

1. PENTOKSIFILIN

2. SPERMA

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KIK

TKR 06/01

Far

1°

TESIS

**PERANAN PENTOKSIFILIN *IN VITRO* DALAM
MENINGKATKAN MOTILITAS SPERMATOZOA MANUSIA
MELALUI MODULASI SPESIES OKSIGEN REAKTIF DI SPERMA**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



Siti Farida

**ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

PERANAN PENTOKSIFILIN *IN VITRO* DALAM MENINGKATKAN
MOTILITAS SPERMATOZOA MANUSIA MELALUI MODULASI
SPESIES OKSIGEN REAKTIF DI SPERMA

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister

Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi

Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh :

Siti Farida

NIM : 099813089/M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001

LEMBAR PENGESAHAN

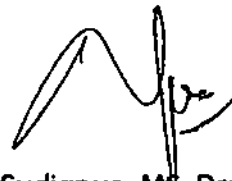
**TESIS INI TELAH DISETUJUI UNTUK DIUJI
TANGGAL 10 JULI 2001**

Pembimbing Ketua,



Aucky Hinting, Ph.D.,dr.

Pembimbing,



Sudjarwo, MS, Drs. Apt.

Mengetahui :
Ketua Program Studi
Ilmu Kesehatan Reproduksi



Aucky Hinting, Ph.D.,dr.

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISELUSAI UNTUK DILULU
TANGGAL 10 JULI 2001

Pembimbing



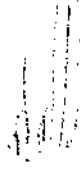
Sudjarwo, M.S., Drs. Apt.

Pembimbing Kedua



Aucky Hinting, Ph.D., dr.

Mengalauhi :
Ketua Program Studi
Ilmu Kesehatan Reproduksi



Aucky Hinting, Ph.D., dr.

Telah Diuji pada Tanggal 13 Juli 2001

Panitia Penguji Tesis

Ketua : Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr

Anggota : Aucky Hinting, Ph.D, dr.

Sudjarwo, M.S, Drs. Apt.

Muhammad Cholil Munif, dr

Dr. Trinil Susilawati, M.S., Ir.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Alhamdulillah saya panjatkan kehadiran Allah swt, karena hanya dengan limpahan rahmat dan karuniaNya, penelitian maupun penulisan tesis ini dapat saya selesaikan.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya saya tujukan kepada :

Rektor Universitas Airlangga, Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H.,Ph D. atas ijin serta kesempatan yang diberikan pada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan program Magister.

Direktur RS. Dr. Soetomo, Prof. Muhammad Dikman Angsar, dr, SpOG. yang telah memberikan ijin dan fasilitas, sehingga saya dapat melaksanakan dan menyelesaikan penelitian saya.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. Muhammad Amin, dr, SpP. Atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan, juga kepada seluruh staff dan karyawan Program Pascasarjana Universitas Airlangga, yang telah membantu saya menyelesaikan pendidikan Magister ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada pembimbing bapak Aucky Hinting, Ph.D.,dr. atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan bantuannya, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan pula kepada bapak Drs. Sudjarwo, M.S, Apt. yang dengan segala kesabaran membimbing, mengajari dan memberi bantuan sejak awal pendidikan hingga penyelesaian tesis ini.

Ucapan terima kasih pula saya tujukan kepada bapak Suhartono, DS, dr, SpOG, selaku Kepala Makmal Endokrinologi UPF Obstetri Ginekologi beserta seluruh staff dan karyawan yang telah memberikan ijin serta fasilitas di Laboratorium, yang sangat membantu saya dalam melakukan penelitian hingga tesis ini dapat saya selesaikan.

Ucapan terima kasih pula saya sampaikan kepada Kepala Poli Andrologi RS.Dr.Soetomo bapak Onny Pieters Sono, dr. beserta seluruh staff dan karyawan Poli Andrologi, atas segala bantuan dan bimbingan dalam penyelesaian tesis ini.

Ucapan terima kasih pula kepada Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr. yang telah bersedia membimbing dan memberi masukan yang sangat bermanfaat untuk penyelesaian tesis ini.

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada bapak M. Cholil Munif, AIF, dr. yang telah banyak membimbing dan membantu saya sejak awal penulisan, juga terima kasih kepada ibu Dr. Trinil Susilawati, M.S, Ir. yang telah membimbing dan mengajari saya, sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada bapak Muhammad Usman, AFK, dr. selaku atasan langsung beserta seluruh teman sejawat di Laboratorium Farmasi Kedokteran, yang telah memberi kesempatan dan dorongan moril yang tak terhingga, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Saya ucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada para pasien yang berkonsultasi di poli Andrologi, yang merupakan sumber keilmuan bagi penelitian saya hingga selesai.

Tak lupa saya haturkan terima kasih yang tak terhingga untuk suami saya Al Mansur, Ir dan anak-anak tercinta Arina Rodika, Mousa Faruqi dan Asa Hanif Alfarid yang telah dengan sabar dan penuh pengertian mendampingi secara moril, mendorong dan membantu saya serta menyesuaikan diri dengan kesibukan saya sejak awal pendidikan, sehingga saya dapat menyelesaikan program Magister ini dengan baik.

Dan akhirnya, kepada siapapun yang telah membantu dalam penyelesaian tesis ini, namun karena kekhilafan belum saya sebutkan, saya ucapkan terima kasih.

Akhir kata, saran dan masukan untuk melengkapi tesis ini, tentunya sangat saya perlukan, dan tersirat harapan semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi penelitian penelitian lebih lanjut.

Semoga Allah swt selalu melimpahkan rahmat dan karuniaNya sebagai balasan atas kebaikan bapak dan ibu semua.

Surabaya, 30 Mei 2001

Penulis

RINGKASAN

Penelitian eksperimental laboratoris tentang pengaruh pemberian pentoksifilin *in vitro* terhadap motilitas spermatozoa yang dikaitkan dengan penurunan kadar ROS di sperma, dilakukan dengan rancangan penelitian *The Randomized Extended Pre test-Post test Controlled Group Design* yang terdiri dari 2 (dua) kelompok. Kelompok pertama adalah pria infertil dengan motilitas rendah (astenospermia) dan kelompok kedua adalah pria infertil dengan motilitas normal (normospermia).

Penelitian ini dilakukan di RSUD Dr. Sutomo Surabaya, terdiri dari 8 pria astenospermia dan 8 pria normospermia, mendapat perlakuan dengan diberikan pentoksifilin *in vitro* dengan dosis 3,6 ; 7,2 dan 10 mM. Pemeriksaan motilitas spermatozoa dan kadar ROS sperma dilakukan 2X yaitu pada saat sebelum pemberian pentoksifilin dan sesudah pemberian pentoksifilin dengan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37^o C.

Hasil yang didapat pada astenospermia, terjadi peningkatan persentase motilitas spermatozoa dan penurunan ROS yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada pemberian dosis 3,6 ; 7,2 dan 10 mM, sedangkan pada normospermia peningkatan motilitas dan penurunan ROS nyata pada dosis 7,2 mM dan 10 mM ($p < 0,05$). Pemberian pentoksifilin 7,2 mM adalah yang optimal untuk menurunkan ROS dan meningkatkan persentase motilitas spermatozoa.

Hasil uji hubungan regresi motilitas pada kadar ROS akhir menunjukkan, bahwa makin tinggi kadar ROS makin rendah motilitas spermatozoa atau makin rendah kadar ROS makin meningkatkan persentase motilitas spermatozoa.

Kata kunci = Pentoksifilin *in vitro*, ROS sperma, Motilitas spermatozoa.

ABSTRACT

An experimental laboratory study to see the influence of giving pentoxifylline in vitro to sperm motility with mechanism decreasing of concentrate of ROS on the semen was performed at Dr. Sutomo Hospital in Surabaya. Eight asthenozoospermic and eight normozoospermic semen samples, were exposed pentoxifylline in vitro with dose 3,6 mM, 7,2 mM and 10 mM incubated 37° C for thirty minutes.

On asthenozoospermic group observed showing significant increase of the percentage of sperm motility and semen ROS was significantly decreased ($p < 0,01$) on dose 3.2 mM ; 7.2 mM and 10 mM, but on normozoospermic group significant on dose 7.2 mM and 10 mM ($p \geq 0,05$). In the dose 7,2 mM pentoxyfilline was optimal to decreased ROS and increased percentage of sperm motility.

Decreased of ROS would increased the percentage of sperm motility.

Key Word = Pentoksifilin in vitro, ROS semen, Sperm motility

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR SINGKATAN	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Spermatozoa	4
2.1.1 Spermatogenesis, Pematangan dan Metabolisme Spermatozoa ...	5
2.1.2 Motilitas Spermatozoa	7
2.1.3 Plasma Sperma	9
2.2 Spesies Oksigen Reaktif	10
2.2.1 Faktor - faktor penyebab terjadinya spesies oksigen reaktif	14
2.2.1.1 Gangguan metabolisme oksigen	14
2.2.1.2 Kekurangan anti oksidan	14
2.2.1.3 Diit kimiawi yang patologis	14
2.2.2 Patologi molekuler dari spesies oksigen reaktif	15
2.2.2.1 Membran tidak stabil	15
2.2.2.2 Hasil dari oksidasi lemak	15
2.2.2.3 Kerusakan DNA	15
2.2.2.4 Perubahan struktur protein	15
2.2.3 Dampak negatif dari ROS	16
2.2.4 Sumber terjadinya ROS pada sperma	17
2.3 Pentoksifilin	20
3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	23
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	23
3.2 Hipotesis	24
4. METODE PENELITIAN	26
4.1 Jenis Penelitian	26
4.2 Rancangan Penelitian	26

4.3	Tempat Penelitian	27
4.4	Populasi dan Sampel Penelitian	27
4.4.1	Populasi Penelitian	27
4.4.2	Sampel Penelitian	28
4.5	Variabel Penelitian	28
4.5.1	Variabel Tergantung	28
4.5.2	Variabel Bebas	28
4.5.3	Variabel Antara	28
4.6	Definisi Operasional Variabel	28
4.6.1	Variabel Tergantung	28
4.6.2	Variabel Bebas	29
4.6.3	Variabel Antara	29
4.7	Bahan dan Alat-alat yang Digunakan	29
4.8	Prosedur Penelitian	29
4.8.1	Analisis kualitas sperma	30
4.8.2	Pengamatan ROS	31
4.9	Analisis Hasil Penelitian	32
4.10	Kerangka kerja	32
5.	HASIL PENELITIAN dan ANALISIS DATA	33
5.1	Diskripsi rata-rata dan simpang baku motilitas ab dan ROS awal-akhir menurut grup dan perlakuan	33
5.2	Uji Distribusi normal Astenospermia dan Normospermia	34
5.3	Uji Homogenitas data Astenospermia dan Normospermia	35
5.4	Motilitas Spermatozoa dan ROS Sperma	36
5.4.a	Motilitas dan ROS awal-akhir kelompok kontrol	36
5.4.b	Motilitas dan ROS awal-akhir Pemberian Pentoksifilin 3,6 mM	37
5.4.c	Motilitas dan ROS awal-akhir Pemberian Pentoksifilin 7,2 mM	38
5.4.d	Motilitas dan ROS awal-akhir Pemberian Pentoksifilin 10 mM	39
5.5	Uji Beda perubahan motilitas dan ROS awal-akhir antar kelompok perlakuan pada Astenospermia dan Normospermia	41
5.6	Hubungan Motilitas dan ROS dengan dosis Pentoksifilin pada Astenospermia dan Normospermia	46
6.	PEMBAHASAN	48
6.1	Motilitas Spermatozoa	48
6.2	ROS Sperma	50
6.3	Korelasi Motilitas Spermatozoa dan Kadar ROS Sperma	50
7.	KESIMPULAN DAN SARAN	53
7.1	Kesimpulan	53
7.2	Saran	53
	DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR SINGKATAN

5' - AMP	: 5' - Adenosine Monophosphate
ATP	: Adenosine Triphosphate
Ca	: Calcium
c - AMP	: cyclic Adenosine 3', 5' - Monophosphate
EBSS	: Earle's Balanced Salts
LSD	: Least Significant Difference (Beda nyata terkecil)
OAT	: Oligoastenoteratozoospermia
PDE	: Phosphodiesterase
PTX	: Pentoksifilin
ROS	: Reactive Oxygen Species
Zn	: Zincum (Seng)
PMA	: Phorbol Miristate Asetat
8-OH-dG	: 8 - hidroksi - deoksiguanosin
MDA	: Malondialdehid
SOD	: Superoxide dismutase
CPM	: Count per minute
Jt sp	: Juta spermatozoa
FMLP	: Formil-1-metionil-1-leusil-1-fenilalanin
DMSO	: Dimetil sulfoksid

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 : Sumber Radikal Bebas, Radikal Bebas dan Anti Oksidan Pada Sperma	18
Tabel 2.1 : Daftar nilai normal menurut kriteria WHO 1992 (p.44)	27
Tabel 2.2 : Daftar persyaratan nilai oligoastenoteratozoospermia (WHO 1992, p.45)	28
Tabel 3.1 : Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas ab dan ROS Awal Menurut Grup dan Perlakuan	33
Tabel 3.2 : Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas ab dan ROS Akhir Menurut Grup dan Perlakuan	34
Tabel 4.1 : Uji Distribusi Normal pada Grup Astenozoospermia	34
Tabel 4.2 : Uji Distribusi Normal pada Grup Normozoospermia	35
Tabel 5.1 : Uji Homogenitas Data pada Grup Astenozoospermia	35
Tabel 5.2 : Uji Homogenitas Data pada Grup Normozoospermia	36
Tabel 6.1 : Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas dan ROS Awal - Akhir Kelompok Kontrol pada Astenozoospermia dan Normozoospermia	36
Tabel 6.2 : Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Kadar ROS Awal - Akhir Kelompok Pemberian Pentoksifilin 3,6 mM pada Astenozoospermia dan Normozoospermia	36
Tabel 6.3 : Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Kadar ROS Awal Akhir Kelompok Pemberian Pentoksifilin 7,2 mM pada Astenozoospermia dan Normozoospermia	37
Tabel 6.4 : Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Kadar ROS Awal - Akhir Kelompok Pemberian Pentoksifilin 7,2 mM pada Astenozoospermia dan Normozoospermia	38

Tabel 7.1	: Perbedaan Motilitas ab Awal Akhir Setelah Perlakuan pada Astenozoospermia	41
Tabel 7.2	: Perbedaan Motilitas ab Awal Akhir Setelah Perlakuan pada Normozoospermia	42
Tabel 7.3	: Perbedaan Motilitas ab Awal Akhir Setelah Perlakuan pada Astenozoospermia dan Normozoospermia	43
Tabel 8.1	: Perbedaan ROS Sperma Awal Akhir Setelah Perlakuan pada Astenozoospermia	44
Tabel 8.2	: Perbedaan ROS Sperma Awal Akhir Setelah Perlakuan pada Astenozoospermia	45
Tabel 8.3	: Perbedaan ROS Sperma Awal Akhir Setelah Perlakuan pada Astenozoospermia dan Normozoospermia	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	: Skema pengaturan rantai respirasi dalam empat ikatan kompleks oleh karier ubiquinone dan cytochrome - c. Tempat pembentukan O_2^- dan aksi penghambatan respirasi (Sohal <i>et al</i> , 1992)	13
Gambar 2.	: Struktur pentoksifilin dan derivat metilxantin lainnya	22
Gambar 3.	: Kerangka konsep penelitian	25
Gambar 4.	: Kerangka operasional penelitian	32
Gambar 5.1	: Perubahan motilitas ab sebelum ke sesudah perlakuan pada grup Astenozoospermia	40
Gambar 5.2	: Perubahan motilitas ab sebelum ke sesudah perlakuan pada grup Normozoospermia	41
Gambar 5.3	: Perbedaan motilitas ab awal akhir setelah perlakuan pada grup Astenozoospermia dan Normozoospermia	43
Gambar 6	: Perbedaan ROS awal akhir setelah perlakuan pada Grup Astenospermia dan Normospermia	45
Gambar 7.1	: Hubungan motilitas dengan dosis pentoksifilin pada Grup Astenospermia	46
Gambar 7.2	: Hubungan ROS dengan dosis pentoksifilin pada Grup Astenospermia	46
Gambar 8.1	: Hubungan motilitas dengan dosis pentoksifilin pada Grup Normospermia	47
Gambar 8.2	: Hubungan ROS dengan dosis pentoksifilin pada Grup Normospermia	47
Gambar 9.	: Hubungan regresi motilitas ab pada kadar ROS akhir	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Daftar Data Dasar Sampel Grup Astenospermia dan Normospermia	56
Lampiran 2. Daftar Nilai Batas (cut off) Kadar ROS Sampel Penelitian	57
Lampiran 3. Daftar uji Distribusi Normal pada Grup Astenospermia	59
Lampiran 4. Daftar Uji Distribusi Normal pada Grup Normospermia	61
Lampiran 5. Daftar Uji Homogenitas Grup Astenospermia	63
Lampiran 6. Daftar Uji Homogenitas Grup Normospermia	64
Lampiran 7. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Kontrol Grup Astenospermia	65
Lampiran 8. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 3,6 mM Grup Astenospermia	66
Lampiran 9. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 7,2 mM Grup Astenospermia	67
Lampiran 10. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 10 mM Grup Astenospermia	68
Lampiran 11. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Kontrol Grup Astenospermia	69
Lampiran 12. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 3,6 mM Grup Normospermia	70
Lampiran 13. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 7,2 mM Grup Normospermia	71

Lampiran 14. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 10 mM Grup Normospermia	72
Lampiran 15. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda Motilitas AB Antar Perlakuan pada Grup Astenospermia	73
Lampiran 16. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda Motilitas AB Antar Perlakuan pada Grup Normospermia	74
Lampiran 17. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda Motilitas AB Antar Grup Astenospermia dan Normospermia	75
Lampiran 18. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda ROS Antar Perlakuan pada Grup Astenospermia	76
Lampiran 19. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda ROS Antar Perlakuan pada Grup Normospermia	77
Lampiran 20. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda ROS Antar Grup Astenospermia dan Normospermia	78

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Permasalahan

Motilitas spermatozoa adalah salah satu parameter yang penting dan paling banyak diteliti dalam hubungannya dengan fungsi sperma, dimana motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh faktor eksogen dan endogen. Faktor endogen antara lain kematangan spermatozoa, morfologi normal, sel yang utuh, kestabilan membran, pola gerakan flagella lurus ke depan, spesies oksigen reaktif (ROS) dan cukup tersedianya energi. Sedangkan faktor eksogen antara lain faktor biofisik yaitu pH, suhu dan komposisi ion, cairan epididimis, plasma semen, cairan prostat, getah serviks, ion anorganik, obat, hormon, faktor imunologi, radiasi dan ROS.

WHO (1995), penyebab infertilitas pasangan suami istri 40 % disebabkan oleh faktor pria yang penanganannya sering memberikan hasil yang kurang memuaskan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa beberapa pasien infertil memproduksi ROS dengan kadar yang tinggi, mungkin ini penyebab infertilitas pria yang idiopatik (Aitken and Clarkson 1989). Hal ini disebabkan karena ROS (Reactive Oxygen Species) yang sebagian berbentuk radikal (radikal hidroksil, radikal peroksil, ion superoksida) dan sebagian bukan radikal (hidrogen peroksida, singlet oksigen), mempunyai kemampuan untuk mengoksidasi lipid yang akan merusak membran spermatozoa. Selain itu ROS dapat merusak protein dan DNA yang sangat penting untuk kelangsungan hidup suatu sel (Jones *et al.* ,1979 ; de Lamirande *et al.*, 1991), maka diperlukan upaya - upaya untuk menurunkan ROS di sperma dengan jalan antara lain memberikan zat anti oksidan yang dapat meredam ROS dengan harapan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa.

Fungsi spermatozoa dalam fertilisasi adalah migrasi / motilitas, penetrasi Zona Pelusida, dan fusi spermatozoa dengan oosit, dimana untuk keberhasilan fertilisasi, motilitas spermatozoa merupakan faktor yang cukup penting.

Berbagai usaha telah dilakukan untuk memperbaiki kualitas spermatozoa seperti penambahan bahan-bahan kimia tertentu ke dalam plasma sperma maupun medium spermatozoa, diantaranya adalah penggunaan turunan metilxantin seperti pentoksifilin.

Sampai saat ini, peningkatan motilitas melalui mekanisme penurunan spesies oksigen reaktif di sperma dengan jalan memberikan zat anti oksidan masih diperdebatkan, oleh karena itu sangatlah menarik untuk diteliti.

Pentoksifilin adalah salah satu anti oksidan yang dipilih karena selain diijinkan penggunaannya secara etika oleh FDA (*Food and Drug Administration*) untuk fertilisasi *in vitro*, juga karena sifatnya yang sangat mudah larut dalam air dan kemampuannya untuk meningkatkan motilitas spermatozoa dengan cara menghambat kerja enzim fosfodiesterase dan memodulasi secara langsung translokasi Kalsium intraseluler. Selain itu secara *in vitro* pentoksifilin dapat menurunkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dengan mekanisme sebagai *radical scavenger* (Tournaye, 1994), sehingga diharapkan dapat mencegah kerusakan pada permeabilitas membran spermatozoa yang dapat mengganggu motilitasnya. Selain itu pentoksifilin juga telah dipergunakan untuk mengobati kelainan-kelainan fertilitas pria dengan dosis 3 kali 400 - 600 mg per hari per oral selama 3 - 6 bulan (Schill, 1995), alasannya karena pentoksifilin dapat memperbaiki mikrosirkulasi yang diduga ikut berperan dalam proses spermatogenesis.

1.2 Rumusan Masalah

Dengan melihat latar belakang permasalahan tersebut di atas, maka dirumuskan pokok permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian pentoksifilin *in vitro* dapat meningkatkan motilitas spermatozoa manusia ?
2. Apakah pemberian pentoksifilin *in vitro* dapat menurunkan spesies oksigen reaktif (ROS) sperma manusia ?
3. Apakah penurunan spesies oksigen reaktif (ROS) sperma dapat meningkatkan motilitas spermatozoa manusia ?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian

1.3.1.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pentoksifilin terhadap kadar spesies oksigen reaktif sperma dan motilitas spermatozoa manusia.

1.3.1.2 Tujuan Khusus

1. Ingin mengetahui pengaruh pentoksifilin *in vitro* terhadap motilitas spermatozoa manusia.
2. Ingin mengetahui pengaruh pentoksifilin *in vitro* terhadap kadar spesies oksigen reaktif sperma manusia.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi sumbangan di bidang Ilmu Kesehatan Reproduksi tentang penggunaan anti oksidan dalam meningkatkan motilitas spermatozoa.

BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Spermatozoa**

Infertilitas pada pria dapat disebabkan oleh gangguan / kelainan baik di dalam proses pembentukan spermatozoa (spermatogenesis), proses pematangan, transportasi maupun kemampuan fertilisasi dari spermatozoa (Hinting A, 1989).

Kualitas sperma yang terdiri dari plasma sperma dan sel-sel spermatozoa merupakan unsur terpenting dalam reproduksi pria, disamping kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel telur. Karena kemampuan setiap pria dalam membuahi sel telur berbeda, dan ini disebabkan oleh banyak faktor mulai dari kelainan genetik sampai kelainan oleh karena lingkungan misalnya adanya infeksi, varikokel, atau terbentuknya radikal bebas di sperma (Iwasaki & Gagnon, 1992).

Walaupun sebab-sebab dari subfertilitas berbeda pada masing-masing orang, ada beberapa sifat atau tanda dari spermatozoa yang fertil, yaitu struktur yang normal dari komponen-komponen yang berfungsi baik; motilitas yang baik dan kemampuan penetrasi ke dalam ovum ; protein yang penting untuk perlekatan dari spermatozoa terhadap zona Pelucida dan vitelin membran; membran plasma yang sanggup berubah selama reaksi akrosom ataupun dapat berfusi dengan membran plasma oosit; enzim-enzim dalam akrosom yang berfungsi pada saat yang tepat untuk membantu penetrasi oosit; waktu yang tepat dari kejadian mulai spermatid dibentuk hingga terjadi fertilisasi untuk menghasilkan embrio dengan kemungkinan hidup yang maksimal (de Kretzer, 1987).

Untuk memahami bagaimana pengaruh radikal bebas terhadap spermatozoa serta faktor - faktor apa yang mempengaruhi kualitas sperma, maka perlu dipelajari tentang radikal bebas dan proses-proses spermatogenesis, pematangan, metabolisme dan motilitas spermatozoa .

2.1.1 Spermatogenesis , Pematangan dan Metabolisme Spermatozoa

Spermatogenesis pada manusia terjadi di dalam tubulus semeniferus dari testis yang melalui proses panjang dan sangat kompleks. Peristiwa ini mulai berlangsung ketika seorang anak laki-laki memasuki usia pubertas. Dalam satu siklus diperlukan waktu 70 ± 4 hari (de Kretzer, 1987).

Proses ini dimulai dengan pembelahan mitosis dari spermatogonia menjadi spermatosit primer yang tetap bersifat diploid yang berada di dekat basal membran tubulus semeniferus. Kemudian spermatosit melewati blood testis barrier yang dibentuk oleh sel-sel Sertoli masuk ke dalam bagian adluminal. Melalui pembelahan meiosis I terjadi reduksi sehingga dihasilkan 2 buah spermatosit sekunder yang masing-masing bersifat haploid. Selanjutnya setiap spermatosit sekunder mengalami meiosis II menjadi 2 buah spermatid yang berbentuk bulat. Jadi dari 1 spermatosit primer dihasilkan 4 spermatid. Dan spermatid bulat tidak membelah lagi, tetapi mengalami proses perubahan bentuk menjadi spermatozoa matang yang memanjang dan mempunyai flagella yang disebut dengan proses *spermiogenesis*. Kemudian spermatozoa-spermatozoa ini akan dikeluarkan dari epitelium semeniferus ke dalam lumen melalui proses *spermiasi* (de Kretzer, 1992; Hess, 1990 ; Rijnders, 1996).

Selanjutnya di dalam epididimis spermatozoa akan mengalami proses pematangan. Pada proses ini terjadi perubahan - perubahan pada spermatozoa

yang meliputi ukuran, bentuk atau ultrastruktur akrosom, sifat dan permeabilitas membran plasma, serta daya tahan terhadap perubahan fisikokimia. Perubahan-perubahan ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan motilitas dan fertilisasi dari spermatozoa.

Spermatozoa yang matang menunjukkan gerakan ekor yang spesifik yaitu amplitudo rendah dan frekwensi gerakan yang tinggi, sehingga gerakannya lurus cepat, sedangkan spermatozoa yang tidak matang menunjukkan gerakan ekor dengan amplitudo tinggi dan frekwensi rendah, sehingga gerakan majunya perlahan (Bedford, 1973).

Faktor utama yang mengontrol motilitas spermatozoa adalah ATP, yaitu suatu substrat energi untuk *dynein - ATP ase* dan dihasilkan oleh mitokondria. Untuk memproduksi ATP, spermatozoa menggunakan sumber dari luar seperti fruktosa, laktat, piruvat, dan glukosa yang tersedia di dalam plasma sperma, traktus genitalia wanita atau berasal dari media yang digunakan untuk preparasi sperma dan IVF (Tournaye. 1994).

Mulai proses pembentukan, pematangan, kapasitasi sampai dengan proses fertilisasi, peran membran spermatozoa sangat penting. Membran spermatozoa terdiri dari fosfolipid, kolesterol, lipid netral dan glikolipid. Fosfolipid berfungsi mengaktifkan lemak yang disimpan untuk digunakan pada metabolisme lemak di sperma, terutama saat sperma berada di saluran reproduksi wanita, yang terjadi perubahan lingkungan baik saat terjadinya proses kapasitasi maupun fertilisasi. Sedangkan komponen lemak dalam plasma sperma adalah fosfolipid, asam lemak, digliserida, trigliserida, kolesterol dan glikolipid. (White G *et al*, 1976).

2.1.2 Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah salah satu parameter yang penting dan paling banyak diteliti dalam mengevaluasi potensi fertilitas dari suatu sampel. Pria dengan spermatozoa yang immotil total meski spermatozoa itu hidup tentu tidak dapat melakukan penetrasi ke mulut serviks.

Motilitas spermatozoa sendiri dipengaruhi oleh faktor eksogen dan endogen. Faktor endogen antara lain kematangan spermatozoa, morfologi normal, sel yang utuh, kestabilan membran, pola gerakan flagel lurus ke depan, radikal bebas, dan cukup tersedianya energi. Sedangkan faktor eksogen antara lain faktor biofisik yaitu pH, suhu dan komposisi ion; cairan epididimis, plasma semen, cairan prostat, getah serviks, ion anorganik, obat, hormon, faktor imunologi, radiasi dan radikal bebas atau ROS.

Ekor / flagella spermatozoa bergetar ± 10 x/menit dengan pola pergerakan yang bervariasi. Pada sentral ekor spermatozoa terdapat aksonema yang berasal dari sarung mitokondria dan berlanjut sepanjang ekor tersebut. Aksonema terdiri dari 9 mikrotubulus *doublet* yang terletak di perifer dan mengelilingi sepasang mikrotubulus di bagian tengah. Jadi aksonema mempunyai struktur silindris dengan pola $9 + 2$. Tiap-tiap pasang mikrotubulus perifer dihubungkan lagi dengan bagian tengah tersebut melalui 9 buah serat secara radial, sehingga pola keseluruhannya disebut $9+9+2$. Antara *doublet* mikrotubulus dihubungkan dengan jembatan *nexin*. Sedangkan mikrotubulus di dalam *doublet*, berhubungan satu dengan yang lainnya melalui lengan *dynein* yaitu suatu protein dengan aktivitas ATP-ase. Jika ada sinyal-sinyal ionik maka ATP mitokondria mengalami hidrolisis menjadi ADP oleh lengan-lengan *dynein* tersebut sehingga menimbulkan gerakan - gerakan antara *doublet* - *doublet* tersebut yang berkarakteristik dari ekor spermatozoa (Bedford, 1973).

Gerakan ini disebut dengan *Sliding microtubule hypothesis* yang diperkenalkan oleh Atzelius. Di bawah pengaruh ATP, aksonema akan bertambah panjang dan tebal serta dapat bergerak sepanjang mikrotubulus di sebelahnya. Jika lanjutan lengkungan yang timbul sepanjang aksonema berlawanan dan simetris, maka aksonema akan bergerak lurus ke depan.

Faktor utama yang mengontrol motilitas spermatozoa adalah ATP. Tersedianya ATP juga dikontrol oleh kalsium, nukleotida-nukleotida siklik dan pH intra seluler. *Cyclic adenosine 3', 5' - monophosphat* (c-AMP) merupakan nukleotida siklik yang berfungsi sebagai *second messenger*, telah diketahui turut mengatur metabolisme spermatozoa mamalia (Hicks *et al*, 1972) dan motilitas spermatozoa (Vijayaraghavan *and* Hoskins, 1986), sedangkan pH intra seluler juga diduga mempunyai peran dalam pengaturan motilitas spermatozoa (Goltz *et al*, 1988).

Kemampuan spermatozoa untuk membuahi ovum melalui proses kapasitasi. Tanpa kapasitasi maka spermatozoa tidak dapat segera membuahi ovum setelah inseminasi. Diperlukan periode inkubasi tertentu di dalam traktus genitalia wanita atau dibutuhkan albumin dan Ca di dalam kultur medium sehingga spermatozoa dapat meningkatkan fungsinya dengan tujuan untuk mendapatkan kapasitas atau kemampuan membuahi ovum. Selama kapasitasi, spermatozoa mengalami perubahan metabolik, perubahan dalam pola motilitas dan perubahan-perubahan dalam struktur membran (Tournaye, 1994).

Selama kapasitasi terjadi pula perubahan gerakan spermatozoa dari pola gerakan flagella yang agak kaku menjadi pola gerakan seperti cambuk yang asimetris dengan flagella yang meliuk-liuk. Perubahan motilitas ini disebut hiperaktivasi (Burkman, 1984). Hiperaktivasi ini dibutuhkan oleh spermatozoa agar dapat

menembus sekret yang dihasilkan oleh tuba Falopii dan melakukan penetrasi ke dalam oosit (Demott and Suarez, 1992).

Mekanisme biokimia yang mendasari terjadinya kapasitasi dan hiperaktivasi didahului dengan masuknya Ca ke dalam sel (Singh *et al.*, 1978) dan sebagai akibatnya terjadi peningkatan kadar c-AMP intra seluler (White and Aitken, 1989). Enzim yang bertanggung jawab untuk memproduksi c - AMP adalah adenilat siklase, sebaliknya enzim fosfodiesterase dapat menurunkan kadar c-AMP menjadi 5'-AMP (Fraser and Monks, 1990). Kerja c-AMP mengaktifkan protein kinase-A sehingga terjadi fosforilasi protein. Fosforilasi protein menyebabkan hiperaktivasi spermatozoa dan peningkatan motilitas spermatozoa serta terjadi reaksi akrosom (Cummins *et al.*, 1993).

2.1.3 Plasma Sperma

Volume normal sperma berkisar antara 2 – 5 ml, dimana 90 % nya merupakan plasma sperma, sedangkan sisanya adalah spermatozoa (Rijnders, 1974). Plasma sperma atau seminal plasma yang sebagian besar dihasilkan oleh kelenjar prostat atau vesikula seminalis, mempunyai fungsi sebagai penyedia bahan-bahan nutrisi dan sebagai buffer, selain itu juga sebagai media transpor spermatozoa dari sistem reproduksi pria ke sistem reproduksi wanita. Karena itu dalam proses reproduksi alami, fungsi utamanya sebagai media transpor secara fisiologis sangatlah penting. Plasma sperma secara fisiologis juga menstimulasi motilitas dan metabolisme spermatozoa. Fungsinya sebagai buffer, melindungi spermatozoa dari lingkungan asam vagina (Mann, 1984).

Sekresi yang berasal dari prostat mengandung asam sitrat, fosfatase asam dan seng (Zn) dengan pH yang rendah sedangkan sekresi vesikula seminalis terutama

mengandung fruktosa, bersifat kental dengan pH yang tinggi. Fungsi asam sitrat diduga penting untuk menjaga keseimbangan osmotik semen (Mann, 1984).

Disamping zat-zat tersebut, prostat juga menghasilkan enzim-enzim Beta-glukuronidase, lizozim, alfa-amilase, gama-glutamil transferase, seminal proteinase-seminin dan lain-lain serta Ca dan spermin yang bertanggung jawab terhadap bau plasma sperma yang khas. Fungsi enzim-enzim tersebut di atas masih belum diketahui jelas (Glezerman *and* Bartoov, 1993).

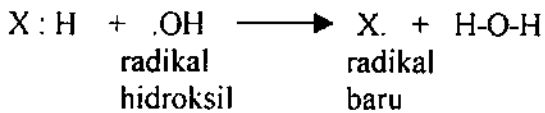
Meski plasma sperma mengandung berbagai macam gula seperti glukosa, ribosa, fruktosa dan lain-lain, tetapi fruktosalah yang merupakan sumber energi utama spermatozoa. Karena itu fruktosa menjadi *marker* yang spesifik untuk mengetahui fungsi vesikula seminalis. Prostaglandin juga dihasilkan oleh vesikula seminalis yang dapat merangsang adenilat siklase di berbagai jaringan, maka diduga prostaglandin yang ada dalam plasma sperma dapat meningkatkan kadar c-AMP dalam spermatozoa yang bertanggung jawab terhadap motilitas spermatozoa. Rendahnya kadar prostaglandin di dalam plasma sperma diketahui memang berhubungan dengan infertilitas pria (Glezerman *and* Bartoov, 1993).

2.2 Spesies Oksigen Reaktif

Dalam kepustakaan kedokteran pengertian oksidan dan radikal bebas sering dibaurkan, karena keduanya memiliki sifat-sifat yang mirip, namun dipandang dari ilmu kimia keduanya harus dibedakan. **Oksidan** adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron, misalnya ion ferri (Fe^{+++}).



Sebaliknya **radikal bebas** adalah atom, molekul atau ion yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*), sehingga radikal bebas tersebut tidak stabil. Untuk itu radikal bebas akan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal yang baru, misalnya :

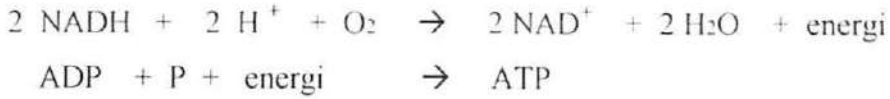


Jadi sama halnya dengan oksidan, radikal bebas juga penerima elektron. Namun perlu diingat bahwa radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal, karena memiliki sifat reaktivitasnya yang tinggi (cenderung menarik elektron) dan kecenderungannya untuk membentuk radikal baru, yang pada gilirannya bila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal bebas baru lagi sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*). Reaksi rantai tersebut baru berhenti bila radikal bebas tersebut dapat diredam (*quenched*) (Suryohudoyo P, 1993).

Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologik sebagian besar justru berasal dari proses-proses biologi alami dan melibatkan apa yang disebut sebagai senyawa oksigen reaktif atau **spesies oksigen reaktif** (*Reactive Oxygen Species = ROS*). Sebagian diantaranya berbentuk radikal seperti radikal hidroksil ($\cdot OH$), radikal peroksil ($\cdot OOH$), dan ion superoksida (O_2^-), sebagian lain bukan radikal seperti singlet oksigen (O_2), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan ion hipoklorit (ClO^-).

Pembentukan ROS, sesuai dengan namanya, berasal dari oksigen. Oksigen adalah suatu senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerobik termasuk manusia untuk menghasilkan ATP, yaitu suatu senyawa yang merupakan sumber

energi bagi kebanyakan makhluk hidup melalui proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di **mitokondria**. Proses tersebut secara sederhana dapat digambarkan sebagai berikut :



Jadi pada proses ini terjadi reduksi oksigen sehingga O_2 menjadi H_2O yang merupakan pengalihan 4 elektron, dari : $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

Dalam keadaan tertentu misalnya *oxidative stress* pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terjadi senyawa-senyawa oksigen atau ROS yang sangat berbahaya, yang akan merusak sel apabila tidak diredam. Tempat pembentukan utama dari ion superoksida dan hidrogen peroksida adalah di mitokondria. Disamping itu dari hasil penelitian yang dilakukan pada serangga, lalat, dan tikus bahwa pembentukan O_2^- dan H_2O_2 di mitokondria berhubungan dengan proses penuaan. Beberapa contoh proses pembentukan ROS antara lain :

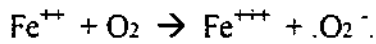
Hidrogen peroksida terbentuk terutama karena aktivitas enzim-enzim oksidase yang terdapat dalam retikulum endoplasmik (mikrosom) dan peroksisom yang mengkatalis reaksi : $\text{RH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{R} + \text{H}_2\text{O}_2$

Hidrogen peroksida merupakan oksidan yang kuat dan dapat mengoksidasi berbagai senyawa yang terdapat dalam sel. Daya rusak H_2O_2 bukan hanya sebagai oksidan yang kuat, tetapi juga karena dapat menghasilkan radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) yang lebih berbahaya bila H_2O_2 bereaksi dengan logam transisi Fe^{++} dan Cu^+ .



Ion superoksida ($O_2^{\cdot -}$) terbentuk melalui beberapa cara antara lain :

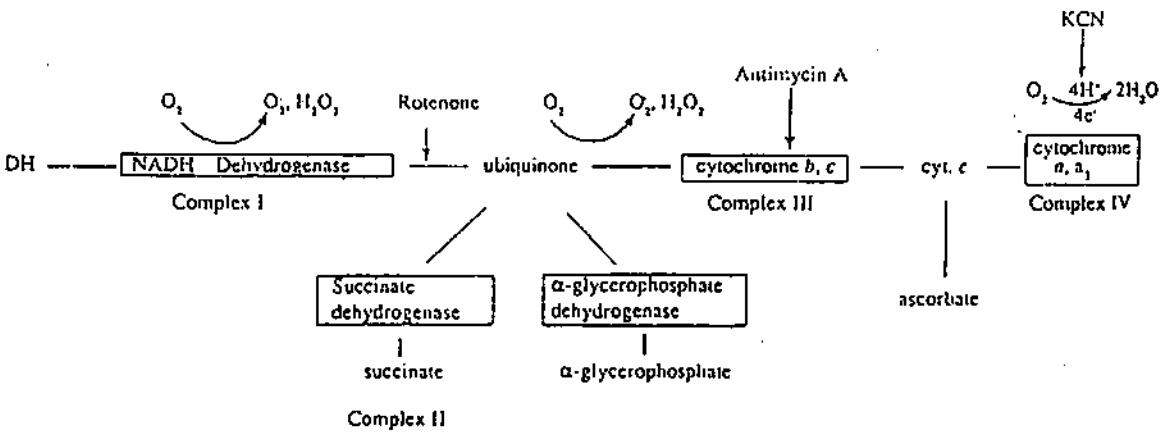
- a. Sebagai reaksi sampingan yang melibatkan Fe^{++} seperti misalnya proses fosforilasi oksidatif, proses oksigenasi Hb, proses hidroksilasi oleh enzim sitokrom P450 dan sitokrom b4, reaksinya adalah :



- b. Sebagai hasil reaksi yang dikatalisis oleh NADH / NADPH oksidase yang terdapat pada mitokondria dan granulosit :



Atau dari reaksi yang melibatkan cytochrome $a a_3$ complex / oxidase :



Gambar 1. Skema pengaturan rantai respirasi dalam empat ikatan kompleks oleh karier ubiquinone dan cytochrome c. Tempat pembentukan $O_2^{\cdot -}$ dan aksi penghambatan respirasi (Sohal et al , 1992).

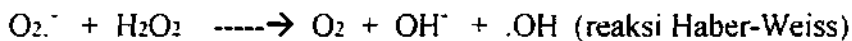
c. Sebagai hasil reaksi yang dikatalisir oleh enzim xantin oksidase dengan reaksi :



ini terjadi apabila dalam keadaan iskemia atau hipoksemia, karena dalam keadaan normal enzim tersebut tidak ada pada mamalia, tetapi pada kondisi iskemia enzim xantin dehidrogenase akan berubah menjadi xantin oksidase melalui proses proteolisis



Sebenarnya ion superoksida tidak terlalu reaktif, tetapi radikal ini akan sangat berbahaya bila terdapat bersama-sama dengan hidrogen peroksida karena akan menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif.



2.2.1 Faktor-faktor penyebab terjadinya spesies oksigen reaktif

2.2.1.1 Gangguan metabolisme oksigen

Kurang lebih 3 % hasil dari metabolisme untuk konsumsi O_2 pada mitokondria menjadi oksigen radikal. Meningkatnya pembentukan spesies oksigen reaktif oleh karena adanya latihan, trauma, aliran darah yang menurun, alergi, infeksi (terpenting) oleh karena adanya pengeluaran oleh sel-sel radang misalnya pada sel makrofak.

2.2.1.2 Kekurangan anti oksidan

Kurangnya diet dari Vitamin C; Vitamin E dan macam anti oksidan lain, serta enzim-enzim superoksid dismutase, katalase, glutathion peroksidase sebagai pelindung terhadap senyawa-senyawa spesies oksigen reaktif.

2.2.1.3 Diet kimiawi yang patologis

Kelebihan lemak total, asam lemak tidak jenuh, kolesterol sehingga memungkinkan peningkatan peroksidasi lemak.

2.2.2 Patologi Molekuler dari spesies oksigen reaktif

2.2.2.1 Membran tidak stabil

Menyebabkan kebocoran, ion-ion keluar masuk sehingga dapat merubah suasana lingkungan dalam sel, hal ini sangat penting untuk spermatozoa oleh karena dalam perjalanannya untuk menembus zona pelucida dari ovum diperlukan stabilitas membran yang baik sehingga fungsinya sebagai alat reproduksi berjalan dengan baik.

Molekul air dan molekul kecil lain mengalami difusi cepat. Hubungan antar Sel sangat bebas sehingga sel endothel tidak stabil dan hubungan antar sel glanduler dan organ terbuka.

2.2.2.2 Hasil dari oksidasi lemak

Seperti diketahui komponen membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dimana fosfolipid dan glikolipid mengandung asam lemak tak jenuh; asam linoleat; linolenat dan arakidonat sangat rawan terhadap serangan spesies oksigen reaktif terutama radikal hidroksil. Pada spermatozoa selain menyebabkan kematian dari sel juga sangat mempengaruhi motilitasnya sehingga fungsi fertilitasnya terganggu.

2.2.2.3 Kerusakan DNA

Dapat menyebabkan perubahan pada DNA yang antara lain, hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA.

2.2.2.4 Perubahan struktur protein

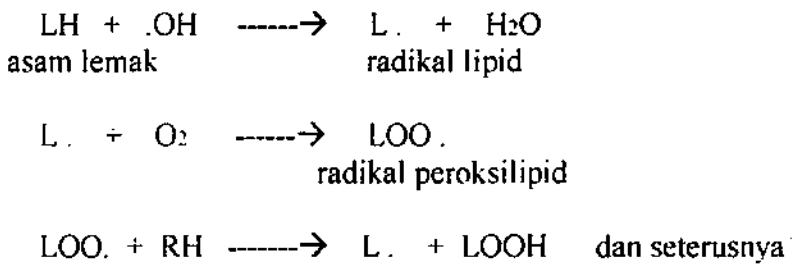
Protein yang berfungsi sebagai reseptor pada permukaan sel atau pada sitoplasma untuk neurotransmitter dan hormon berubah strukturnya sehingga kehilangan aktifitasnya sebagai reseptor.

2.2.3 Dampak negatif dari ROS

Dampak negatif dari ROS terutama radikal hidroksil (.OH) adalah karena reaktivitasnya yang sangat tinggi, sehingga paling berbahaya dan dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk integritas sel yaitu asam lemak, DNA, dan protein.

Dampak Negatif ROS Terhadap Membran Sel

Komponen terpenting membran sel disamping kolesterol adalah fosfolipid dan glikolipid yang mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rawan terhadap serangan radikal terutama radikal hidroksil, sehingga dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan **peroksidasi lipid** :



Akibat akhir dari reaksi rantai ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain aldehida-aldehida seperti malondialdehida, 9 hidroksi-nonenal, serta berbagai hidrokarbon seperti etana dan pentana, yang semua itu dapat menyebabkan membran tidak stabil atau merusak membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel. Pada spermatozoa peranan membran sel sangat penting, oleh karena dalam perjalanannya untuk dapat menembus zona Pelusida dari ovum diperlukan stabilitas membran yang baik, sehingga fungsinya sebagai alat reproduksi dapat berjalan baik pula (Alvarez *et al.*, 1987 ; Aitken *et al.*, 1996 ; Purnomo Suryohudoyo, 1993).

Dampak Negatif ROS Terhadap DNA

Radikal hidroksil dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA yang antara lain berupa : hidroksilasi basa timin dan sitonin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA (*DNA repair system*). Namun, bila kerusakan terlalu parah, kerusakan tak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu. Bila kerusakan ini mengenai gen-gen tertentu misalnya proto-onkogen maka akan dapat menyebabkan kanker (Halliwell, *et al.*, 1989 de Lamirande and Gagnon C, 1993).

Dampak Negatif ROS Terhadap Protein

Oksidan dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam-amino yang menyusun protein tersebut. Diantara asam-asam amino tersebut yang paling rawan adalah sistein. Sistein ini mengandung gugusan sulfhidril (SH) yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil, yang akhirnya akan menyebabkan protein tersebut kehilangan fungsi biologisnya (misalnya : enzim menjadi kehilangan aktivitasnya) (de Lamirande, *et al*, 1992).

2.2.4 Sumber Terjadinya ROS pada Sperma

ROS dapat dibentuk oleh berbagai komponen sel-sel dalam sperma termasuk spermatozoa imotil, spermatozoa dengan morfologi abnormal atau normal tetapi mempunyai kelainan fungsi, juga lekosit dan sel-sel lain dalam sperma (Tabel 2.2.4), sedangkan plasma sperma sendiri tidak memproduksi ROS (Aitken, 1998 ; Iwasaki and Gagnon, 1992 ; Mazzilli, 1994).

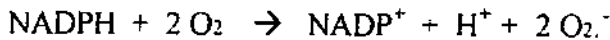
Spermatozoa yang abnormal dapat menjadi sumber utama ROS, terutama yang masih mengandung sisa-sisa sitoplasma, karena kegagalan spermiogenesis (Gavella *et al*, 1996). Beberapa ROS yang dapat mempengaruhi fungsi sperma adalah ion superoksida, radikal hidroksil, dan hidrogen peroksida (Aitken and Clarkson, 1987).

Tabel 1. Sumber Radikal Bebas, Radikal Bebas, dan Anti Oksidan pada Sperma (Soehadi, 1996)

Sumber radikal bebas pada sperma	Radikal bebas pada spermatozoa	Anti oksidan pada sperma
1. Spermatozoa abnormal <ul style="list-style-type: none"> - Abnormalitas kepala - Abnormalitas leher * - Abnormalitas ekor - Spermatozoa <i>immature</i> 2. Sel-sel bulat 3. Lekosit 4. Bakteri 5. Virus	1. Hidrogen peroksida (H_2O_2) 2. Anion superoksida ($-O_2$) 3. Radikal hidroksil ($-OH$) 4. Radikal peroksida 5. Oksigen tunggal (<i>Singlet oxygen</i>)	1. Spermatozoa <ul style="list-style-type: none"> - Superoksid dismutase (SOD) - Glutation peroksidase - Reduktase - Katalase 2. Plasma sperma <ul style="list-style-type: none"> - Superoksid dismutase (SOD) - Katalase - Vitamin C dll.

Dari penelitian yang dilakukan oleh Aitken dan Clarkson (1989) dilaporkan bahwa beberapa pasien infertil memproduksi ROS dengan kadar yang lebih tinggi, dan mungkin ini penyebab infertilitas pria yang idiopatik. Juga Iwasaki dan Gagnon (1992) dari hasil penelitiannya melaporkan bahwa adanya ROS ini dapat terdeteksi 40 % dari sperma pasien-pasien yang berkonsultasi ke klinik infertilitas. Sedangkan pada sperma sukarelawan - sukarelawan yang normal dan pada pasien azoospermia tidak terdeteksi adanya ROS ini. Terdeteksinya ROS pada sperma mencerminkan adanya ketidakseimbangan antara pembentukan ROS dan penghancuran (degradasi) dari ROS.

Terbentuknya ROS oleh spermatozoa diduga melalui mekanisme NADPH oksidase pada membran spermatozoa (Aitken *et al.*, 1992), yaitu dari reaksi sebagai berikut :



dan melalui proses NADH oksidoreduktase pada bagian mitokondria (Gavella and Lipovac, 1993). Dalam kondisi normal, spermatozoa memproduksi ROS dalam jumlah kecil, yang dibuat di mitokondria melalui proses oksidasi fosforilasi dan hanya sepertiga darinya yang dikeluarkan dari sel itu (Plante *et al.*, 1994), yang antara lain berfungsi untuk melawan benda asing patogen. Karena kecilnya kadar ROS yang dikeluarkan dari spermatozoa, kemungkinan sumber utama ROS yang berasal dari spermatozoa pria infertil sebagian besar berasal dari mitokondria (Plante *et al.*, 1994).

Pada kondisi tertentu dimana terjadi keadaan yang disebut *oxidative stress* akan diproduksi ROS dalam jumlah berlebih sehingga bersifat toksik terhadap spermatozoa karena dapat mengoksidasi lipid membran, protein dan DNANYA.

Karena membran spermatozoa manusia banyak mengandung asam lemak tak jenuh, sehingga menjadi sangat sensitif terhadap kerusakan yang disebabkan oleh ROS (Alvarez *et al.*, 1987 ; Aitken & Clarkson., 1987).

Terbentuknya peroksidasi lemak dari membran dan produk-produk degradasinya seperti hydroxyalkenal dan malonaldehyde sangat toksik terhadap spermatozoa, dan akan menyebabkan kegagalan motilitas yang ireversibel (Jones *et al.*, 1979; Alvarez *et al.*, 1987), selain itu ada hubungan antara penurunan kemampuan fusi spermatozoa – oosit dengan terdeteksinya ROS (Aitken *et al.*, 1989). Dampak negatif dari ROS ini akhirnya akan berakibat menurunkan kualitas sperma bahkan dapat menjadi penyebab infertilitas pada pria.

Sebenarnya sperma memiliki sistem perlindungan terhadap ROS yaitu adanya anti oksidan endogen yang terdapat pada sel-sel sebagai sistem enzim yang meredam dampak negatif dari ROS agar tidak terjadi kerusakan intra seluler yang ditimbulkannya, tetapi dengan terdeteksinya ROS mencerminkan adanya ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan degradasi ROS. Dari hasil beberapa penelitian dilaporkan bahwa hal ini disebabkan karena adanya peningkatan produksi dari ROS, bukan karena menurunnya kemampuan sistem peredam atau perlindungannya (Zini *et al.*, 1993).

Kadar ROS pada sperma mempunyai korelasi negatif dengan volume sperma dan persentasi dari motilitas spermatozoa, serta mempunyai korelasi positif dengan kelainan morfologi dari spermatozoa manusia (Iwasaki, 1992).

Untuk menentukan kadar radikal bebas dapat langsung diketahui dari mengukur kadar ROS total di sperma dengan menggunakan alat chemiluminometer atau alat Beta Counter.

2.3 Pentoksifilin

Pentoksifilin (*1- (5-oxohexyl) - 3, 7 dimethylxanthin*) (Gambar 2.3) adalah derivat metilxantin seperti kafein dan teofilin, tetapi mempunyai masa kerja lebih lama dan kelarutannya di dalam air lebih besar (Aparicio *et al.*, 1980). Pentoksifilin digunakan pada penelitian ini karena selain secara *in-vitro* dapat meningkatkan motilitas, juga dapat bertindak sebagai anti oksidan karena dapat menekan dan menurunkan produksi ROS (Gavella *et al.*, 1991 ; Yovich, 1993). Selain itu pentoksifilin juga telah dipergunakan untuk mengobati kelainan- kelainan fertilitas pria dengan dosis 3 kali 400 – 600 mg per hari per oral selama 3 – 6 bulan

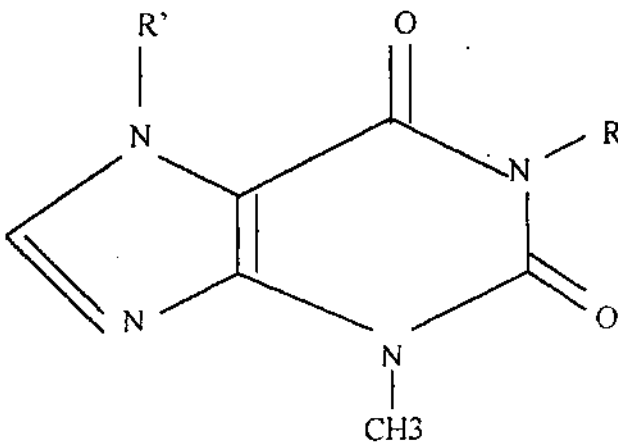
(Schill, 1995), alasannya karena pentoksifilin dapat memperbaiki mikrosirkulasi yang diduga ikut berperan dalam proses spermatogenesis.

Mekanisme lain dari pentoksifilin untuk dapat meningkatkan motilitas dan aktifitas metabolisme spermatozoa adalah dengan cara menghambat kerja enzim fosfodiesterase, sehingga terjadi peningkatan kadar *Cyclic-AMP* (c-AMP) intraseluler. C-AMP yang terbentuk dari ATP akan mengaktifkan protein kinase-A, sehingga terjadi fosforilasi protein, dan kemudian menyebabkan peningkatan motilitas (Cummins *et al.*, 1993 ; Jayaprakash *et al.*, 1997). Selain itu mekanisme stimulasi pentoksifilin terhadap motilitas dan masa aktif spermatozoa adalah dengan cara memacu masuknya ion Ca ekstra seluler ke dalam sel, sehingga menstimulasi adenilat siklase untuk terikat pada membran yang kemudian akan menginduksi c - AMP, dan ini akan menyebabkan peningkatan konsentrasi c-AMP intra seluler (Wang *et al.*, 1993 ; Mbizvo, 1993).

Mekanisme kerja pentoksifilin untuk menurunkan dan menekan produksi ROS adalah dengan cara sebagai *radical scavenger*, yaitu memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas atau ROS, sehingga terjadi ikatan elektron berpasangan yang stabil dan tidak bersifat reaktif lagi. Terjadinya pemberian elektron tersebut didasari oleh mekanisme sebagai berikut, yaitu pentoksifilin yang merupakan derivat dari metilxantin memiliki **gugus metil** yang mempunyai sifat sebagai pendorong elektron sehingga timbul resonansi pada pentoksifilin. Karena adanya dorongan-dorongan ini, maka akan terlepas satu elektron pada bagian terluarnya.

Berdasarkan beberapa laporan diketahui bahwa pentoksifilin dapat meningkatkan motilitas spermatozoa dengan konsentrasi antara 1,0 - 7,5 mM , tetapi pada konsentrasi 8,0 mM motilitas spermatozoa justru menurun (Moohan *et al.*, 1993).

Dari hasil penelitian Tersik *et al* (1992) dan Pang *et al* (1993), dilaporkan bahwa setelah medium dibersihkan dari pemberian pentoksifilin, ternyata efek stimulannya terhadap motilitas spermatozoa masih dapat berlangsung kurang lebih 3 - 4 jam pada sampel semen normospermia dan kurang lebih 2 jam pada sampel semen astenozoospermia.



Gambar 2. Struktur pentoksifilin dan derivat metilxantin lainnya.
 Pentoksifilin : R : $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{COCH}_3$ dan $\text{R}' = \text{CH}_3$;
 Kafein : R = CH_3 dan $\text{R}' = \text{CH}_3$;
 Teofilin : R = CH_3 dan $\text{R}' = \text{H}$.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Motilitas spermatozoa normal, dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu : faktor endoden antara lain kematangan spermatozoa, morfologi ideal, sel yang utuh, membran yang stabil, pola gerakan lurus ke depan, spesies oksigen reaktif (ROS), cukup tersedianya energi; sedangkan faktor eksogen antara lain pH dan suhu ideal, plasma sperma ideal, ion-ion anorganik, radiasi, serta ROS yang berasal dari luar.

Tingginya spesies oksigen reaktif pada sperma sering dikaitkan dengan gangguan fungsi spermatozoa yang merupakan salah satu penyebab infertilitas pada pria. Kemampuannya melakukan peroksidasi lemak tidak jenuh dari plasma membran selain dapat menyebabkan gangguan motilitas, juga berkurangnya viabilitas, dan menurunnya kemampuan fusi spermatozoa dan oosit yang mengakibatkan gangguan fungsi reproduksi dari spermatozoa.

Salah satu usaha untuk memperbaiki kualitas spermatozoa adalah dengan menambahkan pentoksifilin ke dalam plasma sperma atau medium spermatozoa, karena pemberian pentoksifilin secara *in vitro* diharapkan dapat menurunkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dengan cara sebagai *radical scavenger* yaitu memberikan elektronnya kepada spesies oksigen reaktif, sehingga terjadi ikatan yang stabil dan tidak reaktif lagi. Disamping itu pentoksifilin diharapkan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa dengan cara menghambat kerja enzim fosfodiesterase sehingga terjadi peningkatan c-AMP intra seluler.

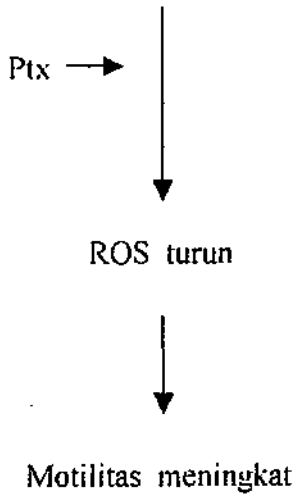
Berdasarkan beberapa laporan penelitian diketahui bahwa pentoksifilin dapat meningkatkan motilitas spermatozoa dengan konsentrasi antara 1,0 – 7,5 mM pada sampel normospermia, sedangkan pada astenozoospermia 3,6 mM (1 mg/ml) pentoksifilin secara signifikan dapat meningkatkan seluruh parameter motilitas spermatozoa yang diperiksa dengan CASA dan jumlah spermatozoa yang mengalami hiperaktivasi. Tetapi pada konsentrasi 8,0 mM motilitas spermatozoa justru menurun (Moohan *et al.*, 1993).

Untuk mengetahui pengaruh pentoksifilin agar dapat meningkatkan motilitas spermatozoa melalui penurunan spesies oksigen reaktif, pada penelitian ini digunakan pentoksifilin dengan dosis berbeda yaitu 3,6 mM, 7,2 mM, dan 10 mM yang diberikan pada sampel penderita infertil dengan gangguan motilitas maupun penderita infertil dengan motilitas spermatozoa normal.

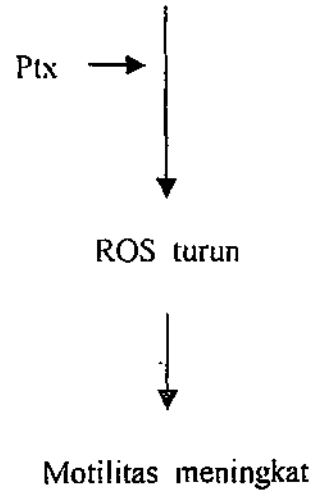
3.2 Hipotesis

1. Pemberian pentoksifilin *in vitro* dapat meningkatkan motilitas spermatozoa manusia.
2. Pemberian pentoksifilin *in vitro* dapat menurunkan spesies oksigen reaktif di sperma manusia.
3. Penurunan spesies oksigen reaktif sperma dapat meningkatkan motilitas spermatozoa manusia.

Pria infertil dengan motilitas rendah
(ROS tinggi)



pria infertil dengan motilitas normal
(ROS N / tinggi)



Gambar 3. Kerangka Koseptual Penelitian

BAB 4

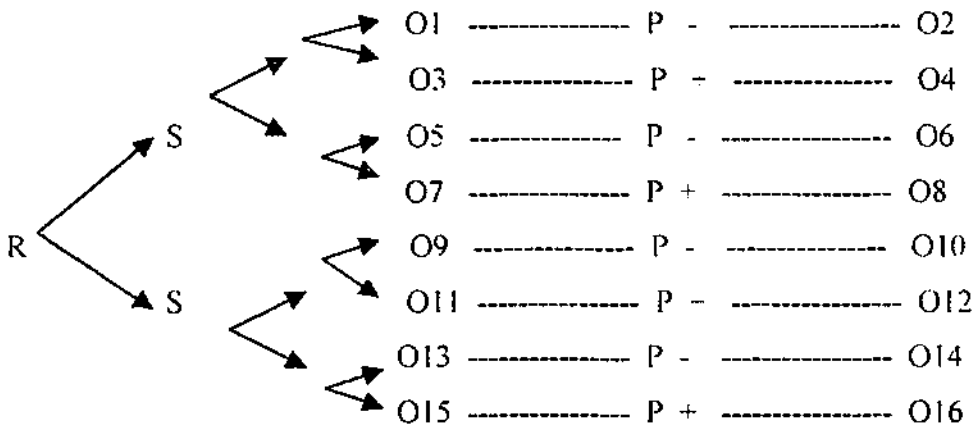
METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental murni yang dilakukan di laboratorium.

4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *"The Randomized Extended Pre test - Post test Controlled Group Design"*.



R : Random

P : Perlakuan

O1 - O2 : Pre dan Post test kelompok motilitas rendah sebagai kontrol

O3 - O4 : Pre dan Post test kelompok motilitas rendah dengan Ptx 3,6 mM

O5 - O6 : Pre dan Post test kelompok motilitas rendah dengan Ptx 7,2 mM

O7 - O8 : Pre dan Post test kelompok motilitas rendah dengan Ptx 10 mM

O9 - O10 : Pre dan Post test kelompok motilitas normal sebagai kontrol

O11-O12 : Pre dan Post test kelompok motilitas normal dengan Ptx 3,6 mM

O13-O14 : Pre dan Post test kelompok motilitas normal dengan Ptx 7,2 mM

O15-O16 : Pre dan Post test kelompok motilitas normal dengan Ptx 10 mM

4.3 Tempat Penelitian

Pemeriksaan kualitas sperma dilakukan di laboratorium infertilitas di rumah sakit Dr. Sutomo Surabaya.

Penimbangan dan penyiapan reagen- reagen dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

4.4 Populasi dan Sampel Penelitian

4.4.1 Populasi Penelitian

Untuk populasi penelitian digunakan pengambilan sampel sperma secara acak dari pria yang berkonsultasi ke Poli Infertilitas RS. Dr. Soetomo yang sesuai dengan kriteria WHO 1992 (Tabel 2.1) untuk normozoospermia dan (Tabel 2.2) untuk astenozoospermia.

TABEL 2.1 Daftar nilai normal menurut kriteria WHO 1992 (p.44)

Volume	$\geq 2,0$ ml
pH	7,2 – 8,0
Jumlah spermatozoa/ml	≥ 20 juta spermatozoa / ml ; 40 juta / ejakulat
Motilitas	≥ 25 % kategori a atau ≥ 50 % kategori a + b a : bergerak cepat dan lurus ke muka b : bergerak lambat atau sulit maju lurus atau bergerak tidak lurus
Morfologi	≥ 30 % bermorfologi normal
Sel leukosit	< 1 juta / ml

TABEL 2.2 Daftar nilai oligoasteno teratozoospermia (WHO, 1992,p.45)

Oligozoospermia	konsentrasi spermatozoa < 20 juta/ml
Astenozoospermia	kategori a dan b $\rightarrow < 50$ %
Teratozoospermia	spermatozoa dengan morfologi normal < 30 %

4.4.2 Sampel Penelitian

Berdasarkan rumus Lameschow *et al.* 1990 : $(t-1)(r-1) \geq 15$

Bila jumlah treatment (t) / perlakuan disini ada 4, maka diperoleh jumlah replikasi (r) = 6, sehingga total jumlah sampel yang diperlukan ≥ 12 orang.

Pada penelitian ini diambil subyek penelitian adalah 16 orang, yaitu 8 pria penderita infertil dengan kriteria motilitas spermatozoa rendah (astenozoospermia), dan 8 pria infertil dengan motilitas spermatozoa normal (normozoospermia).

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Tergantung (*Dependent Variable*)

Variabel tergantung pada penelitian ini motilitas spermatozoa.

4.5.2 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pentoksifilin.

4.5.3 Variabel Antara (*Intervening Variable*)

Variabel antara pada penelitian ini adalah kadar ROS dalam sperma.

4.6 Definisi Operasional Variabel

4.6.1 Variabel Tergantung

Motilitas spermatozoa adalah kemampuan gerak dari spermatozoa, dinyatakan secara semi subyektif. Penilaiannya menggunakan mikroskop cahaya, dinyatakan dalam persentasi, dengan jumlah keseluruhan 100 dan diklasifikasikan sebagai berikut :

- a : gerak maju lurus dan cepat
- b : gerak lambat atau bergerak tidak lurus
- c : gerak di tempat atau tidak maju
- d : tidak bergerak

Jika kategori $a \geq 25\%$ atau $a + b \geq 50\%$, dinyatakan normozoospermia

Jika kategori $a \leq 25\%$ atau $a + b \leq 50\%$, dinyatakan astenozoospermia

4.6.2 Variabel Bebas

Pentoksifilin, diberikan secara *in vitro* dengan dosis 3,6 mM, 7,2 mM, dan 10 mM yang ditambahkan ke dalam sampel sperma dalam bentuk larutan.

4.6.3 Variabel Antara

Radikal bebas adalah atom, molekul atau ion yang memiliki elektron yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas tersebut tidak stabil dan dapat berdampak negatif terhadap membran, protein maupun DNA.

4.7 Bahan dan Alat-alat yang Digunakan

Pentoksifilin (Sigma), Horseradish peroxidase (Sigma), Luminol (Sigma), Dimetil Sulfoksid (DMSO), kamar hitung Makler, Haemocytometer "improved" Neubauer, mikroskop cahaya, Liquid Scintillation Counter dari Rackbeta (Beta Counter), inkubator 37°C, stirer, mikropipet (5 - 50 mikroliter dan 200 mikroliter), obyek gelas dan cover, timbangan mikrogram elektronik, 200 tabung Eppendorf (1,5 cc), 100 pipet blue tipe, 400 pipet yellow tipe, rak, refrigerator.

4.8 Prosedur Penelitian

Ejakulat dari 12 orang pasien yang diperoleh dengan cara masturbasi setelah abstinensi selama 3 hari dan tidak lebih lama dari 7 hari ditampung dalam botol plastik yang bermulut lebar, bersih, dan non toksik, yang diberi label dengan nama pasien, tanggal pengumpulan, dan lamanya abstinensi.

Sebelum diperiksa siapan harus diaduk dengan baik dalam plastik penampungnya agar homogen. Siapan ejakulat mula-mula dinilai dengan mengamati penampilannya pada suhu kamar. Siapan normal tampak putih kelabu homogen dan mencair (likuefaksi) dalam 60 menit pada suhu kamar.

Setelah mengalami likuifaksi sempurna dari tiap sampel sperma dibagi dalam 4 tabung eppendorf, dengan volume masing-masing tabung 200 ul yang diambil dengan mikropipet, kemudian dilakukan pengukuran kualitas sperma yaitu motilitas, konsentrasi (juta/ml), morfologi dan kadar ROS sperma. Pada penelitian ini pemeriksaan motilitas dan ROS dilakukan dua kali yaitu pada saat awal dan sesudah inkubasi selama 30 menit pada suhu 37^o C tanpa atau dengan pemberian pentoksifilin.

4.8.1 Analisis kualitas Sperma menurut WHO

1. Konsentrasi Sperma

Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan memakai Hemositometer Improved Neubauer, di bawah mikroskop cahaya, dalam satuan per ml sperma. Prosedur pencacahan (WHO) : setelah mengalami likuifaksi sempurna, sperma dihisap dengan pipet eritrosit sampai angka 0,5. Kemudian ke dalam pipet tersebut dihisap larutan pengencer oerto toluidin samapi angka 11, dikocok sampai rata dan dидiamkan beberapa menit. Dua tetes pertama dibuang, kemudian diteteskan dalam kamar hitung, ditutup dengan gelas penutup. Jumlah spermatozoa dicacah dengan memakai pembesaran 400 X, pada 25 kotak besar (masing-masing terdiri 16 kotak kecil). Hasilnya dikalikan 200.000.



2. Motilitas

Motilitas spermatozoa dianalisa dengan volume sperma lebih kurang 10 ul yang diambil dengan mikropipet, yang diteteskan pada obyek gelas dan ditutup dengan gelas penutup, diperiksa dengan pembesaran 400 X. Diperiksa dari 100 spermatozoa pada 4 - 6 lapangan pandang, dikategorikan dalam :

Kategori a : bergerak cepat dan lurus ke depan

Kategori b : bergerak lambat atau sulit maju lurus atau bergerak tidak lurus

Kategori c : bergerak di tempat atau tidak maju

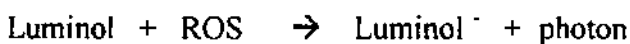
Kategori d : tidak bergerak

Pemeriksaan pada setiap sampel dilakukan dua kali dengan cara yang sama. Hasil keduanya diambil rata-rata, dengan syarat perbedaan hasil tidak melebihi 10 %. Apabila lebih dari 10 % dilakukan pemeriksaan ketiga, yang kemudian hasil dari ketiga pemeriksaan dirata-rata. Jika jumlah spermatozoa motil kurang dari 50 %, maka dipakai presentasi sperma immotil (kategori d).

Pada penelitian ini pemeriksaan diamati dua kali yaitu pada saat awal dan sesudah diinkubasi selama 30 menit dengan tanpa atau pemberian pentoksifilin.

4.8.2 Pengamatan ROS

ROS yang diukur adalah ROS total yang ada di sperma. Pengukuran ROS dilakukan dengan menggunakan alat Beta Counter, dimana sinar Beta merupakan pembandingnya dengan prinsip semiluminessensi dan dibantu dengan penambahan zat luminol dengan mekanisme kerja sebagai berikut :



Photon inilah yang akan diukur oleh alat tersebut (Gagnon C, 1992). Pengukuran ROS bisa dilakukan selama 1, 5 dan 10 menit dengan dibantu penambahan zat lain seperti peroxidase (pengamatan 1 menit), FMLP (5 menit), PMA (10 menit).

Pada penelitian ini pengukuran ROS dilakukan dengan pengamatan selama 1 menit, sehingga jenis ROS yang terukur adalah H_2O_2 (Hidrogen peroksida).

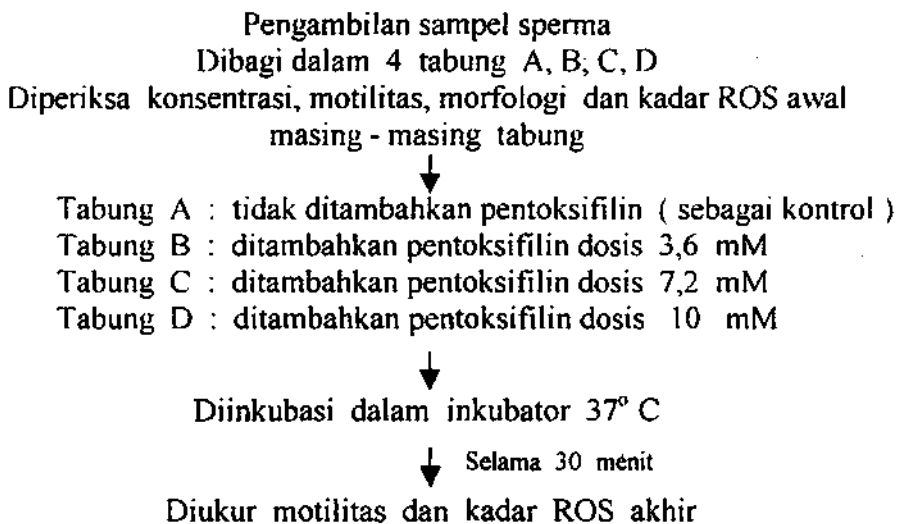
Tiap tabung berisi 200 ul sperma + 8 ul peroxidase + 8 ul luminol → kemudian dimasukkan alat Beta Counter dan diamati selama 1 menit. Setelah diperiksa motilitas dan ROS kemudian diinkubasi 30 menit dan diperiksa kembali. Sesudah semua sampel dievaluasi kadar ROS dan motilitasnya, maka dibagi menjadi 2 kelompok yaitu sampel dengan motilitas rendah dan sampel dengan motilitas normal yang selanjutnya dianalisa statistik .

4.9 Analisis Hasil Penelitian

Hasil penelitian dianalisis dengan uji Anova yang sebelumnya dilakukan terlebih dahulu :

1. Analisa Deskriptif, uji Normalitas, dan uji Homogenitas
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian perlakuan dianalisis dengan uji t - berpasangan, uji regresi antar variabel.

4.10 Kerangka Kerja



Gambar 4. Kerangka operasional penelitian

BAB 5**HASIL PENELITIAN dan ANALISIS DATA****5.1. % Motilitas dan ROS sebelum dan sesudah perlakuan**

Motilitas dan ROS pada kelompok astenozoospermia dan normozoospermia sebelum perlakuan, menunjukkan tidak ada perbedaan. Hasil analisa menggunakan rata-rata dan simpangan baku terdapat pada tabel 3.1 - 3.2.

Tabel 3.1 Motilitas ab dan ROS Awal Menurut Grup Perlakuan dan Pasien

Perlakuan	Grup Pasien	
	Astenozoospermia	Normozoospermia
Kontrol Mot ab (%) awal	39 ± 12	74 ± 10
ROS (CPM/jt sp) awal	0,53 ± 0,19	0,66 ± 0,43
Ptx 3,6 Mot ab (%) awal	38 ± 13	69 ± 9
ROS (CPM/jt sp) awal	0,54 ± 0,19	0,74 ± 0,49
Ptx 7,2 Mot ab (%) awal	35 ± 12	68 ± 8
ROS (CPM/jt sp) awal	0,56 ± 0,19	0,75 ± 0,49
Ptx 10 Mot ab (%) awal	36 ± 13	70 ± 6
ROS (CPM/jt sp) awal	0,51 ± 0,15	0,53 ± 0,33

Berdasarkan hasil *ROC Curve* kadar ROS populasi sampel penelitian yang mempunyai nilai *cut off* = 0,5 CPM / jt sp, maka rata-rata kadar ROS awal kelompok pasien infertil dengan motilitas spermatozoa rendah (astenozoospermia) lebih tinggi dari batas normal ($x = 0,53$), juga kelompok pasien infertil dengan motilitas normal (normospermia) ($x = 0,66$). (Lampiran 2)

Hasil deskripsi rata-rata motilitas awal kelompok normospermia hampir dua kali motilitas rata-rata kelompok astenozoospermia.

Tabel 3.2 Motilitas ab dan ROS Akhir Menurut Grup Perlakuan dan Pasien

Perlakuan		Grup Pasien			
		Astenozoospermia		Normospermia	
Kontrol	Mot ab (%) akhir	42	± 14	70	± 11
	ROS (CPM/jt sp) akhir	0,59	± 0,19	0,62	± 0,75
Ptx 3,6	Mot ab (%) akhir	56	± 12	75	± 9
	ROS (CPM/jt sp) akhir	0,38	± 0,16	0,40	± 0,27
Ptx 7,2	Mot ab (%) akhir	62	± 13	78	± 9
	ROS (CPM/jt sp) akhir	0,31	± 0,13	0,35	± 0,24
Ptx 10	Mot ab (%) akhir	55	± 14	75	± 9
	ROS (CPM/jt sp) akhir	0,30	± 0,06	0,35	± 0,23

5.1 Uji Normalitas Distribusi

Uji Normalitas Distribusi dilakukan lebih dulu, untuk menentukan statistik yang dipakai apakah statistik parametrik atau non parametrik. Hasil uji Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia dapat dilihat pada tabel 4.1 dan 4.2.

Tabel 4.1 Hasil Uji Distribusi Normal Kelompok Perlakuan Grup Astenozoospermia

	P	
	Mot ab (%) awal	ROS (CPM/jt sp) awal
Kontrol	0,773	0,695
Ptx 3,6	0,652	0,872
Ptx 7,2	0,721	0,921
Ptx 10	0,285	0,638

Hasil uji Normalitas Distribusi Astenozoospermia kelompok kontrol maupun kelompok yang diberi pentoksifilin tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Ini menunjukkan distribusi semua kelompok ini tidak berbeda dengan distribusi normal. (Lamp.3)

Tabel 4.2 Hasil Uji Distribusi Normal Kelompok Perlakuan Grup Normospermia

	p	
	Mot ab (%) awal	ROS (CPM/jt sp) awal
Kontrol	0,884	0,502
Ptx 3,6	0,924	0,944
Ptx 7,2	0,874	0,876
Ptx 10	0,944	0,962

Hasil uji Normalitas Distribusi Normospermia, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok yang diberi pentoksifilin tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Ini menunjukkan distribusi semua kelompok pada Normospermia adalah normal. (lampiran 4)

5.3 Uji Homogenitas Data

Hasil uji Homogenitas Data pada Grup Astenozoospermia dan Normospermia dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan 5.2.

Tabel 5.1 Uji Homogenitas Data pada Grup Astenozoospermia

	Anova (p)
Mot ab awal Antar Grup & Dalam Grup	0,912
ROS awal Antar Grup & Dalam Grup	0,898

Hasil uji menunjukkan data awal pada Astenozoospermia adalah homogen.

(Lampiran 5)

Tabel 5.2 Uji Homogenitas Data pada Grup Normozoospermia

	Anova (p)
Mot ab awal Antar Grup & Dalam Grup	0,618
ROS awal Antar Grup & Dalam Grup	0,211

Hasil uji menunjukkan data awal pada Grup Normozoospermia adalah homogen

(Lampiran 6)

5.4. Motilitas dan ROS Spermatozoa

5.4.a Hasil analisa motilitas dan ROS awal - akhir pada kelompok kontrol dapat dilihat pada Tabel 6.1.

Tabel 6.1. Motilitas Spermatozoa dan Kadar ROS pada Awal-Akhir Kelompok Kontrol di Grup Astenoospermia dan Normozoospermia

Jenis pemeriksaan	Keadaan awal	Keadaan akhir	t - test	p
Motilitas (a + b) (%)	AT 39,38 ± 12,13	42,00 ± 13,98	1,737	0,126
	N 73,63 ± 9,88	69,88 ± 11,33	1,437	0,194
Kadar ROS (CPM/jt sp)	AT 0,53 ± 0,19	0,59 ± 0,23	1,410	0,201
	N 0,66 ± 0,43	0,62 ± 0,75	0,161	0,876

Motilitas spermatozoa

Persentase spermatozoa yang motil pada kelompok kontrol astenozoospermia, terjadi peningkatan, tetapi berdasarkan uji t - berpasangan tidak bermakna ($p = 0,126$). Sedangkan pada normozoospermia, justru terjadi penurunan yang tidak bermakna ($p = 0,194$). (Lampiran 7 & 11)

Kadar ROS Sperma

Kadar ROS kelompok kontrol astenozoospermia, terjadi peningkatan yang tidak bermakna ($p = 0,201$) dari $0,53 \pm 0,19$ CPM/jt sp menjadi $0,59 \pm 0,23$ CPM / jt sp, sedangkan pada normozoospermia, terjadi penurunan yang tidak bermakna ($p = 0,876$) dari $0,66 \pm 0,43$ CPM/jt spt menjadi $0,62 \pm 0,75$ CPM/jt spt. (Lampiran 7 & 11)

5.4.b Hasil analisa persentase motilitas spermatozoa dan kadar ROS awal - akhir kelompok pemberian pentoksifilin 3,6 mM dapat dilihat pada Tabel 6.2.

Tabel 6.2 Motilitas Spermatozoa dan Kadar ROS Awal - Akhir Kelompok Pemberian Pentoksifilin 3,6 mM pada Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia

Jenis pemeriksaan	Keadaan awal	Keadaan akhir	T - test	p	
Motilitas a + b (%)	AT	$37,63 \pm 13,28$	$56,13 \pm 11,62$	4,093	0,005
	N	$69,38 \pm 9,12$	$75,25 \pm 8,53$	1,837	0,109
Kadar ROS (CPM/jt sp)	AT	$0,54 \pm 1,98,$	$0,38 \pm 0,16$	4,340	0,003
	N	$0,74 + 0,49$	$0,40 + 0,27$	2,328	0,053

Motilitas spermatozoa

Persentase spermatozoa yang motil kelompok astenozoospermia dengan pemberian pentoksifilin 3,6 mM. terjadi peningkatan yang sangat bermakna ($p = 0,005$), sedangkan pada normozoospermia juga meningkat, tetapi tak bermakna ($p = 0,109$). (Lampiran 8 & 12)

Kadar ROS sperma

Kadar ROS kelompok astenozoospermia dengan pemberian pentoksifilin 3,6 mM, mengalami penurunan yang sangat bermakna ($p = 0,003$) dari $0,54 \pm 1,98$ CPM /jt sp menjadi $0,38 \pm 0,16$ CPM /jt spt , sedangkan pada normozoospermia mengalami penurunan tetapi tidak bermakna ($p = 0,053$) dari $0,74 \pm 0,49$ CPM /jt sp menjadi $0,40 \pm 0,27$ CPM/jt sp .

(Lampiran 8 & 12)

5.4.c Hasil analisa motilitas spermatozoa dan kadar ROS awal - akhir kelompok pemberian pentoksifilin 7,2 mM dapat dilihat pada Tabel 6.3.

Tabel 6.3 Motilitas Spermatozoa dan Kadar ROS Awal - Akhir Kelompok Pemberian Pentoksifilin 7,2 mM pada Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia

Jenis pemeriksaan	Keadaan awal	Keadaan akhir	T - Test	p	
Motilitas a + b (%)	AT	$35,13 \pm 12,46$	$61,50 \pm 12,56$	6,046	0,001
	N	$68,38 \pm 7,61$	$77,63 \pm 8,93$	3,692	0,008
Kadar ROS (CPM/jt sp)	AT	$0,56 \pm 0,19$	$0,31 \pm 0,13$	5,970	0,001
	N	$0,75 \pm 0,49$	$0,35 \pm 0,24$	2,738	0,029

Motilitas spermatozoa

Persentase spermatozoa yang motil kelompok astenozoospermia dengan pemberian pentoksifilin 7,2 mM. terjadi peningkatan yang sangat bermakna ($p = 0,001$), juga normozoospermia sangat bermakna ($p = 0,008$).
(Lampiran 9 dan 13)

Kadar ROS Sperma

Kadar ROS kelompok astenozoospermia dengan pemberian pentoksifilin 7,2 mM, mengalami penurunan yang sangat bermakna ($p = 0,001$) dari $0,56 \pm 0,19$ CPM /jt sp menjadi $0,31 \pm 0,13$ CPM /jt sp, juga normozoospermia menurun bermakna ($p = 0,029$) dari $0,75 \pm 0,49$ CPM/jt sp menjadi $0,35 \pm 0,24$ CPM/jt sp.
(Lampiran 9 dan 13)

5.4.d Hasil analisa persentase motilitas spermatozoa dan kadar ROS awal - akhir kelompok pemberian pentoksifilin 10 mM dapat dilihat pada Tabel 6.4.

Tabel 6.4 Motilitas Spermatozoa dan Kadar ROS Awal - Akhir Kelompok Pemberian Pentoksifilin 10 mM pada Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia

Jenis pemeriksaan		Keadaan awal	Keadaan akhir	T - Test	p
Motilitas a + b (%)	AT	$35,88 \pm 13,28$	$55,00 \pm 13,87$	5,645	0,001
	N	$70,00 \pm 6,23$	$74,50 \pm 8,64$	2,909	0,023
Kadar ROS (CPM/jt sp)	AT	$0,51 \pm 0,15$	$0,30 \pm 0,06$	4,800	0,002
	N	$0,53 \pm 0,33$	$0,35 \pm 0,23$	3,424	0,011

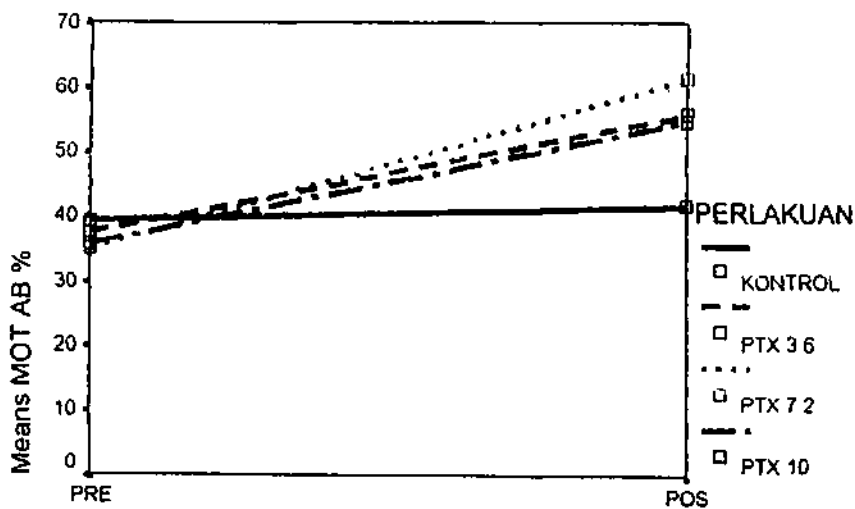
Motilitas spermatozoa

Persentase motilitas spermatozoa yang motil kelompok astenozoospermia dengan pemberian pentoksifilin 10 mM, terjadi peningkatan yang sangat bermakna ($p = 0,001$), juga normozoospermia meningkat bermakna ($p = 0,023$). (Lampiran 10 & 14)

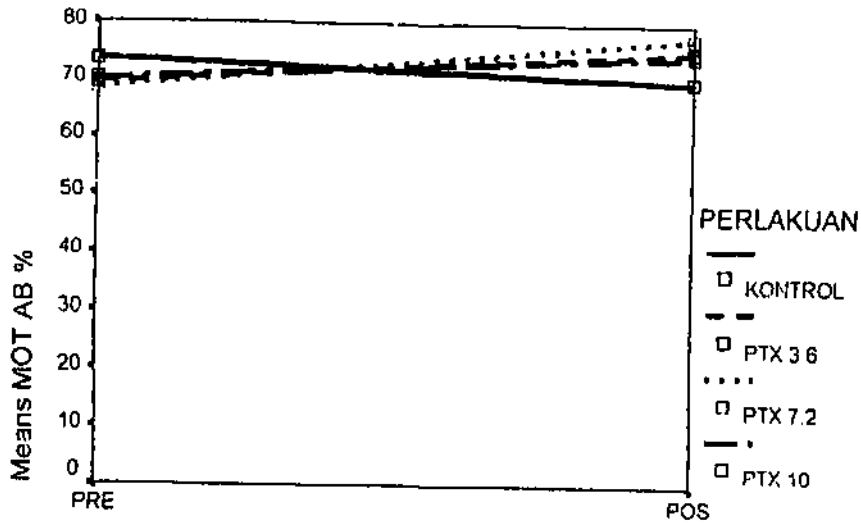
Kadar ROS Sperma

Kadar ROS kelompok astenozoospermia dengan pemberian pentoksifilin 10 mM mengalami penurunan yang sangat bermakna ($p = 0,002$) dari $0,51 \pm 0,15$ CPM/jt sp menjadi $0,30 \pm 0,0$ CPM/jt sp, dan pada normozoospermia juga menurun bermakna ($p = 0,011$) dari $0,53 \pm 0,33$ CPM/jt sp menjadi $0,35 \pm 0,23$ CPM/jt sp.

(Lampiran 10 & 14)



Gambar 5.1 Perubahan motilitas ab sebelum ke sesudah perlakuan pada Pasien infertil Grup Astenozoospermia



Gambar 5.2 Perubahan motilitas ab sebelum ke sesudah perlakuan pada Pasien infertil Grup Normozoospermia

5.5 Uji Beda perubahan setelah perlakuan antar kelompok dan antar grup perlakuan dengan Univariate Analysis of Variance

Untuk mengetahui apakah perubahan motilitas dan ROS pada saat sebelum dan sesudah perlakuan, berbeda pada astenozoospermia dan normozoospermia juga dengan antar kelompok perlakuan, dilakukan uji anava faktorial dengan univariate analysis of variance. Hasil analisa ini dapat dilihat pada Tabel 7.1 - Tabel 8.3.

Tabel 7.1 Perbedaan Motilitas Awal - Akhir Setelah Perlakuan pada Grup Astenozoospermia

Perlakuan	Perlakuan	p
Kontrol	Ptx 3,6	0,005
	Ptx 7,2	0,000
	Ptx 10	0,003
Ptx 3,6	Ptx 7,2	0,138
	Ptx 10	0,904
Ptx 7,2	Ptx 3,6	0,138
	Ptx 10	0,171
Ptx 10	Ptx 3,6	0,904
	Ptx 7,2	0,171

Berdasarkan uji univariate analysis of variance pada astenozoospermia, terdapat perbedaan yang bermakna hasil antar kelompok perubahan motilitas awal - akhir setelah perlakuan. (Lampiran 15)

Perubahan motilitas awal - akhir pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok pemberian pentoksifilin (dosis 3,6 mM; 7,2 mM dan 10 mM) terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$), tetapi di antara kelompok dosis pentoksifilin tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p \geq 0,05$). (Lampiran 15)

Tabel 7.2 Perbedaan Motilitas AB Awal - Akhir Setelah Perlakuan pada Grup Normozoospermia

Perlakuan	Perlakuan	p
Kontrol	Ptx 3,6	0,012
	Ptx 7,2	0,001
	Ptx 10	0,029
Ptx 3,6	Kontrol	0,012
	Ptx 7,2	0,355
	Ptx 10	0,704
Ptx 7,2	Kontrol	0,001
	Ptx 3,6	0,355
	Ptx 10	0,196
Ptx 10	Kontrol	0,029
	Ptx 3,6	0,704
	Ptx 7,2	0,196

Berdasarkan uji ini, pada **normospermia**, terdapat perbedaan perubahan spermatozoa motil awal - akhir yang bermakna pada antar kelompok setelah perlakuan. (Lampiran 16)

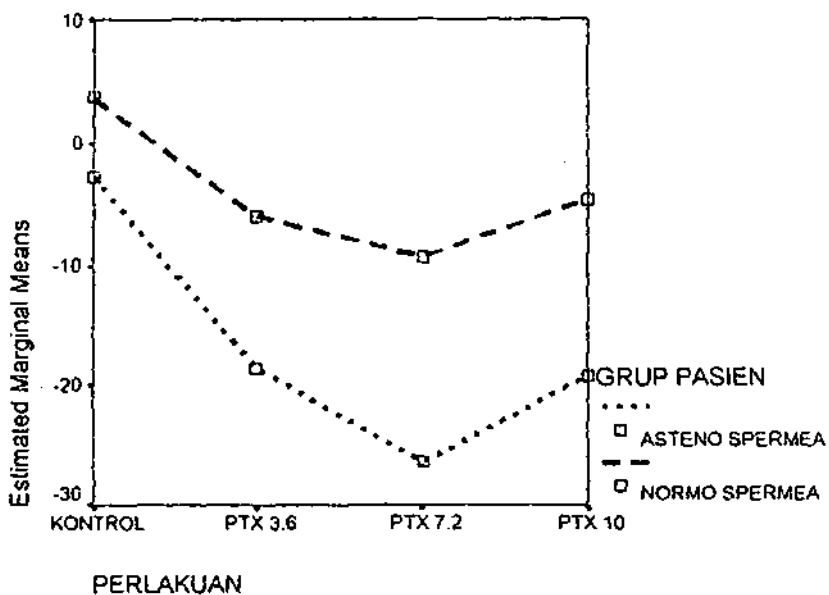
Perubahan motilitas awal - akhir pada kelompok kontrol dibandingkan kelompok pemberian pentoksifilin dosis 3,6 mM ; 7,2 mM dan 10 mM terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$).

Tabel 7.3 Perbedaan Motilitas Awal - Akhir Setelah Perlakuan pada Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia

Grup Pasien	Grup Pasien	p
Astenozoospermia	Normozoospermia	0,000
Normozoospermia	Astenozoospermia	0,000

Beda motilitas ab awal - akhir setelah perlakuan pada astenozoospermia dan normozoospermia, terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$).

(Lampiran 17) (Gambar 5.3)



Gambar 5.3 Perbedaan Motilitas AB Awal - Akhir Setelah Perlakuan Pada Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia

Tabel 8.1 Perbedaan ROS Awal - Akhir Setelah Perlakuan pada Grup Astenozoospermia

Perlakuan	Perlakuan	p
Kontrol	Ptx 3,6	0,000
	Ptx 7,2	0,000
	Ptx 10	0,000
Ptx 3,6	Kontrol	0,000
	Ptx 7,2	0,128
	Ptx 10	0,429
Ptx 7,2	Kontrol	0,000
	Ptx 3,6	0,128
	Ptx 10	0,143
Ptx 10	Kontrol	0,000
	Ptx 3,6	0,429
	Ptx 7,2	0,143

Berdasarkan uji univariate analysis of variance pada **astenozoospermia**, terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p \leq 0,01$) hasil antar kelompok perubahan ROS awal - akhir setelah perlakuan. (Lampiran 18)

Perubahan ROS awal - akhir kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok pemberian pentoksifilin dosis 3,6 mM ; 7,2 mM dan 10 mM terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,001$), tetapi di antara kelompok dosis pentoksifilin tidak terdapat perbedaan perubahan yang bermakna ($p \geq 0,05$). (Lampiran 18)

Tabel 8.2 Perbedaan ROS Awal - Akhir Setelah Perlakuan pada Grup Normozoospermia

Perlakuan	Perlakuan	p
Kontrol	Ptx 3,6	0,198
	Ptx 7,2	0,125
	Ptx 10	0,555
Ptx 3,6	Kontrol	0,198
	Ptx 7,2	0,794
	Ptx 10	0,477
Ptx 7,2	Kontrol	0,125
	Ptx 3,6	0,794
	Ptx 10	0,334
Ptx 10	Kontrol	0,555
	Ptx 3,6	0,477
	Ptx 7,2	0,334

Berdasarkan uji univariate analysis of variance pada grup normozoospermia, tidak terdapat perbedaan perubahan ROS awal - akhir setelah perlakuan yang bermakna ($p \geq 0,05$) pada hasil antar kelompok.

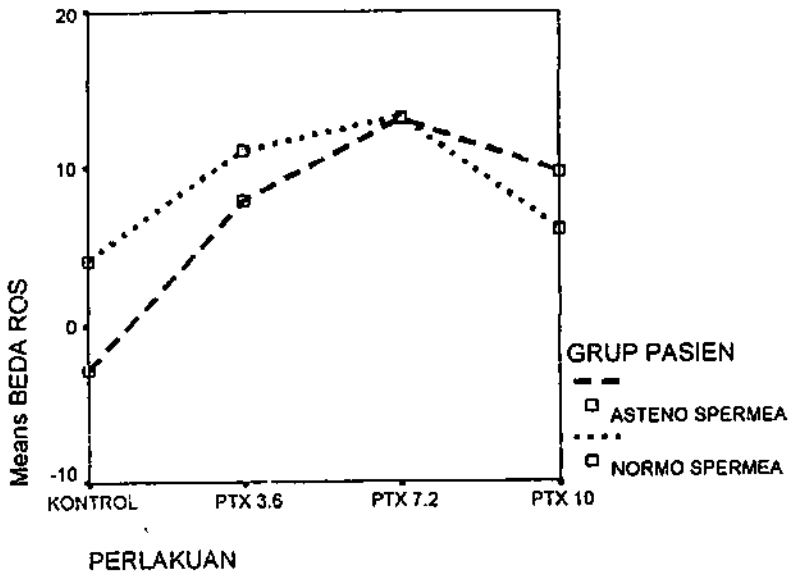
(Lampiran 19)

Tabel 8.3 Perbedaan ROS Awal - Akhir Setelah Perlakuan pada Grup Astenoospermia dan Normozoospermia

Grup Pasien	Grup Pasien	p
Astenoospermia	Normozoospermia	0,409
Normozoospermia	Astenoospermia	0,409

Beda ROS awal - akhir setelah perlakuan pada astenoospermia dan normozoospermia, tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p \geq 0,05$).

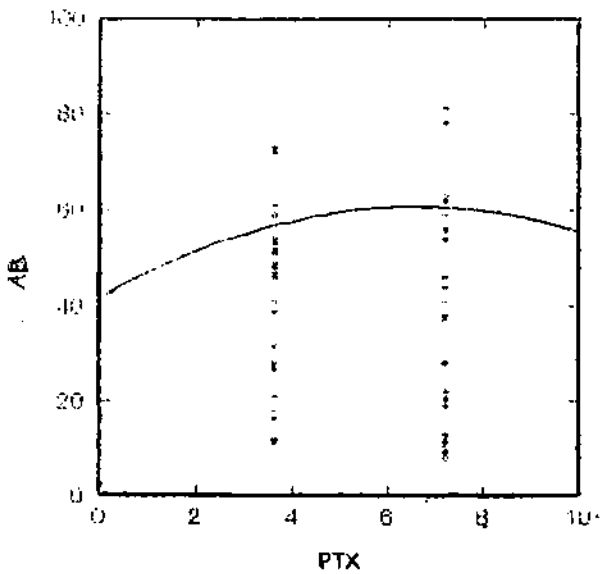
(Lampiran 20) (Gambar 6)



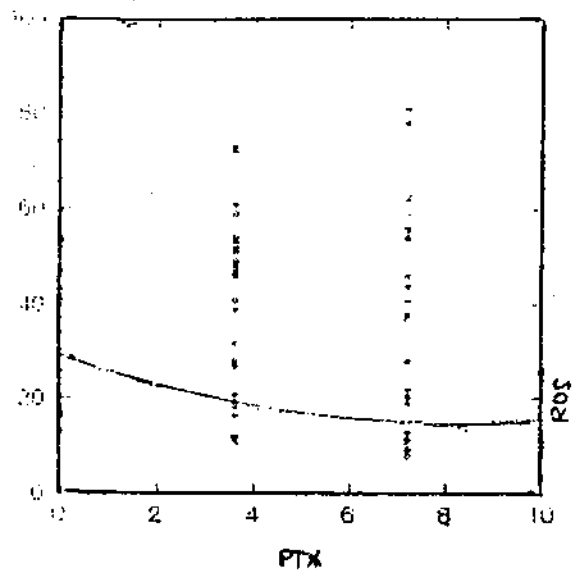
Gambar 6. Perbedaan ROS Awal - Akhir Setelah Perlakuan Pada Grup Astenozoospermia dan Normozoospermia

5.6 Hubungan Motilitas dan ROS dengan Dosis Pentoksifilin

5.6.a Hubungan Motilitas dan ROS dengan Dosis Pentoksifilin pada Grup Astenozoospermia



Gambar 7.1 Hubungan Mot ab - Dosis Ptx pada Astenozoospermia

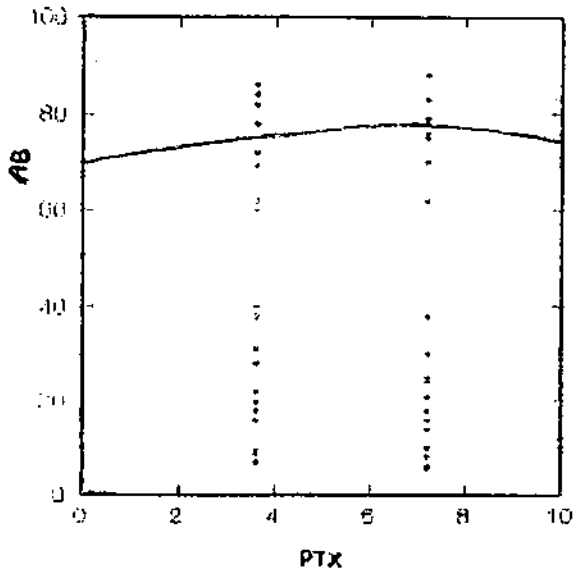


Gambar 7.2 Hubungan ROS - Dosis Ptx pada Astenozoospermia

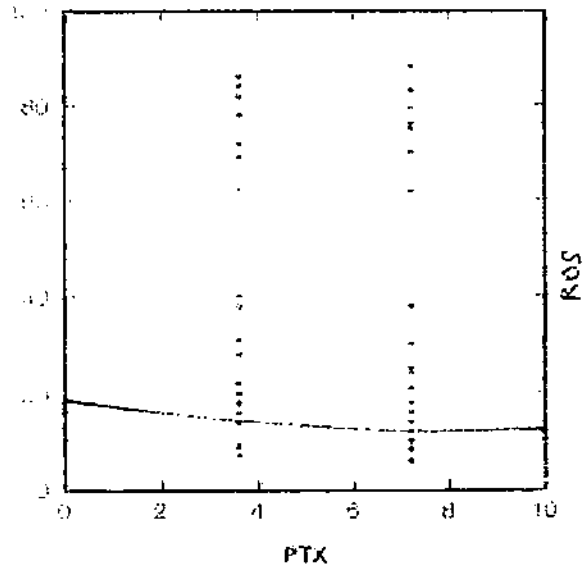
Pemberian pentoksifilin dengan dosis yang meningkat pada astenozoospermia, persentase motilitas juga meningkat, dengan peningkatan optimal pada pemberian 7,2 mM ($p = 0,001$).

Pemberian pentoksifilin dengan dosis yang meningkat, penurunan ROS juga makin besar, dengan penurunan optimal pada pemberian dosis 7,2 mM ($p = 0,001$).
(Lampiran 21 & 23)

5.6.b Hubungan Motilitas dan ROS dengan dosis pentoksifilin pada Grup Normozoospermia



Gambar 8.1 Hubungan Mot ab - Dosis Ptx pada Normozoospermia

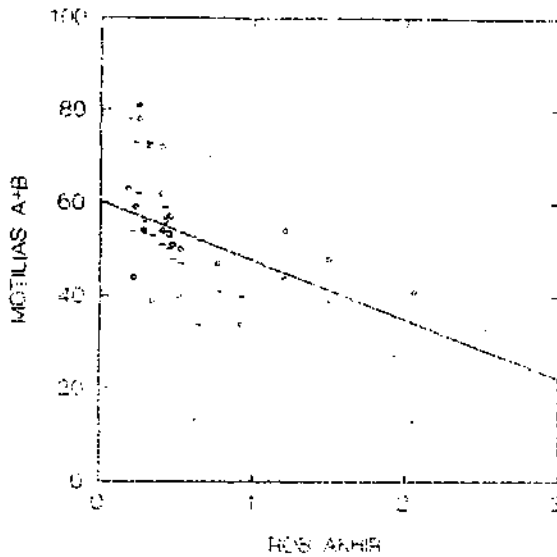


Gambar 8.2 Hubungan ROS - Dosis Ptx pada Normozoospermia

Pemberian pentoksifilin dengan dosis yang meningkat pada normozoospermia, persentase motilitas juga meningkat, dengan peningkatan yang optimal pada pemberian dosis 7,2 mM ($p = 0,008$).

Pemberian pentoksifilin dengan dosis yang meningkat, penurunan kadar ROS juga makin besar, dengan penurunan yang optimal pada pemberian dosis 10 mM ($p = 0,011$). (Lampiran 22 dan 24)

5.7 Korelasi Motilitas Spermatozoa (ab) dan Kadar ROS Sperma



Gambar 9 : Hubungan Regresi Motilitas AB pada Kadar ROS Akhir

Berdasarkan uji regresi diperoleh hasil bahwa bila ROS akhir meningkat akan menyebabkan penurunan motilitas ab, yang berarti pula penurunan kadar ROS akhir akan menyebabkan persentase spermatozoa yang motil akan meningkat.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Motilitas Spermatozoa

Persentase motilitas spermatozoa ab pada kelompok kontrol astenozoospermia, ada peningkatan yang tidak bermakna ($p = 0,126$), sedangkan pada kelompok yang diberi pentoksifilin 3,6 mM; 7,2 mM dan 10 mM meningkat sangat bermakna ($p=0,005$; $p=0,001$; $p=0,001$). Hal ini berarti pemberian pentoksifilin *in vitro* pada kelompok **astenozoospermia** dengan dosis 3,6 mM; 7,2 mM dan 10 mM dapat meningkatkan persentase spermatozoa yang motil.

Persentase motilitas spermatozoa ab pada kelompok kontrol normozoospermia, ada penurunan tak bermakna ($p=0,194$) dan pada kelompok yang diberi pentoksifilin 3,6 mM meningkat tak bermakna ($p=0,109$), sedangkan yang diberi dosis 7,2 mM dan 10 mM meningkat bermakna ($p=0,008$; $p=0,023$). Hal ini berarti pada **normozoospermia**, terjadi peningkatan persentase spermatozoa yang motil pada pemberian pentoksifilin *in vitro* dosis 7,2 mM dan 10 mM.

Berdasarkan uji *Univariate Analysis of Variance*, beda motilitas ab awal - akhir setelah perlakuan pada astenozoospermia dan normozoospermia **terdapat perbedaan** yang bermakna ($p=0,000$). Hal ini berarti pemberian pentoksifilin *in vitro* lebih bermakna dalam meningkatkan motilitas spermatozoa pada kelompok astenozoospermia.

Hubungan regresi motilitas $a + b$ pada kadar pentoksifilin menunjukkan bahwa peningkatan dosis pentoksifilin akan meningkatkan motilitas $a + b$.

6.2 ROS Sperma

Kadar ROS sperma pada kelompok kontrol astenozoospermia, meningkat tak bermakna ($p=0,201$), sedangkan kelompok yang diberi pentoksifilin 3,6 mM; 7,2 mM dan 10 mM terjadi penurunan yang sangat bermakna ($p=0,003$; $p=0,001$; $p=0,002$). Hal ini berarti pemberian pentoksifilin *in vitro* dengan dosis 3,6 mM; 7,2 mM dan 10 mM pada kelompok **astenozoospermia** dapat menurunkan ROS sperma.

Kadar ROS sperma kelompok kontrol dan kelompok yang diberi pentoksifilin dosis 3,6 mM pada grup normozoospermia, menurun tak bermakna ($p=0,876$; $p=0,053$), sedangkan kelompok yang diberi dosis 7,2 mM dan 10 mM terjadi penurunan yang bermakna ($p=0,029$; $p=0,011$). Hal ini berarti pemberian pentoksifilin *in vitro* dosis 7,2 mM dan 10 mM pada sampel kelompok **normozoospermia**, dapat menurunkan kadar ROS sperma.

Berdasarkan uji *Univariate Analysis of Variance*, beda ROS awal - akhir setelah perlakuan pada astenozoospermia dan normozoospermia **tidak terdapat perbedaan** yang bermakna ($p=0,409$). Hal ini berarti pemberian pentoksifilin *in vitro* dapat menurunkan kadar ROS sperma baik pada kelompok astenozoospermia maupun normozoospermia.

Hubungan regresi ROS akhir pada kadar pentoksifilin menunjukkan bahwa peningkatan dosis pentoksifilin akan menyebabkan ROS akhir menurun.

6.3 Korelasi Motilitas Spermatozoa (ab) dan Kadar ROS Sperma

Pentoksifilin dapat menurunkan ROS dan meningkatkan motilitas spermatozoa. Hubungan regresi motilitas $a + b$ pada kadar ROS akhir menunjukkan bahwa bila ROS akhir meningkat akan menyebabkan motilitas $a + b$ menurun, yang berarti pula penurunan ROS akhir akan menyebabkan motilitas $a + b$ meningkat.

Jadi pentoksifilin yang diberikan secara *in vitro* menyebabkan penurunan ROS sperma, dan kadar ROS yang turun akan meningkatkan motilitas spermatozoa.

motilitas a + b ← ROS akhir ← Pentoksifilin

Meningkatnya motilitas spermatozoa melalui modulasi penurunan ROS setelah diberi pentoksifilin, dapat dijelaskan melalui mekanisme sebagai berikut :

ROS (*Reactive Oxygen Species*) sebenarnya dalam jumlah kecil bermanfaat untuk melawan benda asing patogen, tetapi dalam jumlah berlebih (misalnya karena banyak lekosit di dalam sperma atau karena sebab yang lain) akan berakibat buruk bagi sel spermatozoa melalui mekanisme pada lipid, protein dan DNA. Mekanisme pada lipid yang merupakan komponen utama dari membran spermatozoa, akan terjadi peroksidasi lipid yang menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik (antara lain malondialdehida), yang dapat mengganggu motilitas dan integritas sel yang akhirnya bisa menyebabkan kematian sel spermatozoa. Mekanisme pada protein, yaitu ROS akan mengoksidasi protein yang tersusun atas beberapa asam amino, sehingga asam amino-asam amino yang penting untuk sintesa enzim-enzim yang diperlukan bagi kelangsungan hidup sel menjadi rusak dan enzim tersebut akan kehilangan aktifitasnya. Mekanisme pada DNA, yaitu ROS akan mengoksidasi DNA sel yang ada di inti dan mitokondria. Pada DNA inti yang tersusun oleh nukleutida-nukleutida antara lain nukleutida Guanin yang peka terhadap serangan radikal bebas, maka akan teroksidasi menjadi 8 - hidroksi-deoksiguanosin (8-OH-dG) yang bila terakumulasi dapat menyebabkan mutasi DNA. Pada mitokondria yang merupakan tempat metabolisme, proses respirasi dan sintesa energi ATP melalui proses fosforilasi oksidatif, maka bila terjadi oksidasi DNA ini akan dapat menghambat sintesa energi ATP yang diperlukan untuk kelangsungan proses metabolisme dalam sel.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka dengan menurunnya kadar ROS sperma akan dapat menurunkan peroksidasi lipid pada membran, mengurangi kerusakan spermatozoa sehingga motilitas spermatozoa dapat meningkat (Gagnon C, 1991; de Lamirande and Organon, 1992 a,b).

Pemberian pentoksifilin dosis 7,2 mM adalah yang optimal untuk menurunkan ROS dan meningkatkan persentase motilitas spermatozoa. Pada dosis yang lebih besar justru terjadi penurunan dari efek pentoksifilin. Hal ini mungkin dosis 7,2 mM merupakan *steady state* dari pentoksifilin.

Peran pentoksifilin dalam meningkatkan motilitas spermatozoa dapat melalui mekanisme yang lain, yang tidak diamati dalam penelitian ini, yaitu antara lain dengan cara menghambat kerja enzim fosfodiesterase, sehingga terjadi peningkatan kadar *Cyclic-AMP* (c-AMP) intraseluler. C-AMP yang terbentuk dari ATP akan mengaktifkan protein kinase-A, sehingga terjadi fosforilasi protein dan kemudian menyebabkan peningkatan motilitas (Cummins *et al.*, 1993 ; Jayaprakash *et al.*, 1997).

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian pentoksifilin *in vitro* dosis 3,6 mM, 7,2 mM dan 10 mM pada astenozoospermia, dapat meningkatkan persentase motilitas spermatozoa dan menurunkan kadar ROS sperma, sedangkan pada normospermia peningkatan motilitas dan penurunan ROS mulai pada dosis 7,2 mM.
2. Penurunan kadar ROS sperma dapat meningkatkan motilitas spermatozoa.
3. Pemberian pentoksifilin dosis 7,2 mM adalah yang optimal untuk menurunkan ROS sperma dan meningkatkan persentase motilitas spermatozoa.

7.2 Saran

Untuk meningkatkan motilitas spermatozoa pada penderita infertil dengan ROS sperma yang tinggi, disarankan untuk menggunakan pentoksifilin.

DAFTAR PUSTAKA

- Aitken JR. and Clarkson JS, 1987. Cellular basis of defective sperm function and association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. **J. Reprod. Fertil.** 81 : 459-469.
- Aitken JR. and Clarkson JS, 1988, Significance of reactive oxygen species and antioxidants in defining the efficacy of sperm preparation techniques. **J. Androl.** 9 : 367-376.
- Aitken JR, Irvine DS, Wu FC, 1991. Prospective analysis of sperm-oocyte fusion and reactive oxygen species generation as criteria for the diagnosis of infertility. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 164 : 542-551.
- Alvarez JG. And Storey BT, 1989. Role of glutathion peroxidase in protecting mammian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. **Gamete Res.** 23 : 77-90.
- Bedford JM., Calvin HI. and Cooper GW, 1973. The maturation of spermatozoa in the human epididymis. **J. Reprod. Fertil.** (Suppl.). 18 . 199.
- De Lamirande E and Gagnon C, 1992 a. Reactive oxygen species and human spermatozoa I. Effect on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. **J. Androl.** 13 : 368-378.
- De Lamirande E and Gagnon C, 1993. Human sperm hyperactivation in the whole semen and its association with low superoxide scavenging capacity in seminal plasma. **Fertil.** 59 : 1291-95.
- De Kretzer DM, Mc Lachlan RI, Robertson DM and Wreford NG, 1992. Control of spermatogenesis by follicle stimulating hormone and testosterone. **Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism** 6 : 353-54.
- Gavella M and Lipovac V, 1991. Effect of pentoxifylline on superoxide anion production by human sperm. **Int. J. Androl.** 14 : 320-27.
- Gavella M and Lipovac V, 1992. NADH-dependent oxidoreductase (diaphorase) activity and isozyme pattern of sperm in infertile men. **Arch. Androl.** 28 : 135-141.

- Halliwell B, 1991. Reactive oxygen species in living systems : source, biochemistry, and role in human disease. **Am. J. Med.** 91 : 14-22.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (Eds), 1989. **Free radicals in Biology and Medicine** 2nd edition. **Clarendon Press, Oxford.**
- Hinting A, 1997. ART pada infertilitas pria. **Pelatihan Standarisasi Penatalaksanaan Infertilitas Wanita dan Pria.** Surabaya : Gramik FK UNAIR, 27-28 September 1997.
- Hong CY, Chiang BN, Turner P, 1984. Calcium ion is the key regulator of human sperm function. **Lancet** ii : 1449-1451.
- Iwasaki A and Gagnon C, 1992. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. **Fertil Steril** 57 : 409-16.
- Jones R, Mann T, Sherins R, 1979. Peroxidative breakdown of phospholipides by human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma. **Fertil Steril** 3 : 639-7.
- Lameschow S, Hosmer DW, Klar J and Lwanga KS, 1990. **Adequacy of Sample size in health studies.** New York. John Wiley & Sons.
- Mazzilli F, Rossi T, Marchesini M, 1994. Superoxide anion in human semen related to seminal parameters and clinical aspects. **Fertil Steril** 62 : 862-68.
- Moohan JM, 1993. Variability of human sperm response to immediate and prolonged exposure to pentoxifylline. **Human Reprod.** 8 : 1696-1700.
- Nissen HP and Kreysel HW, 1983. Superoxide dismutase in human semen. **Klin. Wochenschr.** 61 : 63-65.
- Plante M, de Lanirande E and Gagnon C, 1994. Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa, are sufficient to affect normal sperm motility. **Fertil Steril** 52 : 387-393.
- Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB and Mellows HJ, 1993. WHO manual for the standardized investigation on diagnosis of infertile couples. 1st edn. **Cambridge University Press, Cambridge.**
- Soehadi K, 1996. Spesies oksigen reaktif dan kualitas sperma. **Medika** 10: 786-96.
- Schill WB, 1995. Survey of medical therapy in andrology. **Int. J. Androl.** 18, Suppl 2 : 56-62.

- Singh JP, Babcock DF, Lardy HA, 1978. Increased calcium influx is a component of capacitation of spermatozoa. **Biochem. J.** 172 : 549-556.
- Sudjarwo, Zaini NC, Hinting A, 1997. Deteksi radikal bebas pada sperma manusia. **Forum Komunikasi Reproduksi Manusia**, Denpasar, 6-8 November 1997.
- Suryohudoyo P, 1993. Oksidan, antioksidan dan radikal bebas. **Simposium Oksidan dan Antioksidan.**
- Suryohudoyo P, 2000. Oksidan, antioksidan dan radikal bebas. In : **Kapita Selekta. Ilmu Kedokteran Molekuler.** Jakarta : CV Infomedika, 31-47.
- Tournaye H, 1994. The effects of pentoxifylline on sperm function and embryonic development and its use in treatment of male-factor infertility. **Thesis**, Vrije Universiteit Brussel, Belgium.
- Tesarik J, Thebault A, Testart J, 1992. Effect of pentoxifylline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens. **Human Reprod.** 7 : 1257-1263.
- Vijayaraghavan S, Hoskins DD, 1986. Regulation of bovine sperm motility and cyclic adenosine 3', 5' - monophosphate by adenosine and its analogues. **Biol. Reprod.** 34 : 468-477.
- White DR, Aitken RJ, 1989. Relationship between calcium, cyclic AMP, ATP, and intracellular pH and the capacity of hamster spermatozoa to express hyperactivated motility. **Gamete Res.** 22 : 163-177.
- WHO, 1992. **WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen cervical mucus interaction.** 3rd edition. New York : Cambridge University Press.
- Yovich JL, 1993. Pentoxifylline : action and applications in assisted reproduction. **Human Reprod.** 8 : 1786-1791



Lampiran 1. Daftar Data Dasar Sampel Grup Astenospermia dan Normospermia

Subyek	A / N	konsentrasi	Motilitas		ROS (cpm/jtsp)
			ab	cd	
Snm a	A	60	42	58	0,27
b		66	47	53	0,39
c		67	41	59	0,62
d		67	43	57	0,46
Mtk a	A	58	40	60	0,28
b		60	36	64	0,28
c		62	35	65	0,30
d		59	38	62	0,25
Mdk a	A	36	51	49	0,49
b		35,5	48	52	0,45
c		37	45	55	0,43
d		36	49	51	0,47
Yrt a	A	27	13	87	0,55
b		35	10	90	0,54
c		40	7	93	0,50
d		30	5	95	0,53
Sns a	A	45	49	51	0,51
b		45,5	47	53	0,56
c		44	45	55	0,58
d		44	43	57	0,48
Sbg a	A	70	48	52	0,69
b		68	48	52	0,53
c		70	42	58	0,53
d		66	37	63	0,48
Rhj a	A	50	40	60	0,59
b		41	30	70	0,63
c		46	31	69	0,59
d		40	35	65	0,62
Msr a	A	31	42	58	0,86
b		33	45	55	0,93
c		33	41	59	0,96
d		30	43	57	0,76
Shd a	N	86	79	21	0,26
b		89	74	26	0,24
c		92	71	29	0,26
d		88	71	29	0,25
Gnw a	N	30,5	61	39	0,50
b		36	53	47	0,47
c		36,5	57	43	0,47
d		35	67	33	0,43
Spn a	N	30	85	15	1,49
b		25	79	21	1,55
c		22	76	24	1,63
d		32	71	29	0,34
Bhf a	N	32	66	34	0,81
b		34	67	33	0,88
c		35	70	30	0,83
d		30	68	32	0,70
Mtf a	N	76	79	21	0,26
b		78	74	26	0,28

Lampiran 2. Daftar Nilai Batas (cut off) Kadar ROS Sampel Penelitian

dCalc 06.07.01 22:01

le Data

C CURVE

RIABLE = ROS

SITIVE GROUP = kode=1

Sample size = 9

GATIVE GROUP = kode=2

Sample size = 7

sease prevalence unknown.

ea under the ROC curve = 0.508

andard error = 0.150

% Confidence interval = 0.254 to 0.759

riterion	Sens.	Spec.	+LR	-LR
0.26	0.0	100.0		1.00
=0.26	22.2	100.0		0.78
=0.28	22.2	71.4	0.78	1.09
=0.5 *	55.6	71.4	1.94	0.62
=0.59	55.6	28.6	0.78	1.56
=0.64	66.7	28.6	0.93	1.17
=0.69	66.7	14.3	0.78	2.33
=0.81	77.8	14.3	0.91	1.56
=0.86	77.8	0.0	0.78	
=1.49	100.0	0.0	1.00	

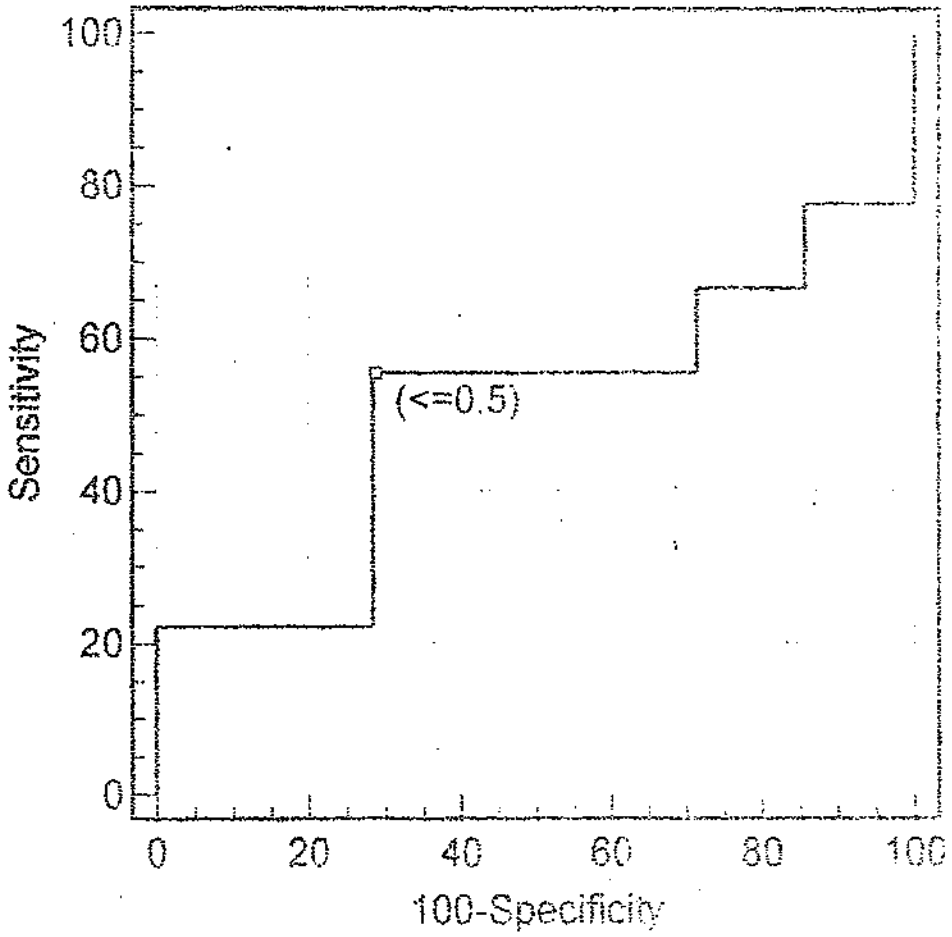
ns. = Sensitivity

ec. = Specificity

LR = Positive likelihood ratio

LR = Negative likelihood ratio

ROC



Lampiran 3. Daftar uji Distribusi Normal pada Grup Astenospermia

NPar Tests (Tests for Normalitic Distribution)**GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	39,38	60,63	26,5675
	Std. Deviation	12,13	12,13	11,2379
Most Extreme Differences	Absolute	,234	,234	,251
	Positive	,169	,234	,251
	Negative	-,234	-,169	-,151
Kolmogorov-Smirnov Z		,662	,662	,710
Asymp. Sig. (2-tailed)		,773	,773	,695

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	37,63	62,38	26,5425
	Std. Deviation	13,28	13,28	6,9091
Most Extreme Differences	Absolute	,260	,260	,210
	Positive	,217	,260	,161
	Negative	-,260	-,217	-,210
Kolmogorov-Smirnov Z		,735	,735	,594
Asymp. Sig. (2-tailed)		,652	,652	,872

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2**One-Sample Kolmogorov-Smimov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	35,13	64,88	28,8775
	Std. Deviation	12,46	12,46	7,9804
Most Extreme Differences	Absolute	,245	,245	,195
	Positive	,214	,245	,195
	Negative	-,245	-,214	-,131
Kolmogorov-Smimov Z		,694	,694	,552
Asymp. Sig. (2-tailed)		,721	,721	,921

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10**One-Sample Kolmogorov-Smimov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	35,88	64,13	25,8125
	Std. Deviation	13,28	13,28	7,1258
Most Extreme Differences	Absolute	,349	,349	,263
	Positive	,171	,349	,144
	Negative	-,349	-,171	-,263
Kolmogorov-Smimov Z		,986	,986	,743
Asymp. Sig. (2-tailed)		,285	,285	,638

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Lampiran 4. Daftar Uji Distribusi Normal pada Grup Normospermia

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	73,63	26,38	22,9350
	Std. Deviation	9,88	9,88	9,4738
Most Extreme Differences	Absolute	,207	,207	,292
	Positive	,155	,207	,292
	Negative	-,207	-,155	-,200
Kolmogorov-Smirnov Z		,585	,585	,827
Asymp. Sig. (2-tailed)		,884	,884	,502

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	69,38	30,63	25,4412
	Std. Deviation	9,12	9,12	7,1636
Most Extreme Differences	Absolute	,194	,194	,187
	Positive	,122	,194	,187
	Negative	-,194	-,122	-,119
Kolmogorov-Smirnov Z		,549	,549	,528
Asymp. Sig. (2-tailed)		,924	,924	,944

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	68,38	31,63	25,2000
	Std. Deviation	7,61	7,61	5,8895
Most Extreme Differences	Absolute	,209	,209	,208
	Positive	,163	,209	,208
	Negative	-,209	-,163	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,593	,593	,589
Asymp. Sig. (2-tailed)		,874	,874	,878

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MOT AB AWAL	MOT CD AWAL	ROS AWAL
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	70,00	30,00	18,5713
	Std. Deviation	6,23	6,23	5,1386
Most Extreme Differences	Absolute	,186	,186	,178
	Positive	,186	,100	,136
	Negative	-,100	-,186	-,178
Kolmogorov-Smirnov Z		,527	,527	,502
Asymp. Sig. (2-tailed)		,944	,944	,962

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Lampiran 5. Daftar Uji Homogenitas Grup Astenospermia

Oneway (Uji homogenitas)
GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA

Descriptives^a

		N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
MOT AB AWAL	KONTROL	8	39,38	12,13	13	51
	PTX 3.6	8	37,63	13,28	10	46
	PTX 7.2	8	35,13	12,46	7	45
	PTX 10	8	35,88	13,28	5	49
	Total	32	37,00	12,28	5	51
MOT CD AWAL	KONTROL	8	60,63	12,13	49	87
	PTX 3.6	8	62,38	13,28	52	90
	PTX 7.2	8	64,88	12,46	55	93
	PTX 10	8	64,13	13,28	51	95
	Total	32	63,00	12,28	49	95
ROS AWAL	KONTROL	8	26,5675	11,2379	14,95	48,86
	PTX 3.6	8	26,5425	6,8091	15,95	35,90
	PTX 7.2	8	28,8775	7,9604	19,94	41,86
	PTX 10	8	25,8125	7,1258	15,96	33,91
	Total	32	26,9500	8,1513	14,95	48,86

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA

ANOVA^a

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MOT AB AWAL	Between Groups	86,500	3	28,833	,176	,912
	Within Groups	4585,500	28	163,768		
	Total	4672,000	31			
MOT CD AWAL	Between Groups	86,500	3	28,833	,176	,912
	Within Groups	4585,500	28	163,768		
	Total	4672,000	31			
ROS AWAL	Between Groups	42,572	3	14,191	,197	,898
	Within Groups	2017,202	28	72,043		
	Total	2059,774	31			

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA

Lampiran 6. Daftar Uji Homogenitas Grup Normospermia

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA**Descriptives^a**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
MOT AB AWAL KONTROL	8	73,63	9,88	61	86
PTX 3.6	8	69,38	9,12	53	80
PTX 7.2	8	68,38	7,61	57	76
PTX 10	8	70,00	6,23	62	81
Total	32	70,34	8,17	53	86
MOT CD AWAL KONTROL	8	26,38	9,88	14	39
PTX 3.6	8	30,63	9,12	20	47
PTX 7.2	8	31,63	7,61	24	43
PTX 10	8	30,00	6,23	19	38
Total	32	29,66	8,17	14	47
ROS AWAL KONTROL	8	22,9350	9,4738	14,95	44,87
PTX 3.6	8	25,4413	7,1636	16,98	38,89
PTX 7.2	8	25,2000	5,8895	16,98	35,96
PTX 10	8	18,5713	5,1386	10,97	26,91
Total	32	23,0369	7,3142	10,97	44,87

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA

ANOVA^a

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MOT AB AWAL Between Groups	125,594	3	41,865	,603	,618
Within Groups	1943,625	28	69,415		
Total	2069,219	31			
MOT CD AWAL Between Groups	125,594	3	41,865	,603	,618
Within Groups	1943,625	28	69,415		
Total	2069,219	31			
ROS AWAL Between Groups	243,299	3	81,100	1,605	,211
Within Groups	1415,126	28	50,540		
Total	1658,424	31			

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA

Lampiran 7. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Kontrol Grup Astenospermia

T-Test (Uji Perubahan Awal ke Akhir)

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	39,38	8	12,13	4,29
	MOT AB AKHIR	42,00	8	13,98	4,94
Pair 2	MOT CD AWAL	60,63	8	12,13	4,29
	MOT CD AKHIR	58,00	8	13,98	4,94
Pair 3	ROS AWAL	26,5675	8	11,2379	3,9732
	ROS AKHIR	29,4025	8	12,9189	4,5675

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-2,63	4,27	1,51	-1,737	7	,126
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	2,63	4,27	1,51	1,737	7	,126
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	-2,8350	6,9283	2,4495	-1,157	7	,285

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

Lampiran 8. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 3,6 mM
Grup Astenospermia

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	37,63	8	13,28	4,69
	MOT AB AKHIR	56,13	8	11,62	4,11
Pair 2	MOT CD AWAL	62,38	8	13,28	4,69
	MOT CD AKHIR	43,88	8	11,62	4,11
Pair 3	ROS AWAL	28,5425	8	6,9091	2,4427
	ROS AKHIR	18,6650	8	7,6899	2,7188

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-18,50	12,78	4,52	-4,093	7	,005
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	18,50	12,78	4,52	4,093	7	,005
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	7,8775	3,5311	1,2484	6,310	7	,000

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

Lampiran 9. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 7,2 mM
Grup Astenosperma

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	35,13	8	12,46	4,41
	MOT AB AKHIR	61,50	8	12,56	4,44
Pair 2	MOT CD AWAL	64,88	8	12,46	4,41
	MOT CD AKHIR	38,50	8	12,56	4,44
Pair 3	ROS AWAL	28,8775	8	7,9604	2,8144
	ROS AKHIR	15,8525	8	8,4645	2,9927

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-26,38	12,34	4,36	-6,046	7	,001
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	26,38	12,34	4,36	6,046	7	,001
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	13,0250	2,7383	,9681	13,454	7	,000

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

Lampiran 10. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 10 mM
Grup Astenospermia

GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	35,88	8	13,28	4,70
	MOT AB AKHIR	55,00	8	13,87	4,90
Pair 2	MOT CD AWAL	64,13	8	13,28	4,70
	MOT CD AKHIR	45,00	8	13,87	4,90
Pair 3	ROS AWAL	25,8125	8	7,1258	2,5193
	ROS AKHIR	16,1475	8	6,3957	2,2612

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-19,13	9,58	3,39	-5,645	7	,001
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	19,13	9,58	3,39	5,645	7	,001
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	9,6650	3,3739	1,1928	8,102	7	,000

a. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Lampiran 11. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Kontrol Grup Normosperma

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	73,63	8	9,88	3,49
	MOT AB AKHIR	69,88	8	11,33	4,01
Pair 2	MOT CD AWAL	26,38	8	9,88	3,49
	MOT CD AKHIR	30,13	8	11,33	4,01
Pair 3	ROS AWAL	22,9350	8	9,4738	3,3495
	ROS AKHIR	18,7750	8	13,2660	4,6902

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	3,75	7,38	2,61	1,437	7	,194
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	-3,75	7,38	2,61	-1,437	7	,194
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	4,1600	17,0522	6,0289	,690	7	,512

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = KONTROL

Lampiran 12. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 3,6 mM
Grup Normospermia

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	69,38	8	9,12	3,22
	MOT AB AKHIR	75,25	8	8,53	3,02
Pair 2	MOT CD AWAL	30,63	8	9,12	3,22
	MOT CD AKHIR	24,75	8	8,53	3,02
Pair 3	ROS AWAL	25,4413	8	7,1636	2,5327
	ROS AKHIR	14,3738	8	5,9014	2,0865

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-5,88	9,05	3,20	-1,837	7	,109
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	5,88	9,05	3,20	1,837	7	,109
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	11,0675	9,4689	3,3478	3,306	7	,013

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 3.6

Lampiran 13. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 7,2 mM
Grup Normospermia

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	68,38	8	7,61	2,69
	MOT AB AKHIR	77,63	8	8,93	3,16
Pair 2	MOT CD AWAL	31,63	8	7,61	2,69
	MOT CD AKHIR	23,25	8	8,66	3,06
Pair 3	ROS AWAL	25,2000	8	5,8895	2,0823
	ROS AKHIR	11,9838	8	4,1357	1,4622

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-9,25	7,09	2,51	-3,692	7	,008
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	8,38	7,80	2,76	3,037	7	,019
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	13,2163	7,6321	2,6984	4,898	7	,002

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 7.2

Lampiran 14. Daftar Uji T Sampel Berpasangan Motilitas dan ROS
Kelompok Pemberian Pentoksifilin Dosis 10 mM
Grup Normospermia

GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Paired Samples Statistics^a

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MOT AB AWAL	70,00	8	6,23	2,20
	MOT AB AKHIR	74,50	8	8,64	3,05
Pair 2	MOT CD AWAL	30,00	8	6,23	2,20
	MOT CD AKHIR	25,50	8	8,64	3,05
Pair 3	ROS AWAL	18,5713	8	5,1386	1,8168
	ROS AKHIR	12,5400	8	4,6843	1,6561

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Paired Samples Test^a

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MOT AB AWAL - MOT AB AKHIR	-4,50	4,38	1,55	-2,909	7	,023
Pair 2	MOT CD AWAL - MOT CD AKHIR	4,50	4,38	1,55	2,909	7	,023
Pair 3	ROS AWAL - ROS AKHIR	6,0313	2,6694	,9438	6,391	7	,000

a. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA, PERLAKUAN = PTX 10

Lampiran 15. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda Motilitas AB
Antar Perlakuan pada Grup Astenospermia

Tests of Between-Subjects Effects^b

Dependent Variable: BEDA MOT AB

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2406,594 ^a	3	802,198	7,536	,001
Intercept	8877,781	1	8877,781	83,398	,000
KEL	2406,594	3	802,198	7,536	,001
Error	2980,625	28	106,451		
Total	14265,000	32			
Corrected Total	5387,219	31			

a. R Squared = ,447 (Adjusted R Squared = ,387)

b. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA

Pairwise Comparisons^b

Dependent Variable: BEDA MOT AB

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
KONTROL	PTX 3.6	15,875*	5,159	,005
	PTX 7.2	23,750*	5,159	,000
	PTX 10	16,500*	5,159	,003
PTX 3.6	KONTROL	-15,875*	5,159	,005
	PTX 7.2	7,875	5,159	,138
	PTX 10	,625	5,159	,904
PTX 7.2	KONTROL	-23,750*	5,159	,000
	PTX 3.6	-7,875	5,159	,138
	PTX 10	-7,250	5,159	,171
PTX 10	KONTROL	-16,500*	5,159	,003
	PTX 3.6	-,625	5,159	,904
	PTX 7.2	7,250	5,159	,171

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA

Lampiran 16. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda Motilitas AB
Antar Perlakuan pada Grup Normospermia

Tests of Between-Subjects Effects^b

Dependent Variable: BEDA MOT AB

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	731,094 ^a	3	243,698	4,739	,009
Intercept	504,031	1	504,031	9,801	,004
KEL	731,094	3	243,698	4,739	,009
Error	1439,875	28	51,424		
Total	2675,000	32			
Corrected Total	2170,969	31			

a. R Squared = ,337 (Adjusted R Squared = ,266)

b. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA

Pairwise Comparisons^b

Dependent Variable: BEDA MOT AB

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
KONTROL	PTX 3.6	9,625*	3,586	,012
	PTX 7.2	13,000*	3,586	,001
	PTX 10	8,250*	3,586	,029
PTX 3.6	KONTROL	-9,625*	3,586	,012
	PTX 7.2	3,375	3,586	,355
	PTX 10	-1,375	3,586	,704
PTX 7.2	KONTROL	-13,000*	3,586	,001
	PTX 3.6	-3,375	3,586	,355
	PTX 10	-4,750	3,586	,196
PTX 10	KONTROL	-8,250*	3,586	,029
	PTX 3.6	1,375	3,586	,704
	PTX 7.2	4,750	3,586	,196

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA

Lampiran 17. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda Motilitas AB
Antar Grup Astenospermia dan Normospermia

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: BEDA MOT AB

(I) GRUP PASIEN	(J) GRUP PASIEN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
ASTENO SPERMEA	NORMO SPERMEA	-12,687*	2,221	,000
NORMO.SPERMEA	ASTENO SPERMEA	12,687*	2,221	,000

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: BEDA MOT AB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2575,563	1	2575,563	32,628	,000
Error	4420,500	56	78,938		

The F tests the effect of GRUP PASIEN. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

Lampiran 18. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda ROS
Antar Perlakuan pada Grup Astenospermia

Tests of Between-Subjects Effects^b

Dependent Variable: BEDA ROS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1127,058 ^a	3	375,686	18,938	,000
Intercept	1538,183	1	1538,183	77,538	,000
KEL	1127,058	3	375,686	18,938	,000
Error	555,456	28	19,838		
Total	3220,697	32			
Corrected Total	1682,513	31			

a. R Squared = ,670 (Adjusted R Squared = ,634)

b. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA

Pairwise Comparisons^b

Dependent Variable: BEDA ROS

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
KONTROL	PTX 3.6	-10,712*	2,227	,000
	PTX 7.2	-15,860*	2,227	,000
	PTX 10	-12,500*	2,227	,000
PTX 3.6	KONTROL	10,712*	2,227	,000
	PTX 7.2	-5,147*	2,227	,028
	PTX 10	-1,788	2,227	,429
PTX 7.2	KONTROL	15,860*	2,227	,000
	PTX 3.6	5,147*	2,227	,128
	PTX 10	3,360	2,227	,143
PTX 10	KONTROL	12,500*	2,227	,000
	PTX 3.6	1,788	2,227	,429
	PTX 7.2	-3,360	2,227	,143

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. GRUP PASIEN = ASTENO SPERMEA



Lampiran 19. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda ROS
Antar Perlakuan pada Grup Normospermia

Tests of Between-Subjects Effects^a

Dependent Variable: BEDA ROS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	429,672 ^a	3	143,224	1,285	,299
Intercept	2377,051	1	2377,051	21,328	,000
KEL	429,672	3	143,224	1,285	,299
Error	3120,695	28	111,453		
Total	5927,418	32			
Corrected Total	3550,367	31			

a. R Squared = ,121 (Adjusted R Squared = ,027)

b. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA

Pairwise Comparisons^b

Dependent Variable: BEDA ROS

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
KONTROL	PTX 3.6	-6,908	5,279	,201
	PTX 7.2	-9,056	5,279	,097
	PTX 10	-1,871	5,279	,726
PTX 3.6	KONTROL	6,908	5,279	,201
	PTX 7.2	-2,149	5,279	,687
	PTX 10	5,036	5,279	,348
PTX 7.2	KONTROL	9,056	5,279	,097
	PTX 3.6	2,149	5,279	,687
	PTX 10	7,185	5,279	,184
PTX 10	KONTROL	1,871	5,279	,726
	PTX 3.6	-5,036	5,279	,348
	PTX 7.2	-7,185	5,279	,184

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. GRUP PASIEN = NORMO SPERMEA

Lampiran 20. Daftar Uji Univariate Analysis of Variance Beda ROS
Antar Grup Astenospermia dan Normospermia

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BEDA ROS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1602,191 ^a	7	228,884	3,487	,004
Intercept	3869,773	1	3869,773	58,950	,000
GRP	45,461	1	45,461	,693	,409
KEL	1312,803	3	437,601	6,666	,001
GRP * KEL	243,926	3	81,309	1,239	,304
Error	3676,151	56	65,646		
Total	9148,115	64			
Corrected Total	5278,342	63			

a. R Squared = ,304 (Adjusted R Squared = ,216)

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: BEDA ROS

(I) GRUP PASIEN	(J) GRUP PASIEN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
ASTENO SPERMEA	NORMO SPERMEA	-1,686	2,026	,409
NORMO SPERMEA	ASTENO SPERMEA	1,686	2,026	,409

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

GRP: 1 ASTENO SPERMEA

Dependent variable.. AB2

Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,50420
 R Square ,25422
 Adjusted R Square ,20279
 Standard Error 12,83434

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	1628,3283	814,16414
Residuals	29	4776,8905	164,72036

F = 4,94270 Signif F = ,0142

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PTX	5,831645	2,164838	1,551067	2,694	,0116
PTX**2	-,446766	,209195	-1,229688	-2,136	,0413
(Constant)	41,738465	4,448163	.	9,383	,0000

Dependent variable.. CD2

Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,50420
 R Square ,25422
 Adjusted R Square ,20279
 Standard Error 12,83434

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	1628,3283	814,16414
Residuals	29	4776,8905	164,72036

F = 4,94270 Signif F = ,0142

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PTX	-5,831645	2,164838	-1,551067	-2,694	,0116
PTX**2	,446766	,209195	1,229688	2,136	,0413
(Constant)	58,261535	4,448163	.	13,098	,0000

TESIS PERANAN PENTOKSIFILIN In Vitro ... SITI FARIDA

GRP: 2 NORMO SPERMEA

Dependent variable.. AB2 Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,30028
 R Square ,09017
 Adjusted R Square ,02742
 Standard Error 9,27313

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	247,1363	123,56817
Residuals	29	2493,7387	85,99099

F = 1,43699 Signif F = ,2541

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PTX	2,343243	1,564149	,952751	1,498	,1449
PTX**2	-,184070	,151148	-,774498	-1,218	,2331
(Constant)	69,711334	3,213908		21,691	,0000

Dependent variable.. CD2 Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,28095
 R Square ,07893
 Adjusted R Square ,01541
 Standard Error 9,20313

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	210,4882	105,24409
Residuals	29	2456,2306	84,69761

F = 1,24259 Signif F = ,3036

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PTX	-2,141592	1,552341	-,882785	-1,380	,1783
PTX**2	,166890	,150007	,711907	1,113	,2750
(Constant)	30,166657	3,189647		9,458	,0000

Dependent variable.. ROS2

Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,53882
 R Square ,29032
 Adjusted R Square ,24138
 Standard Error 9,05151

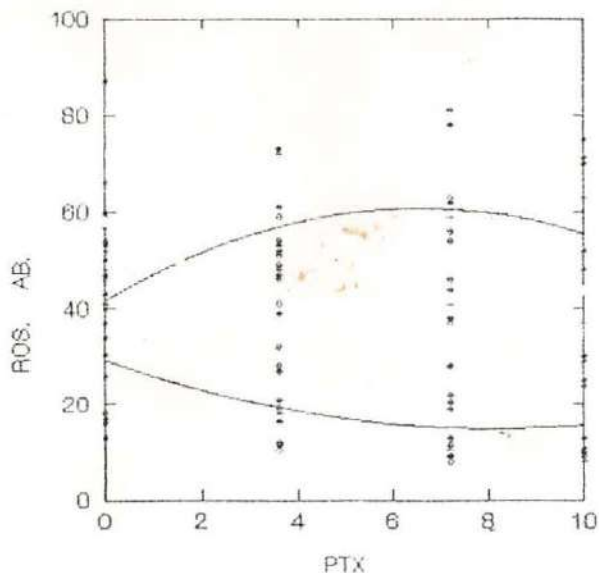
Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	971,9853	485,99264
Residuals	29	2375,9668	81,92989

F = 5,93181 Signif F = ,0069

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PTX	-3,635099	1,526767	-1,337313	-2,381	,0241
PTX**2	,235100	,147536	,895043	1,594	,1219
(Constant)	29,233279	3,137099		9,319	,0000



GAMBAR : HUBUNGAN ROS, MOT AB
 DENGAN DOSIS PTNTOXIFILIN PADA
 GRUP ASTENO SPERMEA

GRP: 2 NORMO SPERMEA

Dependent variable.. ROS2

Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,33876
 R Square ,11476
 Adjusted R Square ,05370
 Standard Error 7,76753

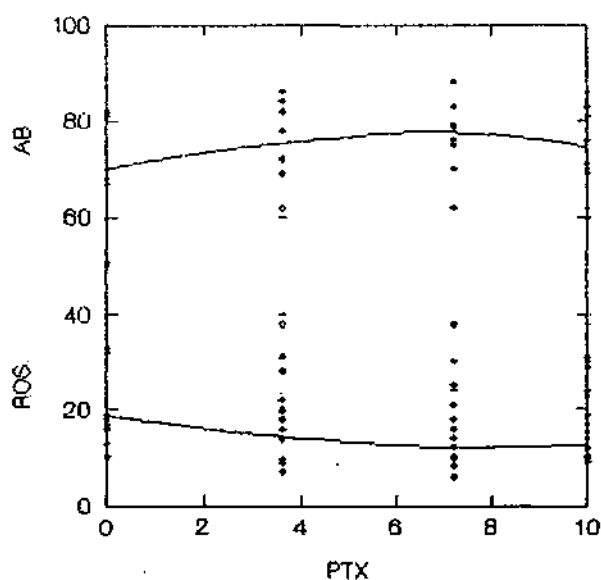
Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	226,8168	113,40842
Residuals	29	1749,7023	60,33456

F = 1,87966 Signif F = ,1708

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
PTX	-1,655182	1,310191	-,792505	-1,263	,2165
PTX**2	,101753	,126608	,504169	,804	,4281
(Constant)	18,832864	2,692093		6,996	,0000



**GAMBAR : HUBUNGAN ROS, MOT AB
 DENGAN DOSIS PTNTOXIFILIN PADA
 GRUP NORMO SPERMEA**

TIK GRUP ASTENOSPERMEA DAN PTX < 10

THE SUBSET MODEL INCLUDES THE FOLLOWING PREDICTORS:

CONSTANT
SAK
SAK2

DEPENDENT VARIABLE: AB2 N: 24 MULTIPLE R: 0.499 SQUARED MULTIPLE R: 0.249
ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .177 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 13.425

VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	72.602	8.547	0.000		8.494	0.000
SAK	-52.380	24.410	-1.588	0.065	-2.146	0.044
SAK2	19.666	11.689	1.245	0.065	1.682	0.107

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
REGRESSION	1254.842	2	627.421	3.481	0.049
RESIDUAL	3785.117	21	180.244		

EFISIEN JALURNYA ADALAH STANDAR COEFFICIENT = - 1.588,
MENGARTIKAN BILA ROS AKHIR NAIK MENYEBABKAN MOTILITAS A+B MENURUN

THE SUBSET MODEL INCLUDES THE FOLLOWING PREDICTORS:

CONSTANT
C

DEPENDENT VARIABLE: AB2 N: 24 MULTIPLE R: 0.549 SQUARED MULTIPLE R: 0.302
ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .270 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 12.647

VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	43.458	4.082	0.000		10.647	0.000
C	2.708	0.878	0.549	1.000	3.084	0.005

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
REGRESSION	1521.000	1	1521.000	9.509	0.005
RESIDUAL	3518.958	22	159.953		

EFISIEN JALURNYA ALAHI STANDAR COEFFICIENT = 0.549
MENGARTIKAN PENINGKATAN DOSIS PENTOKSIFILIN AKAN MENINGKATKAN MOTILITAS.

THE SUBSET MODEL INCLUDES THE FOLLOWING PREDICTORS:

CONSTANT

DEPENDENT VARIABLE: ROSAK N: 24 MULTIPLE R: 0.354 SQUARED MULTIPLE R: 0.125
 ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .086 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 0.429

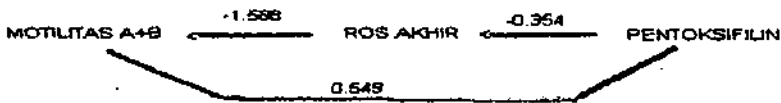
DEPENDENT VARIABLE COEFFICIENT STD ERROR STD COEF TOLERANCE T P(2 TAIL)

DEPENDENT VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	0.751	0.139	0.000		5.425	0.000
ROS AKHIR	-0.053	0.030	-0.354	1.000	-1.777	0.089

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
REGRESSION	0.581	1	0.581	3.156	0.089
RESIDUAL	4.053	22	0.184		

EFISIEN JALURNYA (ALAH STANDARD COEFFICIENT = - 0.354
 TINYA BILA PENTOKSIFILIN MENINGKAT AKAN MENYEBABKAN ROS AKHIR MENURUN



REVISI GAMBAR : ANALISIS JALUR PEMBERIAN PENTOKSIFILIN MENURUNKAN KADAR ROS
 DAN KADAR ROS YANG TURUN MENINGKATKAN MOTILITAS A+B

