kuminat. Perubahan asam kuminat menjadi asam 5-dehidrokuminat dikendalikan oleh kolmodulin dan protein kinase. Seperti diketahui, kalmodulin dan protein kinase banyak memberi peran substansi kerja intra sel.

Menurut Junaedi dan Yulianti (2006) menyatakan bahwa nigellon berfungsi sebagai stabilisator dalam sistem imunitas tubuh pada masa pertumbuhan. Sedangkan asam lemak terutama asam lemak esensial yang terdiri dari asam alfa-linoleik (omega 3) dan asam linoleik (omega 6) yang merupakan pembentuk sel dan substansi yang tidak dapat dibentuk dalam tubuh. Selain itu juga berfungsi sebagai pengunci dan penghilang zat-zat berbahaya penyebab kanker.

Berikut ini adalah komposisi kimia biji jintan hitam menurut Nickavar, *et al.*, (2003):

Tabel 2.1 : Komposisi kimia biji jintan hitam (*Nigella sativa* Linn. )

No	Compound	Percentage
1	<i>n</i> -Nonane	1,7
2	3-Methyl Nonane	0,3
3	1,3,5- Trimethyl benzen	0,5
4	<i>n</i> -Denane	0,4
5	1-Methyl-3-propyl benzene	0,5
6	1-Ethyl-2-3-dimethyl benzene	0,2
7	<i>n</i> -Tetradecane	0,2
8	<i>n</i> - Hexadecane	0,2
9	<i>Nentorperonoid hydrocarbones</i>	4,0
10	A-Thujene	2,4
11	A-Pinene	1,2

Lanjutan tabel 2.1 : Komposisi kimia biji jintan hitam (*Nigella sativa* Linn. )

12	Sabinene	1,4
13	$\beta$ -Pinene	1,3
14	Myrcene	0,4
15	$\alpha$ -Phellundrene	0,6
16	P-Cymene	14,8
17	Limonene	4,3
18	Y-Terpinene	0,5
19	<i>Monoterpenoid hydrocarbones</i>	26,9
20	Fenchona	1,1
21	Dihydrocarvone	0,3
22	Caryone	4,0
23	Thymoquinone	0,6
24	<i>Monoterpenoid ketones</i>	6,0
25	Terpenon-4-ol	0,7
26	p-Cymene-8-ol	0,4
27	Carvacrol	1,6
28	<i>Monoterpenoid alcohols</i>	2,7
29	Longifolene	0,7
30	A-longipinene	0,3
31	<i>Sesquiterpenoid Hydrocarbones</i>	1,0
32	Estragole	1,9
33	Anisaldehyde	1,7
34	<i>Trans-Anethole</i>	38,3
35	Myristicin	1,4
36	Dill Apiole	1,8
37	Apiole	1,0
38	Phenyl propenoid compounds	46,1

Penelitian yang dilakukan oleh Nickavar, *et. al.* (2005), meneliti komposisi kimia *fixeddan volatile oil* pada jintan hitam (*Nigeel sativa*, L. ) dari iran. Penentuan komposisi kimia tersebut menggunakan instrumen GC-MS. Hasil analisis menunjukkan bahwa dalam jintan hitam mengandung 8 senyawa *fixed oil* (99,5%) dan 32 senyawa utama *volatile oil*(86,7) yang telah diidentifikasi. Kandungan asam lemak pada *fixed oil*antara lain asam linoleat (55,6%), asam



oleat (23,4%) dan asam palmitat (12,5%). Senyawa utama *volatile oil* yaitu *trans-anethole* (38,3%), *p-cymene* (14,8%), *limonene* (4,3%), dan *carvone* (4,0%).

Menurut Junaedi dan Yulianti (2006), jintan hitam tidak hanya terbukti berfungsi sebagai obat penyembuh, tetapi juga mengandung lebih dari 100 unsur yang mendukung sistem kekebalan tubuh manusia, termasuk unsur yang dapat menyembuhkan kanker. Jintan hitam bermanfaat sebagai penguat sistem kekebalan tubuh dan penekan rasio sel T sebagai indikator penyakit, antioksidan yang mampu membuang racun dari dalam tubuh (detoksifikasi), aktifitas antihistamin, dan berbagai penyakit kulit.

## 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 18-20gram. 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).



**Gambar 2.2** 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

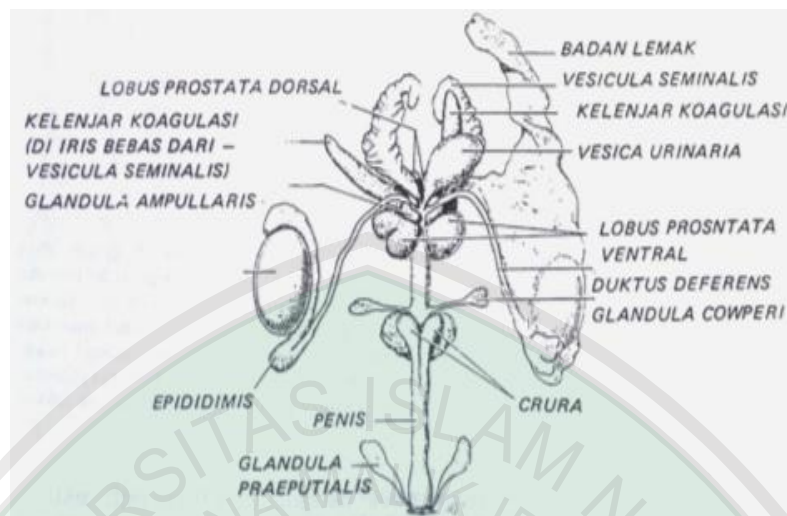
Subfamili : Murinae

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 2.3 Organ reproduksi menci jantan**

Sistem reproduksi pada menci jantan terdiri atas sepasang testis, pasangan kelenjar-kelenjar aksesori, dan sistem duktus termasuk organ kopulasi. Yatim (1996) mengemukakan bahwa saluran reproduksi jantan terdiri dari ductuli efferens, epididimis, vas defferens, ductus ejakulatoris dan uretra. Terdapat dua macam sel epitel yang melapisi ductuli efferens yaitu sel epitel yang bersilia dan bermikrofilii. Epididimis merupakan tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa.

Epididimis merupakan suatu struktur berbentuk koma yang menahan batas posterolateral testis. Epididimis dibentuk oleh saluran yang berlekuk-lekuk secara tidak teratur yang disebut duktus epididimis. Duktus epididimis memiliki panjang sekitar 600 cm. Duktus ini berawal pada puncak testis yang merupakan kepala epididimis. Setelah melewati jalan yang berliku-liku, duktus ini berakhir pada ekor epididimis yang kemudian menjadi vas deferens (Heffner, 2006).

Epididimis terletak pada bagian dorsal lateral testis, merupakan suatu struktur memanjang dari bagian atas sampai bagian bawah testis. Organ ini terdiri dari bagian kaput, korpus dan kauda epididimis (Rugh, 1968). Epitel epididimis memiliki dua fungsi. Pertama, mensekresikan plasma epididimis yang bersifat kompleks tempat sperma tersuspensikan dan mengalami pematangan. Kedua, mengabsorpsi kembali cairan testikuler yang mengangkut sperma dari tubulus semineferus dan sperma yang sudah rusak (Haffner, 2006).

Posisi dimana spermatozoa akan diambil untuk dikoleksi berkaitan erat dengan kemampuan fertilisasi. Spermatozoa yang berada pada testis atau kaput epididimis pada hewan yang sudah mati adalah *immotile* dan *immature*, sedangkan spermatozoa yang mencapai kauda epididimis umumnya *motil* dan *mature* serta mempunyai kemampuan fertilisasi (Bourgeron, 2000).

Meskipun potensi reproduksi spermatozoa dari kauda epididimis sudah jelas, namun spermatozoa dari kauda epididimis memiliki beberapa karakteristik yang membuatnya tampak berbeda dengan spermatozoa dari ejakulat yaitu *cytoplasmic droplet* di sepanjang bagian tengah spermatozoa. *Cytoplasmic droplet* merupakan sisa dari sitoplasma pada saat sel spermatozoa matang menjadi spermatid dan bertemu dengan cairan seminal. Selain perbedaan fisik, terdapat pula perbedaan metabolisme dimana respirasi spermatozoa dari epididimis lebih lambat dibandingkan spermatozoa dari ejakulat dan lebih efisien dalam pemanfaatan energi yang dipakai (Bourgeron, 2000).

Gonad indeferen sewaktu embrio dini pada betina berdiferensiasi menjadi ovarium, sedangkan pada jantan menjadi testis. Pada semua spesies testis

berkembang menjadi di dekat ginjal, yaitu pada daerah krista genitalis primitif pada mamalia testis mengalami penurunan yang cukup baik, pada kebanyakan spesies berakhir pada skrotum. Pada burung, testis tidak mengalami penurunan, tetap tinggal pada posisi di sekitar daerah testis itu berasal. Fungsi testis ada 2 macam: yang menghasilkan hormon seks jantan disebut androgen, dan yang menghasilkan gamet jantan disebut sperma (Nalbandov, 1990).

Sistem duktus pada jantan sebagian besar berasal dari sistem duktus Wolff pada ginjal mesonefrik sebagian dari sistem Muller, yang pada betina hampir seluruhnya digunakan untuk pembentukan duktus-duktusnya. Pada jantan tetap bertahan sebagai rudimen pada prostat, yakni dalam bentuk utrikel prostatik (uterus jantan atau uterus maskulinus). Tubulus mesonefrik berkembang menjadi vas eferen, duktus mesonefrik menjadi epididimis, sedangkan vas deferens dan vesikula seminalis dibentuk terakhir dari evaginasi duktus (Nalbandov, 1990).

Duktuli yang berasal dari rete testis secara bergantian dibatasi oleh kelompok sel-sel epitelium berbentuk tinggi dan rendah yang memiliki silia yang tidak dapat bergerak. Secara berangsur-angsur duktuli tersebut bersatu, membentuk duktus tunggal yang berkelok-kelok serta membentuk bagian-bagian kepala, tubuh dan ekor epididimis, yang dibatasi oleh sel-sel epitelium berbentuk kompleks semu berukuran tinggi dan memiliki stereosilia yang dapat bergerak (Nalbandov, 1990).

Epididimis merupakan saluran reproduksi jantan yang berfungsi menghasilkan kelenjar reproduksi jantan, dan juga merupakan tempat penyimpanan spermatozoa sementara sebelum dikeluarkan. Spermatozoa yang

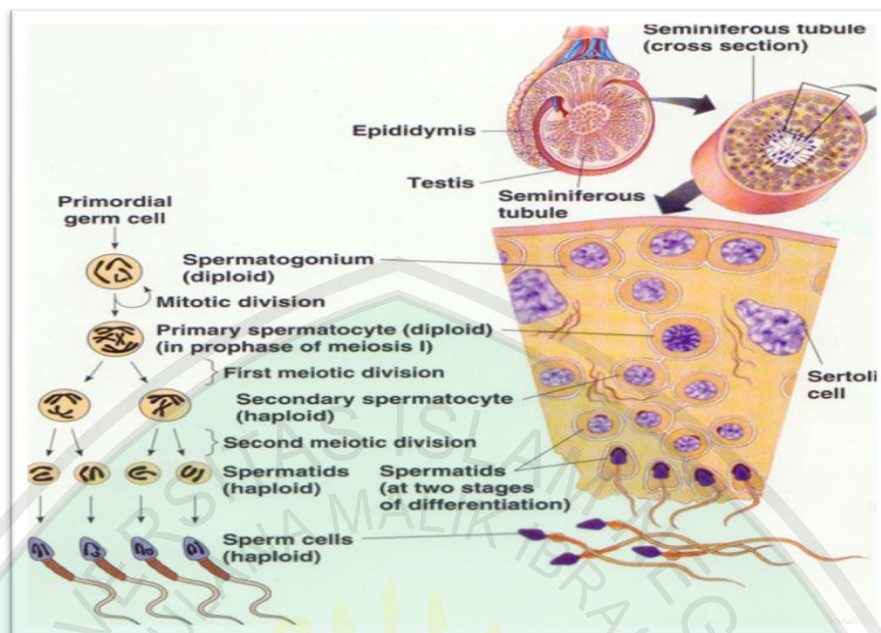
terdapat dalam epididimis merupakan sel tunggal dengan membran selnya mengandung kadar fosfolipid yang tinggi. Senyawa lipid yang terdapat pada membran spermatozoa mengandung asam lemak tidak jenuh yang sangat rentan mengalami oksidasi terutama oleh karena adanya induksi dari senyawa-senyawa radikal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

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 erektil (dapat berereksi), terdiri dari 2 batang corpora cavernosa sebelah atas, 1 batang corpus spongiosum di bawah. Corpus spongiosum menyelaputi urethra. Batang yang erektil 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, 1996).

### **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).

Tahapan spermatogenesis pada mencit dapat disajikan pada gambar 2. 7 sebagai berikut:



**Gambar 2. 4 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 spermatosit menjadi spermatid yang pada akhirnya menjadi spermatozoa (Guyton, 1987).

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 spermatosit primer. Spermatosit primer akan segera mengalami pembelahan meiosis. Pada meiosis I spermatosit 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).

Tahapan spermatogenesis yang terakhir yaitu tahap spermiogenesis. Spermiogenesis disebut juga tahap transformasi yaitu tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid yang bundar menjadi bentuk cebong yang memiliki kepala, leher dan ekor serta berkemampuan untuk bergerak (motil). Transformasi spermatid menjadi spermatozoa mengalami empat fase yaitu fase golgi, fase tutup, fase akrosom dan fase pematangan. Penjelasannya adalah sebagai berikut (Yatim, 1994) :

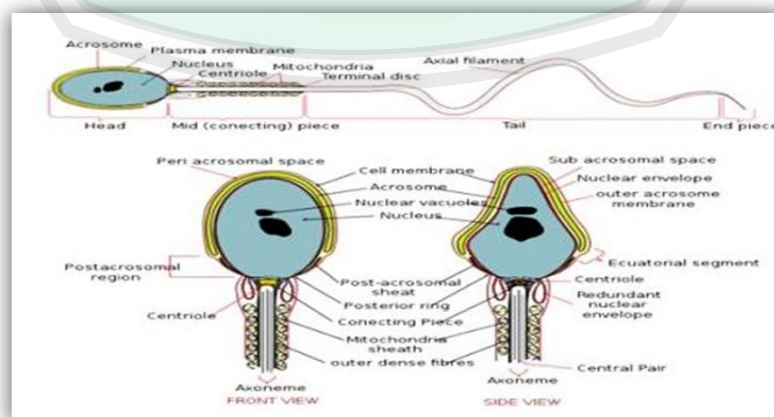
1. Fase golgi, terjadi saat butiran proakrosom terbentuk dalam alat golgi spermatid. Butiran atau granula ini nanti bersatu membentuk satu butiran akrosom butiran ini dilapisi membran dalam gembungan akrosom (acrosomal vesicle). Gembungan ini melekat ke salah satu sisi inti yang bakal jadi bagian depan 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

Transformasi spermatid dapat disajikan dalam gambar 2. 8 sebagai berikut :



**Gambar 2. 5 Tansformasi Spermatid(Heffner, 2006)**

Pada waktu lahir dan menetas, jantan memiliki tubulus yang tidak berlumen dan dibatasi oleh lapisan tunggal epitelium epitelium bernukleus kecil. Waktu jantan mencapai kedewasaan, dalam tubulus secara perlahan terbentuk lumen dan epitelium tembaga (muasal) tumbuh dari satu menjadi berlapis-lapis seperti terlihat pada hewan jantan dewasa. Dalam tubulus ini dapat ditemukan semua tipe sel lembaga (spermatogonia, spermatosit primer serta sekunder dan spermatozoa). Diantara individu dan spesies terdapat variasi yang sangat besar mengenai umur dimulainya spermatogenesis dan kecepatan perkembangannya. Spermatogenesis berkembang paling cepat pada spesies yang mencapai kedewasaan seksual relatif awal. Hewan yang berumur pendek (ayam) proses spermatogenesisnya berlanjut dan tidak berkurang sampai mati, dan sebagian besar tubulus tampaknya berfungsi secara normal sepanjang hidup. Pada mamalia umur panjang (manusia, sapi, babi) spermatogenesis berlanjut sepanjang hidup, tetapi melewati umur pertengahan tubulus secara normal yang lambat laun akan mengalami atrofi, sampai akhirnya hanya sedikit yang menunjukkan aktivitas spermatogenik (Nalbandov, 1990). Proses spermatogenesis ini menunjukkan bahwa Allah Subhanahu Wata'ala menciptakan segala sesuatu dengan rencana dan tujuan yang baik, agar manusia mengerti dan memahami kekuasaan Allah Subhanahu Wataa'la. Firman Allah Subhanahu Wata'ala dalam Al-Qur'an surat al Mu'minin 12-14 :

وَلَقَدْ خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ سُلَالَةٍ مِّنْ طِينٍ ﴿١٢﴾ ثُمَّ جَعَلْنَاهُ نُطْفَةً فِي قَرَارٍ مَّكِينٍ ﴿١٣﴾ ثُمَّ خَلَقْنَا النَّطْفَةَ عِلْقَةً فَخَلَقْنَا الْعِلْقَةَ مَضْغَةً فَخَلَقْنَا الْمَضْغَةَ عِظْمًا فَكَسَوْنَا الْعِظْمَ لَحْمًا ثُمَّ أُنشَأْنَاهُ خَلْقًا آخَرَ ﴿١٤﴾ فَتَبَارَكَ اللَّهُ أَحْسَنُ الْخَالِقِينَ ﴿١٥﴾

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 Tafsir Al-Marighi tentang tahapan-tahapan atau proses penciptaan manusia. 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.

### 2.3 Spermatozoa

Organ reproduksi jantan pada hakekatnya merupakan alat yang berfungsi untuk menyalurkan hasil kelenjar-kelenjar berupa semen ke 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. 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).

Penciptaan manusia oleh Allah Subhanahu Wataa'la disebutkan dalam al-Qur'an surat al-Qiyamah 37 :

أَلَمْ يَكُ نُطْفَةً مِّن مَّنِي يُمْنِي ﴿٣٧﴾

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

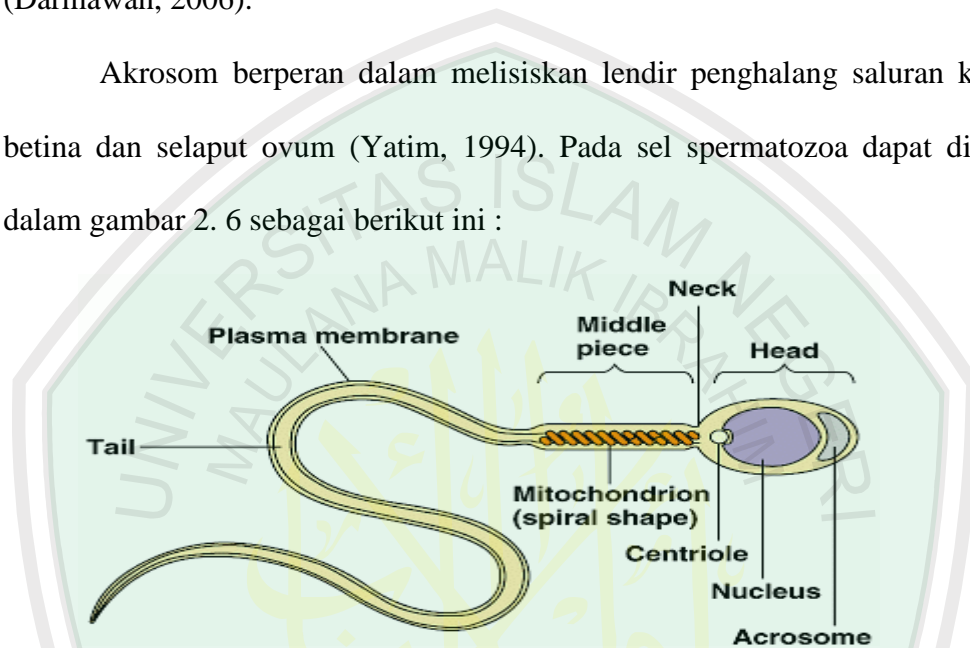
Ayat Allah Subhanahu Wataa'la di atas memberikan gambaran tentang penciptaan manusia yang berasal dari setetes mani yang bercampur. Menurut Al-Qarni (2008) kata نُطْفَةٌ yang artinya adalah setetes. Kata tersebut mengandung makna yang luas bahwa manusia diciptakan dari setes mani yang dikeluarkan dari 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.

### 2.3.1 Struktur Sel Sperma

Sel sperma yang normal terbentuk dari kepala, leher, bagian tengah, dan ekor. Kepala ditutup oleh tudung protoplasmik (Galea kapitis), tudung protoplasmik ini dulu dikira hanya ditemukan pada sel sperma dewasa, tetapi sekarang diketahui bagian ini merupakan bagian normal kepala sperma. Galea kapitis ini biasanya terlarut bila sperma diberi pelarut lemak yang biasanya digunakan untuk pengecatan. Bentuk kepala bervariasi tergantung spesies. Pada sapi, domba, babi dan kelinci berbentuk bulat telur pipih, sedangkan pada manusia berbentuk bulat. Bila bergerak sperma berenang dalam cairan

suspensinya seperti ikan dalam air. Hanya bila sudah matimaka sperma tampak datar dengan permukaan. Pada unggas kepala berbentuk seperti nitric oksida dan peroksida anion ( $O_2$ ) yang menguatkan kapastasi sperma dan reaksi akrosom (Darmawan, 2006).

Akrosom berperan dalam melisiskan lendir penghalang saluran kelamin betina dan selaput ovum (Yatim, 1994). Pada sel spermatozoa dapat disajikan dalam gambar 2. 6 sebagai berikut ini :



**Gambar 2. 6 Sel spermatozoa (Darmawan, 2010)**

Salah satu bagian yang penting dari struktur spermatozoa adalah akrosom. Akrosom adalah suatu bagian dari kepala spermatozoa yang berasal dari nukleus dan mengalami proses kondensasi dan elongasi. Akrosom ini mengandung enzim hidrolitik seperti hyaluronidase, neuraminidase, dan protease. Enzim – enzim ini mempunyai fungsi untuk menembus corona radiata dan zona pellucida di sekeliling sel telur (Guyton, 1997).

Struktur membran spermatozoa sebagai berikut (Darmawan, 2010):

1. Membran berupa struktur yang membatasi sel, terdiri atas lipid yang mengandung gugus polar dan gugus yang bersifat hidrofob (yang tidak dapat larut dalam air tetapi dapat larut dalam minyak)

2. Gugus polar mengarah ke bagian luar dari bilayer, sedangkan gugus hidrofob (rantai asam lemak) berada di bagian tengah dari lipid bilayer

### 2.3.2 Kelainan Morfologi Sel Sperma

Beberapa penyimpangan dari morfologi normal dianggap sebagai abnormalitas. Antara lain sel sperma dengan kepala raksasa atau kepala kerdil, kepala rangkap, sel sperma tanpa kepala atau tanpa ekor (seringkali disebabkan perlakuan yang kasar pada saat membuat persediaan untuk diwarnai atau pengawetan, tetapi sering juga terlihat pada pembuatan persediaan yang dikerjakan hati-hati), kepala dengan banyak ekor, ekor bengkok atau melingkar dan kepala-kepala protoplasmik di bagian tengah. Pada ejakulasi yang normal dapat tidak dijumpai atau jarang dijumpai abnormalitas-abnormalitas tersebut. Bila abnormalitas ditemukan dalam jumlah besar, fertilitas pejalan pemilik semen tersebut akan terganggu. Sebagai patokan, bila jumlah sel sperma abnormal mendekati 50 persen dari total sel sperma pada ejakulat, jantan tersebut steril meskipun jumlah sel sperma yang normal pada ejakulat seharusnya secara teoritis jauh lebih cukup untuk memungkinkan terjadinya fertilisasi (Nalbandov, 1990).

Abnormalitas spermatozoa dan leukosit seminalis yang diejakulasi merupakan sumber produksi ROS. Setiap ejakulasi selalu terkontaminasi dengan potensi sumber produksi ROS. Akibatnya sebagian sel spermatozoa mengalami kerusakan oksidatif dan kehilangan fungsinya. Spermatozoa menghasilkan ROS melalui dua jalan yaitu (1). Sistem oksidasi NADPH pada tingkat membran plasma spermatozoa dan (2). NADPH dependent oxydo-reductase pada tingkat mitokondria. Sistem mitokondria merupakan penghasil utama ROS pada pria

infertil. Rangsangan radang, mengaktifkan leukosit. Leukosit aktif meningkatkan produksi NADPH melalui *hexose monoiphosphate shunt*. Sistem *myelo* peroksidase leukosit polimorfo nuklear dan makrofag menjadi aktif dan menghasilkan *respiratiry burst* dan diproduksi oleh ROS yang banyak (Darmawan, 2006).

## **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).

Senyawa-senyawa maupun reaksi-reaksi kimia yang cenderung menghasilkan spesies oksigen reaktif (spesies oksigen yang potensial toksik) disebut pro-oksidan. Radikal bebas adalah atom/molekul yang pada kulit terluarnya mengandung satu atau lebih elektron yang tak berpasangan. Tidak semua spesies oksigen reaktif adalah radikal bebas (umpamanya  $H_2O_2$  dan *singlet* oksigen reaktif adalah radikal bebas, tetapi termasuk spesies pksogen reaktif. Karena adanya kecenderungan menagmbil sebuah elektron ( $e^-$ ) dan senyawa-senyawa lain maka spesies oksigen ini sangat reaktif. Beberapa spesies oksigen reaktif yang dijumpai dalam tubuh adalah (Lautan, 1997):

1. Radikal bebas Superoksida ( $O_2^-$ )
2. Radikal bebas Hidroksil ( $OH^-$ )
3. Radikal bebas AlkosiL ( $RO^-$ )
4. Radikal bebas Peroksil ( $ROO^-$ )
5. Peroksidasi lipid (LOOH)
6. Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ )
7. Singlet Oksigen ( $IO_2$ )
8. Ion Hipoklorit (OCI)

### **2.5.2 Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Integritas Membran Spermatozoa**

Radikal bebas tidak stabil dan mempunyai reaktivitas yang tinggi. Jika radikal bebas tidak dinaktivasi. Reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat.



Kerusakan protein oleh radikal bebas dapat menyebabkan kanker. Meskipun demikian radikal bebas tidak selalu merugikan. Misalnya radikal bebas berperan dalam pencegahan penyakit yang disebabkan karena mikrobia melalui sel-sel darah khusus yang disebut fagosit.

Beberapa sumber radikal bebas dapat dilihat pada tabel berikut (Tuminah, 2000):

Tabel 2.2 Sumber radikal bebas

Sumber Internal	Sumber Esternal
Mitokondria	Rokok sigaret
Fagosit	Polutan lingkungan
Xantin oksidase	Radiasi
Reaksi yang melibatkan reaksi besi dan logam transisi lainnya	Obat-obatan tertentu, pestisida dan anastesi dan larutan industri
Arachidonat pathway	Ozon
Peroksisome	
Olahraga	
Peradangan	
Iskemia/reperfusi	

Radikal bebas dapat ditemukan dalam tubuh manusia, sebagian besar tergolong kedalam kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species*). Beberapa oksigen reaktif yang terdapat di dalam tubuh adalah  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ , dan  $\bullet OH$  (Winarsi, 2007).

Stres oksidatif terjadi akibat kondisi yang tidak seimbang antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh. 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. 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).

Stres oksidasi pada spermatozoa merupakan penyebab utama disfungsi spermatozoa dengan menghambat proses oksidasi fosforilasi. Oksidasi fosforilasi yang terganggu 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 (Sanocka *et al.*, 2004). Hal ini menunjukkan bahwa membran spermatozoa adalah target utama ROS dan lipid merupakan sasaran yang potensial. Oksidasi lipid (*lipid peroksidase*) pada membran spermatozoa menghasilkan senyawa *Malondialdehyde* (MDA), yang bersifat toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan membran spermatozoa. Membran spermatozoa yang rusak akan menyebabkan penurunan kualitas sperma (Sanocka *et al.*, 2004).

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).

Tubuh manusia mempunyai beberapa mekanisme untuk bertahan terhadap radikal bebas dan ROS lainnya. Pertahanan yang bervariasi saling melengkapi satu dengan yang lain karena bekerja pada oksidan yang berada atau dalam bagian seluler yang berbeda. Garis pertahanan yang penting adalah sistem enzim,

termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. SOD merupakan golongan enzim antioksidan yang penting dalam pendekomposisi katalitik radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Katalase secara spesifik mengkatalisis dekomposisi hidrogen peroksida. Glutathion peroksidase merupakan golongan enzim antioksidan yang mengandung selenium yang penting dalam mengurangi hidroperoksida, sebagai contoh: hasil oksidasi lipid (Tuminah, 2000).

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

Perlakuan dan terhadap kontrol menunjukkan tidak adanya perbedaan secara nyata. Selain itu terlihat secara umum terjadi kecenderungan penurunan persentase hidup dan keutuhan membran pada kelompok yang normal terjadi akibat masa penyimpanan. Menurut Hayati (2006) diduga banyak spermatozoa yang mati akan menjadi racun bagi spermatozoa yang masih hidup selama proses penyimpanan.

### **2.5.3 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, Glutation. Senyawa antioksidan enzimatik juga dapat ditandai dengan adanya molekul-molekul yang dapat memblokir aktifitas enzim seperti *Allopurinol*, dan *Xanthine Oksidase Inhibitor*, dan molekul-molekul yang biasa menangkap ion metal yang merupakan katalis potensial dari reaksi radikal bebas (Winarsi, 2007).

Berdasarkan fungsinya antioksidan dapat dibagi menjadi: (1). Tipe pemutus rantai reaksi pembentuk radikal bebas, dengan menyambungkan atom H. (2). Tipe pereduksi, dengan mentransfer atom H atau oksigen, atau bersifat pemulung, (3). Tipe pengikat logam, mampu mengikat zat peroksidan, seperti Fe dan Cu, misalnya flavonoid: (4). Antioksidan sekunder mampu mendekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk stabil, pada manusia dikenal SOD katalase, dan glutathion peroksidase (Hariyatmi, 2004). Hal ini diperkuat oleh Kurnia *et al.*, (2011), bahwa antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Bahan alam yang mengandung antioksidan yang kuat adalah salah satunya adalah jintan hitam (*Nigella sativa*). Jintan hitam mengandung beberapa antioksidan yang telah dipaparkan sebelumnya. Antioksidan yang terkandung didalamnya mempunyai efek antioksidan yang kuat dan distribusinya luas ke jaringan, termasuk jaringan testis dan aman dalam penggunaannya (Kurnia *et al.*, 2011).

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 dari 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).

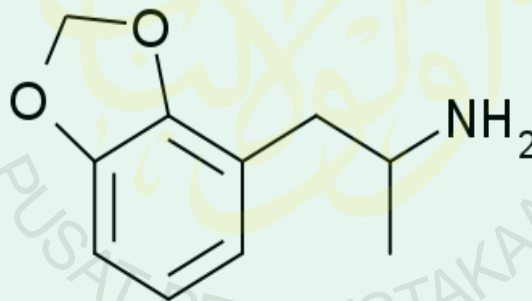
## **2.6 Deskripsi Malondialdehyde (MDA)**

*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.

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. Semakin tinggi kejadian peroksidasi lipid maka akan semakin tinggi juga kadar MDA di dalam sel (Fauzi, 2008).

*Malondialdehyde* (MDA) sebagai penanda peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dalam bahan pangan akan terdekomposisi menjadi aldehid, keton dan khususnya *malonaldehyde*. Senyawa-senyawa karbonil ini akan bereaksi dengan gugus amino protein melalui reaksi amino-karbonil dan pembentukan basa schiff. Reaksi *malonaldehyde* dengan rantai samping lisil akan mengakibatkan cross-linking dan polimerasi protein. Reaksi ini berdampak pada menurunnya nilai gizi protein dan dapat menimbulkan off-flavour (Apriyanto, 2002).



**Gambar 2. 7 struktur kimia MDA**

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<sup>-</sup>). 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 sititoksis. 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 memulai 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. Kadar MDA dapat diukur dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang akan membentuk senyawa  $MDA-TBA_2$ . Pengukuran tersebut dapat diketahui jika sampel diukur pada panjang gelombang 532-534 nm. Nilai absorbansi yang di dapat dari hasil pengukuran pada panjang gelombang tersebut kemudian dibandingkan dengan larutan standart (Fauzi, 2008).

## **2.7 Timbal (Pb)**

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).

### 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. Kilaunya akan segera hilang sejalan dengan pembentukan lapisan oksida pada permukaannya, mempunyai titik leleh  $327,5^{\circ}\text{C}$  dan titik didih  $1740^{\circ}\text{C}$  (MSDS, 2005).

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 (TMT). Jenis senyawa ini hampir tidak larut dalam air, namun dapat larut dalam pelarut organik, misalnya dalam lipid (WHO,1997).

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 paparan 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).

### 2.7.3 Keracunan Timbal

Ukuran keracunan suatu zat ditentukan oleh kadar dan lamanya paparan. Keracunan dibedakan menjadi keracunan akut dan keracunan kronis. Keracunan yang disebabkan oleh timbal dalam tubuh mempengaruhi berbagai jaringan dan organ tubuh. Organ-organ tubuh yang menjadi sasaran dari keracunan timbal



adalah sistem peredaran darah, sistem saraf, sistem urinaria, sistem reproduksi, sistem endokrin, dan jantung (Darmono, 2001).

Pada orang dewasa kadar Pb darah 10 µg/dL mempengaruhi perkembangan sel darah, kadar 40 µg/dL mempengaruhi beberapa fungsi dari kemampuan darah untuk membentuk hemoglobin, gangguan sistem saraf menyebabkan kelelahan, irritability, kehilangan ingatan, dan reaksi lambat. Pb juga menyebabkan penyakit ginjal yang kronis dan gagal ginjal, sedangkan pada sistem reproduksi mengakibatkan berkurangnya jumlah sperma atau meningkatnya jumlah sperma yang abnormal. Pada wanita hamil jumlah yang sangat tinggi akan mengakibatkan keguguran. Kadar Pb di darah yang tinggi juga dapat menaikkan tekanan darah (Shannon, 1998).

Timbal (Pb) juga dapat menginduksi terjadinya oksidasi lipid, terutama pada rantai asam lemak tak jenuh. Lipid yang mengalami oksidasi ini akan menjalani reaksi lanjutan secara berantai membentuk produk radikal bebas seperti radikal bebas peroksil, radikal bebas PUFA, dan radikal bebas peroksida. Peningkatan jumlah radikal ini akan mengakibatkan terjadinya dekomposisi asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida yang sangat tidak stabil. Peroksidasi lipid juga dapat terdekomposisi oleh senyawa radikal bebas menjadi senyawa *malondialdehyde* (MDA) dan menyebabkan terganggunya integritas membran spermatozoa (Acharya *et al.* 2003).

## **2.8 Mekanisme Kerja Radikal Bebas, Antioksidan, Terhadap MDA dan Integritas Membran Spermatozoa**

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidakberpasangan. 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).

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).

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 *malodialdehyde* (MDA).

Pengukuran kadar MDA merupakan cara pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung, sebab yang diukur adalah produk dari reaksi radikal bebas bukan pengukuran radikal bebas secara langsung, karena MDA merupakan senyawa yang merupakan hasil dari oksidasi lipid yang menjadi peroksida (Edyson, 2002).

Peningkatan kadar MDA pada epididimis, hal ini dikarenakan Pb merupakan radikal bebas yang merupakan oksidan yang kuat dan dapat menyebabkan stress oksidasi pada spermatozoa. Stress oksidasi pada Spermatozoa menyebabkan gangguan pada proses oksidasi fosforilasi sehingga terjadi peningkatan produksi ROS spermatozoa. Peningkatan produksi ROS spermatozoa ini disebabkan karena antioksidan yang tersedia pada sperma tidak mampu lagi mengubah oksigen reaktif ( $O^*$ ) menjadi senyawa yang netral ( $O_2$ ). Sperma mengandung antioksidan untuk melawan efek dari peroksidasi lipid dan melindungi kerusakan sperma. Antioksidan tersebut memberikan pertahanan yang sangat efektif terhadap peroksidasi lipid, tetapi stress oksidasi yang berat dapat berakibat pada habisnya antioksidan yang yang tersedia (Jeffery, 1991).

Adanya peroksidasi lipid pada membran spermatozoa menghasilkan senyawa *malondialdehyde* (MDA). Dengan demikian kadar MDA yang tinggi menunjukkan terjadinya kerusakan membran spermatozoa. Keadaan ini diindikasikan dengan menurunnya presentase integritas normal membran spermatozoa. Integritas membran spermatozoa dapat diamati dengan melihat respon spermatozoa pada kondisi hipoosmotik (Sanocka *et al.*, 2004).

## **2.9. Ekstraksi Jintan Hitam**

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair atau solven sebagai separating agent, dimana ada 2 pelarut tersebut tidak saling campur (Nur *et. al.*, 1989). Prinsip dasar dari ekstraksi yaitu pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan. Tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam

sampel (Dinda, 2008). Dalam ilmu kimia terdapat berbagai macam ekstraksi. Adapun dalam penelitian ini hanya digunakan dua jenis ekstraksi yaitu ekstraksi maserasi dan ekstraksi cair-cair (partisi).

Adapun faktor-faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut yang sesuai adalah sebagai berikut (Shofyan, 2010):

1. Harga konstanta distribusi tinggi untuk gugus yang bersangkutan dan konstanta distribusi rendah untuk gugus prongotor lainnya.
2. Kelarutan pelarut organik rendah dalam air.
3. Viskositas kecil dan tidak membentuk emulsi dengan air.
4. Tidak mudah terbakar dan tidak bersifat racun.
5. Mudah melepas kembali gugus yang terlarut didalamnya untuk keperluan analisis lebih lanjut.

Kesempurnaan ekstraksi tergantung pada banyaknya ekstraksi yang dilakukan. Hasil yang baik diperoleh apabila jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang-ulang dengan penambahan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2003).