



PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E TERHADAP KUALITAS SPERMA TIKUS PUTIH YANG DIPAPAR TIMBAL

Rezha Alfy Yulianto , Wiwi Isnaeni, R.Susanti

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima Agustus 2013

Disetujui September 2013

Dipublikasikan
November 2013

Keywords:

Vitamin E

Sperm quality

Lead.

Abstrak

Peran antioksidan untuk menangkal radikal bebas secara keseluruhan masih belum jelas. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek pemberian vitamin E terhadap kualitas sperma tikus putih dipapar timbal. Sampel yang digunakan 20 tikus jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok : kelompok I sebagai kontrol, kelompok II dengan perlakuan timbal 0,35 g/ekor, kelompok III diberi vitamin E 1,44 mg/ekor dan timbal 0,35 g/ekor, kelompok IV diberi vitamin E 2,16 mg/ekor dan timbal 0,35 g/ekor selama 14 hari. Pada hari ke- 15 dilakukan pembedahan untuk pengambilan data pada jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa. Data jumlah, motilitas, dan viabilitas sperma dianalisis dengan ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji BNT, sedangkan untuk motilitas sperma dianalisis secara deskriptif. Hasil ANAVA satu arah menunjukkan pemberian antioksidan vitamin E berpengaruh signifikan pada jumlah, abnormalitas, dan viabilitas ($p < 0,05$) sperma tikus yang dipapar timbal. Hasil uji BNT jumlah sperma menunjukkan adanya perbedaan yang nyata kecuali pada kelompok II dan III, pada abnormalitas sperma menunjukkan adanya perbedaan yang nyata kecuali pada kelompok III dan IV. Pada viabilitas sperma menunjukkan adanya perbedaan yang nyata kecuali pada kelompok III dan IV. Dari hasil penelitian dapat di simpulkan bahwa vitamin E berpengaruh mempertahankan kualitas sperma tikus yang terpapar timbal.

Abstract

*The role of antioxidants to counteract free radicals overall is still unclear. The aim of this study is to examine the effect of vitamin E on sperm quality white rats (*Rattus norvegicus*) exposed to lead. The sample is using 20 male rats were divided into 4 groups: group I as a control, group II treatment with lead 0.35 g/rats, group III were given vitamin E 1.44 mg/rats and a lead of 0.35 g/rats, IV were given vitamin E 2, 16 mg/rats and a lead of 0.35 g/rats for 14 days. On the 15th day, doing surgery for taking a data on the amount, motility, viability, and morphology of spermatozoa. The data on the number, motility, and sperm viability were analyzed by one-way ANOVA, followed by LSD test, while for sperm motility were analyzed descriptively. The result of one-way ANOVA showed that giving antioxidant vitamin E has significant effect on the number, abnormality, and viability, ($p < 0.05$) mice who exposed to lead. The LSD test showed significant differences of the amount sperms except in groups II and III, on sperm abnormality showed a significant difference except in groups III and IV. On sperm viability showed significant differences except in groups III and IV. From the research it can be concluded that vitamin E affects sperm quality maintains rat were exposed to lead.*

© 2013 Universitas Negeri Semarang

 Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lt.1, Jl. Raya Sekaran

Gunungpati, Semarang, Indonesia 50229

E-mail: rhezaalfy@yahoo.com

ISSN 2252-6277

PENDAHULUAN

Perkembangan bidang industri pada zaman modern ini sangat pesat. Semakin banyak pabrik-pabrik dibangun tidak diikuti dengan sistem Instalasi Pengolahan Air dan Limbah (IPAL) yang memadai, akibatnya limbah yang dibuang ke lingkungan semakin banyak. Padahal kemampuan alam untuk menerima beban limbah terbatas sehingga dapat dipastikan bahwa *self purification* saat ini telah terlampaui (Hidayatulloh *et al.* 2002).

Salah satu unsur yang terkandung dalam limbah pencemar lingkungan adalah logam berat. Di lingkungan yang kadar logam beratnya cukup tinggi akan mengakibatkan kontaminasi dalam makanan, air dan udara yang dapat menyebabkan keracunan, salah satu logam berat tersebut adalah timbal (Palar 2004). Pemaparan timbal bisa melalui makanan, minuman, inhalasi (terhirup partikel-partikel timbal) dan melalui permukaan kulit. Pemaparan melalui makanan dan minuman dapat berasal dari air minum, timbal dapat berasal dari kontaminasi pipa, solder dan kran air. Sedangkan dalam makanan, timbal dapat berasal dari kontaminasi kaleng minuman dan makanan yang bertimbali (Darmono 2001).

Komisi Penghapusan Bensin Bertimbal (KPBB) melaporkan bahwa konsentrasi 1 ug/m³ timbal di udara berdampak pada peningkatan kadar timbal dalam darah sebesar 2,5-5,3 ug/dl. Kadar timbal dalam darah sebesar 40 ug/dl berdampak pada menurunnya jumlah sperma dan gerak sperma, yang dapat berakibat timbulnya gejala kemandulan (KPBB 2006). Selain itu timbal dapat menginduksi terjadinya stres oksidatif pada hewan percobaan, yang ditandai dengan naiknya *Lipid Peroxidation Potensial* (LPP) didalam jaringan. Pemberian timbal asetat dengan dosis 200 mg/kg/BB melalui injeksi selama 4 minggu dapat meningkatkan LPP di jaringan testis (Acharya *et al.* 2003).

Kemandulan dapat dicegah dengan cara banyak mengkonsumsi vitamin E. Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi

mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan (Hariyatmi 2004). Sebagai contoh antioksidan yaitu vitamin C dan E. vitamin E merupakan antioksidan yang berperan dalam mencegah oksidasi dan peroksidasi asam lemak tidak jenuh dan fosfolifid membran. Vitamin C dan E berperan sebagai pereduksi radikal bebas dan dapat langsung bereaksi dengan peroksidasi lipid.

Vitamin E juga berperan melindungi kerusakan membran biologis akibat radikal bebas. Vitamin E dapat menetralisir gugus hidroksil, superokida, dan radikal hidrogen peroksid, serta mencegah aglutinasi sperma (Aggarwal *et al.* 2005). Menurut Linder (2006), vitamin E merupakan agen pendorong/pemacu fertilitas, karena dapat menormalkan epitel tubuli seminiferi.

Berdasarkan uraian di atas, diduga timbal dapat menyebabkan kerusakan testis karena berdampak negatif bagi organ reproduksi seperti berat testis, diameter serta tebal epitel tubulus seminiferus testis, serta mempengaruhi sel spermatogenik dan sel sertoli sehingga sperma menjadi abnormal dan vitamin E berperan sebagai antioksidan dan dapat melindungi kerusakan membran biologis akibat radikal bebas, serta berpotensi sebagai bahan pelindung sperma dari pengaruh timbal. Dari uraian latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian vitamin E terhadap kualitas sperma tikus putih yang terpapar timbal.

Tujuan dari penelitian ini adalah Untuk menguji efek pemberian vitamin E terhadap kualitas sperma tikus putih yang dipapar timbal. Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian vitamin E Menghentikan pembentukan lipid peroksidasi sperma tikus putih dari kerusakan karena dipapar timbal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Sampel penelitian yaitu 20 ekor tikus jantan berumur 2-3 bulan yang dibagi

menjadi 4 kelompok, masing-masing 5 ekor yaitu kelompok I sebagai placebo hanya di beri aquades, kelompok II diberi timbal 0,35 g/ekor, kelompok III diberi timbal 0,35 g/ekor dan vitamin E 1,44 mg/ekor, kelompok IV diberi timbal 0,35 g/ekor dan vitamin E 2,16 mg/ekor. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dengan pemberian timbal asetat berselang satu jam setelah pemberian vitamin E. Pada hari ke 15 tikus dibedah, kemudian diambil vas deferrensnya. Setelah itu digerus agar sperma di dalamnya keluar.

Data dalam penelitian ini adalah jumlah, abnormalitas, dan viabilitas sperma. Jumlah sperma diperoleh dari perhitungan menggunakan rumus jumlah spermatozoa terhitung (s) \times pengenceran \times 1 ml NaCl = $s \times 200 \times 1000 = s \times 200.000 =$ juta/mm³; presentasi abnormalitas diperoleh dari melihat 100 sel sperma yang dijumpai dan dihitung jumlah sperma yang abnormal. Sedangkan viabilitas sperma dihitung dengan cara membuat preparat apus dari larutan stok kemudian diwarnai dengan giemsa. Selanjutnya dilihat dibawah mikroskop, Bila sperma berwarna transparan berarti spermatozoa masih hidup dan bila berwarna ungu berarti sperma mati. Nilai viabilitas sperma diperoleh dari presentase sperma yang masih hidup. Data jumlah, abnormalitas, dan viabilitas sperma selanjutnya dianalisis menggunakan ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan Uji BNT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah perlakuan selama 14 hari pada hari ke 15 dilakukan pengambilan sperma dan perhitungan jumlah, abnormalitas, dan viabilitas sperma, data hasil penelitian di sajikan pada tabel berikut:

Rata-rata jumlah sperma tikus kelompok I sebesar $15 \times 10^6/\text{ml}$, kelompok II sebanyak $11,8 \times 10^6/\text{ml}$, kelompok III sebanyak $13,2 \times 10^6/\text{ml}$, dan kelompok IV sebanyak $14,4 \times 10^6/\text{ml}$. Untuk melihat pengaruh pemberian timbal dan vitamin E terhadap jumlah sperma dilakukan uji Anava satu jal-

pada taraf uji 5% dan dilanjutkan dengan uji BNT.

Hasil perhitungan ANAVA satu arah menunjukkan bahwa F_{hit} (758,81) lebih besar daripada F_{tab} (3,49). Hal ini menunjukkan bahwa minimal ada satu kelompok perlakuan yang berbeda dengan kelompok lainnya. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok yang berbeda perlakuan dilakukan uji BNT pada taraf uji 5% yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah sperma tikus yang diberi vitamin E dan timbal per oral

Kelompok	ulangan (juta/ml)					Rerata
	1	2	3	4	5	
I	16	16	15	13	15	$15,0 \times 10^6/\text{ml}$ $\pm 1,22^a$
II	10	13	13	11	12	$11,8 \times 10^6/\text{ml}$ $\pm 1,303^b$
III	12	14	14	13	13	$13,2 \times 10^6/\text{ml}$ $\pm 0,83^{cb}$
IV	16	15	13	14	14	$14,4 \times 10^6/\text{ml}$ $\pm 1,14^{ac}$
Keterangan :	^{a,b,c} : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf kesalahan 5 %					

Hasil uji lanjut BNT jumlah sperma menunjukkan bahwa jumlah sperma kelompok I berbeda nyata dengan kelompok II, dan III. Jumlah sperma kelompok I dan IV tidak berbeda nyata. Jumlah sperma kelompok II tidak berbeda nyata dengan kelompok III, tetapi kelompok II berbeda nyata dengan kelompok IV. Jumlah sperma kelompok III dengan kelompok IV tidak berbeda nyata.

Hasil perhitungan ANAVA satu arah pada viabilitas sperma menunjukkan bahwa F_{hit} (714,967) lebih besar daripada F_{tab} (3,49). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin E berpengaruh terhadap abnormalitas sperma yang dipapar timbal. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji BNT pada taraf uji 5% yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ANAVA satu arah dan uji BNT abnormalitas sperma yang diberi vitamin E dan timbal per oral

Kelompok	ulangan %					Rerata
	1	2	3	4	5	
I	8	7,33	9	7	5,67	7,4 ± 1,23 a
II	37,33	31,33	34,67	34,33	30,33	33,598 ± 2,803 b
III	15	18,33	17	14,33	12	15,332 ± 2,44 c
IV	8,33	12,67	9,33	13	16,67	12 ± 3,31 cd

Keterangan : ^{a,b,c}: Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf kesalahan 5 %

Tabel 3. Hasil ANAVA satu arah dan uji BNT viabilitas sperma yang diberi vitamin E dan timbal per oral

Kelompok	ulangan (%)					Rerata
	1	2	3	4	5	
I	98	91	96	93	95	94,6 %±2,71 a
II	77	86	83	79	87	82,4 %±4,33 b
III	87	94	82	83	91	87,4 %±5,13 cb
IV	89	96	93	90	92	92 %±2,74 ac

Keterangan : ^{a,b,c}: Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf kesalahan 5 %

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa abnormalitas sperma kelompok I berbeda nyata dengan kelompok II, III, dan IV. Kelompok II berbeda nyata dengan kelompok III dan IV. Kelompok III tidak berbeda nyata dengan kelompok IV. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin E berpengaruh dalam menangkal radikal bebas dari timbal, tetapi belum mendekati kelompok I (kontrol), sehingga normalitas sperma dapat dipertahankan.

Viabilitas sperma didapat dari pengamatan warna pada daerah kepala, bila berwarna transparan berarti sperma masih hidup dan yang mati pada daerah kepala berwarna, sehingga didapatkan data dalam bentuk persentase.

Pemberian vitamin E dosis 2,16 mg/ekor/BB/hari dapat meningkatkan viabilitas sperma hampir mendekati normal, sedangkan pemberian timbal 0,35 g /hari /ekor /BB dapat menurunkan viabilitas sperma tikus. Untuk mengetahui apakah pemberian vitamin E dapat berpengaruh untuk meningkatkan viabilitas sperma atau tidak, maka dilakukan uji ANAVA satu arah pada taraf 5%.

Hasil perhitungan ANAVA satu arah menunjukkan bahwa F_{hit} (714,967) lebih besar daripada F_{tab} (3,49). Hal ini menunjukkan

minimal ada satu kelompok perlakuan yang berbeda dengan kelompok lainnya. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji BNT pada taraf uji 5 % yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa viabilitas sperma kelompok I berbeda nyata dengan kelompok II dan III, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok IV. Viabilitas sperma kelompok II tidak berbeda nyata dengan kelompok III, tetapi kelompok II berbeda nyata dengan kelompok IV. Viabilitas sperma kelompok III tidak berbeda nyata dengan kelompok IV.

Pemberian timbal 0,35 g/hari/ekor/BB (kelompok II) selama 14 hari menunjukkan rerata kualitas sperma tikus (jumlah, abnormalitas, dan viabilitas sperma) lebih rendah dibandingkan kelompok I (kontrol), kelompok III (diberi timbal 0,35 g + vitamin E 1,44 g/hari/ekor/BB), dan kelompok IV (diberi timbal 0,35 g + vitamin E 2,16 g/hari/ekor/BB). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian timbal dapat menyebabkan menurunnya kualitas sperma tikus.

Sperma merupakan sel yang dihasilkan oleh fungsi reproduksi pria. Sel tersebut

mempunyai bentuk khas yaitu mempunyai kepala, leher dan ekor. Spermatozoa merupakan sel hasil maturasi dari sel epitel germinal yang disebut spermatogonia. Spermatogonia terletak dalam dua sampai tiga lapisan sepanjang batas luar epitel tubulus. Proses perkembangan spermatogonia menjadi sperma disebut spermatogenesis (Guyton 2005). Jika proses spermatogenesis terganggu, maka hasil dari spermatogenesis juga akan terganggu. Salah satu penyebab kerusakan sel ataupun jaringan adalah akibat pembentukan radikal bebas.

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS juga mampu secara langsung merusak DNA sperma dengan menyerang basa purin dan pirimidin. ROS juga dapat menginisiasi terjadinya apoptosis dalam sperma, menyebabkan aktifnya enzim-enzim *caspase* untuk mendegradasi DNA sperma (Hayati *et al.* 2006). Beberapa sumber radikal bebas antara lain sumber eksternal yaitu: rokok, polutan lingkungan, radiasi, obat-obatan, sedangkan yang berasal dari sumber internal yaitu: mitokondria, fagosit, xantin oksidase, arachidonat pathway, olah raga, peradangan, iskemia/reperfusi reaksi yang melibatkan besi dan logam transisi lainnya, salah satunya adalah timbal (Percival 1998).

Timbal merupakan suatu logam berat berwarna kelabu kebiruan dengan titik leleh 327°C dan titik didih 1740°C (Anies 2005). Efek toksik timbal pada fungsi reproduksi laki-laki yaitu mempengaruhi proses spermatogenesis sehingga terjadi penurunan kualitas semen dalam jumlah, morfologi, motilitas dan bentuk abnormal spermatozoa (Adnan, 2001). Beberapa penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa keracunan Pb dapat mengakibatkan penurunan berat testis dan kerusakan tubulus seminiferus testis tikus putih (Hariono 2006).

Timbal juga dapat menginduksi terjadinya oksidasi lipid, terutama pada rantai asam lemak tidak jenuh. Lipid yang mengalami oksidasi ini akan menjalani reaksi lanjutan secara berantai membentuk produk radikal seperti radikal bebas peroksil, radikal bebas PUFA, dan radikal bebas superoksid. Peningkatan jumlah radikal ini akan mengakibatkan terjadinya dekomposisi

asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksid yang sangat tidak stabil. Peroksidasi lipid juga dapat terdekomposisi oleh senyawa radikal bebas menjadi senyawa malondialdehyde (MDA) (Acharya *et al.* 2003). Peroksidasi lipid akan menyebabkan kerusakan struktur dan terganggunya metabolisme spermatozoa yang berakibat spermatozoa mati. Plumbum asetat yang diberikan secara oral ternyata juga dapat meningkatkan kadar MDA testis, serta menyebabkan perubahan pada gambaran histologi jaringan testis dimana terlihat eksudasi interstisial, degenerasi dan nekrosis sel spermatogenik, sehingga jumlah sperma, motilitas, dan viabilitas terganggu (Zarghami *et al.* 2005).

Pada penghitungan jumlah spermatozoa menunjukkan bahwa hasil uji lanjut BNT jumlah sperma antara kelompok II berbeda nyata dengan kelompok I. Ini menunjukkan bahwa timbal berpengaruh terhadap penurunan jumlah sperma. Penurunan kualitas sperma akibat paparan timbal dikarenakan timbal dapat menembus/melewati *blood testis barrier* maupun secara tidak langsung mempengaruhi kelenjar seks aksesoris (Naha & Chowdury 2005).

Pada perhitungan abnormalitas sperma didapatkan abnormalitas sperma kelompok II berbeda nyata dengan kelompok I, III, dan IV. Terjadi penurunan sperma normal pada kelompok II, karena terpapar oleh timbal. Ini didukung oleh penelitian Acharya *et al.* (2002) dengan menggunakan 30 ekor mencit galur Swiss, 6 mencit sebagai control disuntik dengan akuabides intraperitoneal, 24 ekor mencit diberi dosis tunggal Pb-asetat (200 mg/kg bb) secara intraperitoneal. Setiap minggu 6 ekor tikus yang diberi perlakuan Pb-asetat di matikan dan diambil testisnya untuk diteliti, dari minggu pertama sampai minggu keempat, terbukti terjadi penurunan berat testis dengan peningkatan kejadian abnormalitas spermatozoa dan penurunan jumlah spermatozoa setiap minggu secara konstan.

Pada perhitungan viabilitas sperma didapatkan viabilitas sperma kelompok II tidak berbeda nyata dengan kelompok III, tetapi kelompok II berbeda nyata dengan kelompok I

dan IV. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian timbal dapat menurunkan viabilitas sperma tikus. Dalam testis terdapat sel Leydig dimana P450scc memulai tahap enzimatis awal pada steroidogenesis. Setelah itu *pregnenolone* menuju retikulum endoplasma halus yang kemudian dikonversi menjadi progesteron oleh 3 β -HSD. *Pregnenolone* dikatalisis oleh P450 17 α untuk membentuk 17-hydroxyprogesterone dan *androstenedione* yang selanjutnya diubah menjadi testosterone oleh 17 β -HSD (Iswara 2009). Bila tahapan di atas terganggu dengan adanya radikal bebas dari timbal maka tahapan selanjutnya dalam spermatogenesis dan spermogenesis sampai menjadi sperma akan terganggu pula, bila terganggu maka viabilitas sperma yang dihasilkan juga tidak akan sempurna.

Adapun mekanisme akibat paparan timbal yang memberikan efek berupa penurunan konsentrasi sperma diantaranya adalah sebagai berikut: a) timbal diduga dapat menghambat Na⁺K⁻-ATP pump, yang akan berdampak terhadap membran sel dan mitokondria dan selanjutnya akan meningkatkan fragilitas sel (bisa lisis). Timbal akan berinteraksi dengan HP2 (*Human Protamine 2*). Selama proses spermatogenesis secara normal, histon akan digantikan oleh protamin yang akan memadatkan dan melindungi DNA sperma. Pada manusia, zinc berperan pada stabilitas kromatin sperma dan berikatan dengan HP2. Timbal mempunyai kemampuan berikatan dengan HP2 dengan cara bersaing dengan zinc, karena HP2 mempunyai afinitas yang hampir sama, akan tetapi HP2 juga mempunyai tempat pengikatan tambahan untuk timbal yang tidak berhubungan dengan zinc. Interaksi antara timbal dan HP2 akan menurunkan ikatan HP2-DNA melalui beberapa cara, yaitu perubahan langsung pada molekul protein, interaksi langsung dengan DNA, atau memindahkan HP2 dari tempat pengikatannya dengan DNA. Hal tersebut mengakibatkan gangguan pada kondensasi kromatin sperma dan meningkatkan kerusakan DNA, dengan begitu kesuburan akan menurun (Panggabean *et al.* 2008).

Reaksi peroksidasi lipid dapat dihambat dengan penambahan antioksidan, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Lyn 2006). Salah satu antioksidan yang telah digunakan adalah vitamin E atau α -tokoferol. Vitamin E mempunyai kemampuan memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Hariyatmi 2006).

Vitamin E berperan sebagai antioksidan dan dapat melindungi kerusakan membran biologis akibat radikal bebas. Vitamin E melindungi asam lemak tidak jenuh pada membran fosfolipid (Gunawan 2007). Fungsi utama vitamin E di dalam tubuh adalah sebagai antioksidan alami yang membuang radikal bebas dan senyawa oksigen. Secara partikular, vitamin E juga penting dalam mencegah peroksidasi membran asam lemak tak jenuh (Lyn 2006). Menurut Linder (2006), vitamin E merupakan agen pendorong atau pemacu fertilitas, karena dapat menormalkan epitel tubuli seminiferi.

Berdasarkan hasil uji lanjut BNT menunjukkan bahwa jumlah sperma kelompok I berbeda nyata dengan kelompok III. Hal ini dikarenakan pada pemberian timbal dan vitamin E dosis 1,44 mg selama 14 hari belum mampu mempertahankan jumlah sperma secara signifikan. Jumlah sperma kelompok I tidak berbeda nyata dengan kelompok IV, hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin E dosis 2,16 mg mampu mempertahankan jumlah sperma yang dipapar oleh timbal. Pemberian vitamin E pada kelompok IV lebih efektif dalam mempertahankan jumlah sperma dibandingkan kelompok III.

Vitamin E memiliki kemampuan untuk menghentikan lipid peroksidasi dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksid yang bersifat radikal sehingga menjadi vitamin E yang kurang reaktif dan tidak merusak (Hariyatmi 2004). Hal tersebut sesuai dengan pemberian vitamin E pada kelompok III dan IV, dimana pemberian vitamin E dengan dosis bertingkat dapat mempertahankan jumlah sperma tikus,

meskipun dosis yang diberikan pada kelompok IV menunjukkan hasil yang lebih tinggi.

Berdasarkan uji BNT abnormalitas sperma menunjukkan kelompok IV tidak berbeda nyata dengan kelompok I dan III. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan vitamin E dapat menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh timbal. Linder (2006) menambahkan bahwa pemberian vitamin E dapat melindungi sperma dari radikal bebas, sehingga abnormalitas pada sperma dapat dicegah.

Saat terdapat radikal bebas, lipid peroksida meningkat karena adanya reaksi antara lipid dengan radikal bebas. Pada tahap awal reaksi terjadi pelepasan hidrogen dari asam lemak tidak jenuh secara homolitik sehingga terbentuk radikal alkil yang terjadi karena adanya inisiator (panas, oksigen aktif, logam atau cahaya). Pada keadaan normal radikal alkil cepat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi dimana radikal peroksi ini bereaksi lebih lanjut dengan asam lemak tidak jenuh membentuk hidroproksida dengan radikal alkil, kemudian radikal alkil yang terbentuk ini bereaksi dengan oksigen. Dengan demikian reaksi otoksidasi adalah reaksi berantai radikal bebas. Oleh karena membran sel mitokondria kaya akan lipid yang peka terhadap serangan radikal bebas (Lyn 2006).

Pada perhitungan viabilitas sperma menunjukkan bahwa hasil uji lanjut BNT antara kelompok I berbeda nyata dengan kelompok III. Hal ini dikarenakan pemberian timbal dan vitamin E dosis 1,44 mg belum mampu mempertahankan viabilitas sperma tikus yang dipapar timbal. Hal tersebut dikarenakan pemberian vitamin E hanya berlangsung selama 14 hari saja. Penghitungan viabilitas sperma kelompok I tidak berbeda nyata dengan kelompok IV, karena pemberian vitamin E dosis 2,16 g/hari/ekor/BB hasilnya lebih baik dalam menangkal radikal bebas dari timbal daripada pemberian vitamin E dosis 1,44 g/hari/ekor/BB. Sehingga viabilitas sperma tikus dapat dipertahankan.

Antioksidan vitamin E mampu menangkal radikal bebas dengan baik, sehingga memperlancar tahapan-tahapan spermatogenesis

yang dimulai dari proses konversi testosteron yang bermula dari transfer kolesterol ke dalam membran mitokondria oleh PBR dan StAR sehingga berhasil dikonversi menjadi *pregnenolone* yang dikatalisis oleh P450scc pada membran dalam mitokondria. Proses selanjutnya dalam testis terdapat sel Leydig dimana P450scc memulai tahap enzimatis awal pada steroidogenesis. Setelah itu *pregnenolone* menuju retikulum endoplasma halus yang kemudian dikonversi menjadi progesteron oleh 3 β -HSD. *Pregnenolone* dikatalisis oleh P450 17 α untuk membentuk 17-hydroxyprogesterone dan *androstenedione* yang selanjutnya diubah menjadi testosteron oleh 17 β -HSD (Iswara 2009). Bila tahapan di atas terganggu dengan adanya radikal bebas dari timbal maka tahapan selanjutnya dalam spermatogenesis dan spermiogenesis sampai menjadi sperma akan terganggu pula, bila terganggu maka viabilitas sperma yang dihasilkan juga tidak akan sempurna. Sehingga dengan penambahan vitamin E maka viabilitas sperma yang dipapar timbal tetap terjaga.

Pemberian vitamin E dosis 100 mg/kg/hari tidak hanya berefek pada peningkatan berat testis, jumlah sperma, motilitas sperma, dan produksi estrogen, tetapi juga meningkatkan kelangsungan hidup dan perkembangan sperma tikus (Momeni *et al.* 2009). Hal yang sama dikemukakan oleh Lyn (2006) bahwa pemberian vitamin E akan mengakibatkan radikal bebas yang dibentuk akibat paparan timbal bisa distabilkan dan tidak reaktif sehingga jumlah, normalitas, dan viabilitas sperma dapat dipertahankan.

Paparan timbal per oral pada kelompok II selama 14 hari dapat menyebabkan kurangnya kualitas sperma, dalam hal ini jumlah, abnormalitas, dan viabilitas sperma. Untuk mempertahankan jumlah sperma, abnormalitas, dan viabilitas sperma, pemberian vitamin E 1,44 mg pada kelompok III mampu menangkal radikal bebas tetapi belum menunjukkan hasil yang signifikan. Pemberian vitamin E 2,16 mg/hari pada kelompok IV lebih efektif untuk menangkal radikal bebas daripada kelompok III untuk meningkatkan kualitas

sperma. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin E dengan dosis bertingkat menunjukkan hasil lebih baik untuk mencegah radikal bebas dari timbal karena vitamin E memiliki kemampuan menghentikan lipid peroksida dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksil yang bersifat radikal sehingga menjadi lipid peroksida yang kurang reaktif dan tidak merusak.

SIMPULAN

Pemberian vitamin E berpengaruh mempertahankan kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar timbal.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya UR , Acharya S, & Mishra M. 2003. Lead acetate induce cytotoxicity in male germinal cells of swiss mice. *Industrial Health* 41:291-294
- Aggarwal A, Prabakaran S, & Said TM. 2005. Oxidative stress and antioxidants in male infertility : a difficult balance. *Iranian J. Rep. Med* (3):1-8
- Anies. 2005. *Penyakit akibat kerja*. Jakarta : Elex Media Komputindo.
- Darmono 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran : Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam*. UI-Press : Jakarta.
- Fauzi TM. 2008. Pengaruh Pemberian Timbal Asetat Dan Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehyde dan Spermatozoa Di Dalam Sekresi Epididimis Mencit Albino (*Mus muculus L*) Strain Balb/C (*Tesis*). Medan : Universitas Sumatra Utara
- Gunawan SG. 2007. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5. FKUI. Jakarta. 786-787.
- Guzman MJ, Mahan DC & Pate JL. 2000. Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. *Journal of Animal Science* 78:1537-1543.
- Hariono B. 2006. Efek pemberian plumbum (timah hitam) organik pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *J. Sain Vet.* 24 (1)
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan vitamin E sebagai antioksidan terhadap radikal bebas pada usia lanjut. *Jurnal MIPA UMS*. 14 : 52-60.
- Hermawanto HH & Hadiwidjaja DB. 2000 *Analisis Sperma pada Infertilitas Pria*. Malang www.kompas.com/pus-3.htm
- Hidayatulloh S, Pranoto & Masykur A. 2002. Alternatif pemanfaatan karbon aktif bagasse untuk menurunkan kadar ion pb²⁺ dan zat warna tekstil. *Jurnal Kimia Lingkungan* 4 (1):45-53.
- [KPBB] Komisi Penghapusan Bensin Bertimbal. 2006. Bahaya Bensin Bertimbal. *On line at* <http://www.kpbb.org/pengaruh-timbal-pada-jumlah-sperma/> [diakses tanggal 1 November 2012]
- Linder MC. 2006. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme. Diterjemahkan oleh A. Parakkasi. UI Press, Jakarta.
- Lyn P. 2006. Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Alternative Medicine Review*. 11(2) : 114-127.
- Momeni, Hamid R, Mehranjan, Malek S, Abnosi MH, Mahmoodi, & Monireh. 2009. Effects of vitamin E on sperm parameters and reproductive hormones in developing rats treated with para-nonylphenol. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 7 (3):111-116.
- Naha N & Chowdury AR. 2005. Toxic effect of lead on human spermatozoa: a study among pigment factory workers. *Indian Journal Of Occupational And Environmental Medicine*. 9(3):118-123.
- Palar H. 2004. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta : Rineka Cipta
- Panggabean PCT, Sylvia S, & July I. 2008. Efek Pajanan Timbal terhadap Infertilitas Pria . *JKM*. 8(1) : 87 - 93
- Percival M. 1998. Antioxidants. *J. Clinical Nutrition Insights* 31(10):1-4
- Zarghami N & Khosrowbetgi A. 2005. Seminal plasma levels pf isoprostane, malondialdehyde and toatl homocysteine in normozoospermic and anthozoospermic males. *Ind J. Clinic. Biochem* 20 (2):86-91