

TESIS

EKSPRESI *MicroRNA (miRNA)* *hsa-mir-34c-3p* DAN *hsa-mir-34c-5p* PADA SPERMATOZOA PRIA DENGAN TERATOZOOSPERMIA



Oleh :

RANGGA PRAGASTA SS

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1
ILMU ANDROLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD DR SOETOMO
SURABAYA
2022**

TESIS

**EKSPRESI *MicroRNA (miRNA) hsa-mir-34c-3p* DAN *hsa-mir-34c-5p*
PADA SPERMATOZOA PRIA DENGAN TERATOZOOSPERMIA**

Oleh :

RANGGA PRAGASTA SS

011818216302

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1
ILMU ANDROLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD DR SOETOMO
SURABAYA
2022**

TESIS

**EKSPRESI *MicroRNA (miRNA)* *hsa-mir-34c-3p* DAN *hsa-mir-34c-5p*
PADA SPERMATOZOA PRIA DENGAN TERATOZOOSPERMIA**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Spesialis Andrologi (Sp. And)
dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Andrologi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo**

Oleh:

RANGGA PRAGASTA SS

011818216302

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1
ILMU ANDROLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD DR SOETOMO
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Rangga Pragasta SS

NIM : 011818216302

Menyatakan bahwa Tesis dengan judul **Ekspresi *MicroRNA (miRNA) hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* Pada Spermatozoa Pria Dengan Teratozoospermia** adalah pemaparan asli yang merupakan hasil karya saya sendiri. Tesis ini sepenuhnya merupakan karya intelektual saya dan seluruh sumber yang menjadi rujukan dalam karya ilmiah ini telah saya sebutkan sesuai kaidah akademik yang berlaku umum, termasuk para pihak yang telah memberikan kontribusi pemikiran pada isi, kecuali yang menyangkut ekspresi kalimat dan desain penulisan.

Demikian pernyataan ini saya nyatakan secara benar dengan penuh tanggung jawab dan integritas.

Surabaya, 3 Januari 2022

Yang Menyatakan,



Rangga Pragasta SS
NIM 011818216302

LEMBAR PENGESAHAN

**TESIS INI TELAH DISETUJUI DAN DIUJI
PADA TANGGAL 23 FEBRUARI 2022**

Pembimbing I



Dr. Ninik Darsini, dr., M.Biomed

NIP. 19741210 200812 2 001

Pembimbing II



Pety Narulita, dr., Sp.And(K)

NIP. 301 12021979 122015 7582

Mengetahui

**Ketua Program Studi Ilmu Andrologi Fakultas
Kedokteran Universitas Airlangga**



M.P. Budyandini D. Pramesti, dr., M.Kes, Sp.And(K)

NIP. 19651004 199702 2 001

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis telah diuji pada :

Tanggal 23 Februari 2022

PANITIA PENGUJI TESIS :

Ketua : , M.P.Budyandini D.Pramesti, dr., M.Kes, Sp.And(K).

Anggota : 1. Dr. Ninik Darsini, dr., M.Biomed
2. Petty Narulita , dr., Sp.And (K)
3. Aucky Hinting, dr., Ph.D., Sp.And (K)
4. Dr. Reny I'tishom, M.Si
5. Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes

Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Pengangkatan Staf Pengajar sebagai Pembimbing dan Penguji Ujian Akhir
Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Andrologi Fakultas Kedokteran
Nomor 1155/UN3.1.1/DL/2022

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan atas rahmat serta karunia Allah SWT sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini. Saya menyadari bahwa dalam proses menyelesaikan tesis ini, saya mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Maka dari itu saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Dr.Ninik Darsini, dr., M.Biomed** selaku pembimbing utama tesis, dan **Petty Narulita, dr., Sp.And(K)**, selaku pembimbing kedua dan juga **Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes.**, sebagai pembimbing statistik atas kesediaannya meluangkan waktu untuk berdiskusi dan memberikan arahan serta bimbingan, motivasi, kritik, dan saran selama proses penyelesaian tesis ini.
2. **Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., Mt., Ak., CMA** selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menimba ilmu sebagai dokter spesialis Andrologi di kampus tercinta ini.
3. **Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K)** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas kepemimpinannya sehingga saya dapat menjalani proses pendidikan dengan baik.
4. **Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)** selaku Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya atas tersedianya wahana Rumah Sakit Pendidikan yang sangat mendukung perkembangan diri saya sebagai seorang dokter dan peserta didik.
5. **Zakiatul Faizah, dr., M.Kes** sebagai Ketua Departemen Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas bimbingannya selama menjalani proses pendidikan.
6. **M.P.Budyandini D.Pramesti, dr., M.Kes, Sp.And(K)** selaku Koordinator Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Andrologi, atas motivasi, bimbingan, nasihat

dan bantuannya selama saya menjalani pendidikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Andrologi.

7. **Supardi, dr., Sp.And (K)** sebagai Ketua KSM Andrologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya, dan seluruh staff poli Andrologi **Nanis Choirunissa, Rahajuni Trihardiati** dan **Budi Sumengkar** atas bantuannya selama saya menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Andrologi.

8. Dosen penguji Tesis **M.P.Budyandini D.Pramesti, dr., M.Kes, Sp.And(K), Dr.Ninik Darsini, dr., M.Biomed , Petty Narulita, dr., Sp.And(K), Aucky Hinting, dr., Ph.D., Sp.And (K), Dr. Reny I'tishom, M.Si** dan **Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes** atas saran, kritik dan masukan selama proses penyusunan dan penyempurnaan Tesis ini.

9. Seluruh dosen pengajar baik dosen Departemen Biologi Kedokteran **Aucky Hinting, dr., Ph.D., Sp.And(K), Dr. Rina Yudiwati, dr., MS., R Haryanto Aswin, dr., MS., Hamdani Lunardhi, dr., M.Kes., Sp.And(K), Zakiyatul Faizah, dr., M.Kes., Sri Musta'ina Dra., M.Kes., Ninik Darsini, dr., M.Biomed., Agustinus, dr., Sp.And(K), Berliana Hamidah, dr., M.Kes., Faisal Yusuf Ashari, dr., dan Cennikon Pakpahan, dr.** maupun dosen Departemen lain yang telah memberikan ilmu dan pengalaman yang sangat bermanfaat bagi pengembangan kompetensi maupun pribadi saya selama menempuh masa studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Andrologi.

10. Seluruh staff tenaga pendidik Departemen Biologi Kedokteran, **Budi Setiono, Raden Widodo, Eko Yuswanto** atas bantuan dan dukungan selama saya menjalani pendidikan dokter spesialis Andrologi .

11. Seluruh teman sejawat peserta PPDS Andrologi, khususnya sejawat satu angkatan **Bella Amanda, dr., Haris Cakrasana S, dr., Marianne Ingrid, dr.,** atas dorongan dan kerja samanya selama saya menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Andrologi.
12. Staff laboratorium Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga bererta seluruh sukarelawan yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini. Tanpa kontribusi mereka saya tidak dapat melakukan penelitian ini.
13. Istri tercinta **Asih Riyanti Sari** dan anak tercinta, **Raza Ammar Baswara**, yang menjadi motivasi utama saya untuk menyelesaikan pendidikan dengan baik dan juga menjadi pribadi yang lebih baik yang bermanfaat bagi sesama, kedua orang tua tercinta **Syaifuddin Iskakandar** dan **Ida Ayu Suarthini**, kedua saudara **Rama Prangeta SS, Clara Grasia SS** atas dukungan moril, dan motivasi selama menempuh pendidikan dokter spesialis dan selama proses penyelesaian tesis ini.

Surabaya, Januari 2022

Penulis

RINGKASAN

EKSPRESI *MicroRNA (miRNA) hsa-mir-34c-3p* DAN *hsa-mir-34c-5p* PADA SPERMATOZOA PRIA DENGAN TERATOZOOSPERMIA

Rangga Pragasta SS

Tujuan Penelitian : Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi dari *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* pada sperma pria dengan teratozoospermia. Selain itu penelitian ini juga bertujuan untuk menganalisa perbedaan dari ekspresi (nilai Ct) dari *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* pada sperma pria dengan morfologi normal dengan teratozoospermia, hubungan antara ekspresi *miRNA* tersebut dengan morfologi sperma dan juga ekspresi relatif dari *miRNA* ini pada sperma pria dengan teratozoospermia.

Metode : Penelitian ini adalah penelitian analitik observasional laboratoris dengan jenis penelitian *cross sectional* tanpa randomisasi yang dilaksanakan di Laboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan RSKI (Rumah Sakit Khusus Infeksi) Surabaya pada periode bulan September 2021. Sampel yang digunakan adalah semen yang diperoleh dari BBT (Bahan Biologis Tersimpan) dari penelitian sebelumnya yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Total sebanyak 43 sukarelawan yang berpartisipasi dalam penelitian ini. Semua sampel dilakukan pemeriksaan analisa semen secara makroskopis dan mikroskopis sesuai dengan metode WHO edisi kelima. Setelah itu dilakukan isolasi spermatozoa, kemudian dilanjutkan dengan isolasi dan purifikasi mikro RNA dan langkah terakhir adalah mengukur ekspresi yaitu nilai Ct dari *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* dengan menggunakan RT-qPCR (*Reverse Transcription Quantitative PCR*) oleh Rotor-Gene Q Qiagen. Ekspresi relatif dihitung dengan menggunakan metode LIVAK ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) untuk menentukan *fold change* dari *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* ini pada sperma pria teratozoospermia. Dalam penelitian ini sampel dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok morfologi normal dan kelompok teratozoospermia.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna dari ekspresi baik *hsa-mir-34c-3p* maupun *hsa-mir-34c-5p* pada kelompok sperma dengan morfologi normal dan teratozoospermia. Uji korelasi juga tidak menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara morfologi sperma dengan ekspresi dari *miR-34c* ini, namun diketahui bahwa arah hubungan dari kedua variabel tersebut bersifat positif dengan kekuatan korelasi yang sangat lemah yang mengindikasikan bahwa setiap kenaikan dari persentase morfologi akan diikuti dengan kenaikan dari ekspresi *miR-34c*. Ekspresi relatif dari *miR-34c* ini mengalami *down regulation* pada sperma pria dengan teratozoospermia.

ABSTRACT**EXPRESSION of MicroRNA (miRNA) hsa-mir-34c-3p AND hsa-mir-34c-5p IN TERATOZOOSPERMIC SPERM**

Rangga Pragasta SS

The aim of this study was to analyze the expression of hsa-mir-34c-3p and hsa-mir-34c-5p in sperm of teratozoospermic male. This study also aimed to analyze the difference of Ct value between normal morphology and teratozoospermic sperm, the correlation between the expression of these miRNA and sperm morphology and the relative expression of these miRNA in sperm of teratozoospermic male. This study was conducted at Medical Biology Laboratory Faculty of Medicine in Surabaya. The sample of the study is semen obtained from stored biological material from previous similar research. Fourty three participants were included in this study. All samples were examined for it's macroscopics and microscopics parameters according to the 5th edition WHO's guideline. The sample were divided into 2 groups: normal morphologic sperm and teratozoospermic sperm. All sample undergo several steps: sperm isolation, purification and isolation of micro RNA and the final step is using RT-qPCR (Reverse Transcription Quantitative PCR) by *Rotor-Gene Q* Qiagen to determine the expression (Ct value) of hsa-mir-34c-3p and hsa-mir-34c-5p. The relative expression of these miRNA is calculated with LIVAK ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) method to determine the fold change of these miRNA in teratozoospermic sperm. The result showed that there were no significant differences between the expression of hsa-mir-34c-3p and hsa-mir-34c-5p in normal morphologic sperm and teratozoospermic sperm. Correlational study shows no significant correlation between sperm morphology and the expression of hsa-mir-34c-3p and hsa-mir-34c-5p, but shows positive relation with very weak correlational strength. Relative expression analysis indicate down regulation of hsa-mir-34c-3p and hsa-mir-34c-5p expression in sperm of teratozoospermic male.

Key words : microRNA, sperm morphology, teratozoospermia, miR-34c

ABSTRAK

EKSPRESI *MicroRNA* (*miRNA*) *hsa-mir-34c-3p* DAN *hsa-mir-34c-5p* PADA SPERMATOZOA PRIA DENGAN TERATOZOOSPERMIA

Rangga Pragasta SS

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* pada sperma pria teratozoospermia. Penelitian ini juga bertujuan untuk menganalisis perbedaan nilai Ct antara morfologi normal dan sperma teratozoospermia, korelasi antara ekspresi *miRNA* tersebut dengan morfologi sperma dan ekspresi relatif *miRNA* tersebut pada sperma pria teratozoospermia. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya pada periode bulan September 2021. Sampel penelitian adalah semen yang diperoleh dari BBT (Bahan Biologis Tersimpan) dari penelitian serupa sebelumnya. Empat puluh tiga peserta dilibatkan dalam penelitian ini. Semua sampel diperiksa parameter makroskopis dan mikroskopisnya sesuai pedoman WHO edisi 5. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok yaitu sperma morfologi normal dan sperma teratozoospermia. Semua sampel menjalani isolasi spermatozoa, purifikasi dan isolasi micro RNA dan RT-qPCR (*Reverse Transcription Quantitative PCR*) oleh *Rotor-Gene Q Qiagen* untuk menentukan ekspresi (nilai Ct) dari *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p*. Ekspresi relatif *miRNA* ini dihitung dengan metode LIVAK ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) untuk menentukan *fold change miRNA* ini pada sperma teratozoospermia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* pada sperma morfologi normal dan teratozoospermia. Studi korelasional tidak menunjukkan korelasi yang signifikan antara morfologi sperma dan ekspresi *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p*, namun menunjukkan hubungan positif dengan kekuatan korelasi yang sangat lemah. Analisis ekspresi relatif menunjukkan *down-regulation* dari ekspresi *hsa-mir-34c-3p* dan *hsa-mir-34c-5p* pada sperma pria teratozoospermia.

Kata kunci : *microRNA*, morfologi sperma, teratozoospermia, *miR-34c*

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Pernyataan Orisinalitas	iv
Lembar Pengesahan	v
Lembar Penetapan Panitia Penguji	vi
Ucapan Terima Kasih	vii
Ringkasan	x
<i>Abstract</i>	xi
Abstrak	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat teoritis	5
1.4.2 Manfaat praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Infertilitas Pria	6
2.1.1 Prevalensi infertilitas pria.....	6
2.1.2 Etiologi infertilitas pria.....	8
2.1.3 Diagnosis dan evaluasi infertilitas pria	8
2.2 Analisis Semen	10
2.3 Spermatogenesis	12
2.4 Morfologi Sperma	14
2.5 <i>MicroRNA (miRNA)</i>	16
2.5.1 Biogenesis <i>miRNA</i>	17
2.5.2 <i>MicroRNA</i> pada fertilitas pria	18
2.5.3 <i>MicroRNA</i> dalam spermatogenesis	19
2.5.4 <i>MicroRNA miR-34 family</i> dan fertilitas pria	21
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	23
3.1 Kerangka Berpikir	23
3.2 Hipotesis Penelitian	24
BAB 4 METODE PENELITIAN	25
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	25

4.2 Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	25
4.2.1 Populasi	25
4.2.2 Sampel	25
4.2.3 Besar sampel	26
4.2.4 Kriteria inklusi	26
4.2.5 Kriteria eksklusi	27
4.2.6 Teknik pengambilan sampel	27
4.3 Variabel Penelitian	27
4.3.1 Klasifikasi variabel	27
4.4 Definisi Operasional Variabel	28
4.5 Bahan Penelitian	28
4.6 Instrumen Penelitian	29
4.7 Prosedur Kerja	29
4.7.1 Penentuan sampel dan <i>informed consent</i>	29
4.7.2 Analisis semen.....	29
4.7.2.1 Pemeriksaan makroskopis semen	29
4.7.2.2 Pemeriksaan mikroskopis semen.....	30
4.7.3 Isolasi spermatozoa dari semen	33
4.7.4 Isolasi dan purifikasi <i>miRNA</i>	34
4.7.5 <i>Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR)</i>	37
4.8 Lokasi dan Waktu Penelitian	38
4.9 Rancangan Analisis Data dan Penyelesaian Laporan.....	39
4.9.1 Analisis deskriptif	39
4.9.2 Analisis inferensial	39
4.9.3 Analisis <i>comparative Ct</i> metode LIVAK	39
4.10 Alur Penelitian	40

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Analisis Deskriptif	41
5.1.1 Karakteristik sampel dan analisa semen	41
5.1.2 Karakteristik isolat spermatozoa	43
5.1.3 Validasi pemeriksaan RT-qPCR	44
5.1.4 Ekspresi <i>endogenous/housekeeping gene</i> U6	46
5.1.5 Ekspresi <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan <i>hsa-mir-34c-5p</i>	46
5.2 Analisis Inferensial	47
5.2.1 Uji normalitas data	47
5.2.2 Uji komparasi	49
5.2.2.1 Perbandingan karakteristik sampel	49
5.2.2.2 Hasil tuaian isolat spermatozoa	50
5.2.2.3 Ekspresi <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan <i>hsa-mir-34c-5p</i>	51
5.2.3 Uji korelasi	53
5.2.3.1 Hubungan morfologi dengan ekspresi <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan <i>hsa-mir-34c-5p</i>	53
5.2.4 Ekspresi relatif <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan <i>hsa-mir-34c-5p</i>	54

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Sampel, Analisis Semen dan Ekspresi <i>miR-34c</i>	56
6.2 Morfologi Sperma dan Ekspresi <i>miR-34c</i>	59
6.3 Ekspresi Relatif <i>miR-34c</i>	60
6.4 Potensial Mekanisme Regulasi <i>miR-34c</i> Terhadap Spermiogenesis	63
6.5 Keterbatasan Penelitian	66

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan	67
7.2 Saran	67

DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Distribusi diagnosis dari infertilitas pria	8
Tabel 2.2 Nilai batas referensi parameter semen (WHO 2010)	12
Tabel 4.1 Definisi operasional variabel	28
Tabel 4.2 Sekuen primer <i>hsa-mir-34c-3p</i> , <i>hsa-mir-34c-5p</i> dan primer U6	37
Tabel 5.1 Karakteristik sampel dan hasil analisa semen	42
Tabel 5.2 Karakteristik validasi primer <i>miRNA</i>	45
Tabel 5.3 Distribusi nilai Ct U6	46
Tabel 5.4 Distribusi nilai Ct <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan Ct <i>hsa-mir-34c-5p</i>	47
Tabel 5.5 Hasil uji normalitas data dari sampel spermatozoa	48
Tabel 5.6 Uji komparasi antara kelompok morfologi normal dan teratozoospermia	50
Tabel 5.7 Perbedaan TSC antara kelompok morfologi normal dan teratozoospermia	50
Tabel 5.8 Hasil uji komparasi TSC sebelum dan sesudah isolasi spermatozoa	51
Tabel 5.9 Hasil uji komparasi nilai Ct <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan Ct <i>hsa-mir-34c-5p</i>	52
Tabel 5.12 Uji korelasi antara morfologi dan Ct <i>hsa-mir-34c-3p</i> dan <i>hsa-mir-34c-5p</i>	54
Tabel 5.13 Analisis ekspresi <i>hsa-mir-34c-3p</i> (LIVAK)	55
Tabel 5.14 Analisis ekspresi <i>hsa-mir-34c-5p</i> (LIVAK)	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tahapan spermatogenesis	13
Gambar 2.2 Struktur skematis spermatozoa	15
Gambar 2.3 Contoh sperma dengan bentuk abnormal	16
Gambar 2.4 Peran <i>miRNA</i> dalam proses ekspresi gen	17
Gambar 2.5 Biogenesis dari <i>miRNA</i> dan mekanisme kerja <i>miRNA</i>	18
Gambar 2.6 <i>miRNA</i> dalam sistem reproduksi pria dan perkembangan embrio.....	19
Gambar 2.7 <i>miRNA</i> dalam tahapan spermatogenesis di dalam testis hingga fase maturasi di epididimis.....	20
Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian.....	23
Gambar 4.1 Rancangan penelitian	25
Gambar 4.2 Alur penelitian	40
Gambar 5.1 Foto sediaan basah sebelum dan sesudah isolasi dengan metode SCLB	44

DAFTAR SINGKATAN

μ l	: mikroliter
$^{\circ}$ C	: Derajat Celsius
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
ATF	: <i>Activating Transcription Factor</i>
BBT	: <i>Bahan Biologis Tersimpan</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenic Protein</i>
cc	: <i>Cubic Centimeter</i>
CT	: <i>Cycle threshold</i>
CD4	: <i>Cluster of Differentiation 4</i>
CDK	: <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
DEPC	: <i>Diethyl Pyrocarbonate</i>
DGCR8	: <i>Digeorge Critical Region 8</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FOXI1	: <i>Forkhead Box I1</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
g	: x gravity
HC	: <i>Housekeeping gene Control</i>
HE	: <i>Housekeeping gene Experiment</i>
hsa	: <i>Homo Sapiens</i>
HSF	: <i>Heat Shock Factors</i>
IM	: <i>Immotile (motility)</i>
KO	: <i>Knock Out</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
MAR	: <i>Mixed Antiglobulin Reaction</i>
miRNA	: <i>MicroRNA</i>
ml	: mililiter
mm	: milimeter
mRNA	: <i>messenger RNA</i>
NP	: <i>Non Progressive (motility)</i>
OVOL	: <i>OVO-like proteins</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PBS	: <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PLK4	: <i>Polo like kinase-4</i>
PPDS	: <i>Program Pendidikan Dokter Spesialis</i>
PR	: <i>Progressive (motility)</i>
RHOX5	: <i>Homeobox protein Rhox5</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
RRas	: <i>RAS related protein</i>
RSKI	: <i>Rumah Sakit Khusus Infeksi</i>
RT-qPCR	: <i>Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RISC	: <i>RNA-Induced Silencing Complex</i>

Stil	: <i>Scl/Tal1 interrupting locus</i>
SOX8	: <i>SRY-related HMG-box</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SCLB	: <i>Somatic Cell Lysis Buffer</i>
SSC	: <i>Spermatogonial Stem Cell</i>
TC	: <i>Target gene Control</i>
TE	: <i>Target gene Experiment</i>
TRUS	: <i>Trans Rectal Ultra Sonography</i>
TRBP	: <i>Transactivation Response Element RNA-Binding Protein</i>
TSC	: <i>Total Sperm Cell</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WT1	: <i>Wilms' tumor protein</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kelaikan Etik Penelitian.....	74
Lampiran 2	Penjelasan Penelitian Untuk Disetujui.....	75
Lampiran 3	Lembar Persetujuan Mengikuti Penelitian.....	82
Lampiran 4	Tabel Statistik Penelitian.....	84