

**TESIS**

**HUBUNGAN ANTARA VARIKOKEL KIRI BUATAN  
PADA ORYCTALAGUS CUNICULUS DENGAN  
KADAR MALONDIALDEHIDA  
PADA TESTIS KIRI DAN KANAN  
PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**



**MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**GEDE WIRYA KUSUMA DUARSA**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003**

**TESIS**

**HUBUNGAN ANTARA VARIKOKEL KIRI BUATAN**  
**PADA ORYCTALAGUS CUNICULUS DENGAN**  
**KADAR MALONDIALDEHIDA**  
**PADA TESTIS KIRI DAN KANAN**  
**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**



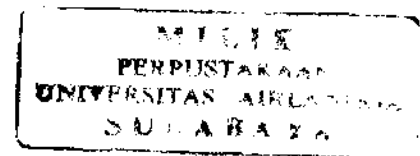
**GEDE WIRYA KUSUMA DUARSA**

**PROGRAM PASCASARJANA**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**  
**2003**

**HUBUNGAN ANTARA VARIKOKEL KIRI BUATAN  
PADA ORYCTALAGUS CUNICULUS DENGAN  
KADAR MALONDIALDEHIDA  
PADA TESTIS KIRI DAN KANAN  
PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

**TESIS**

Untuk memperoleh gelar Magister  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh:

**GEDE WIRYA KUSUMA DUARSA**

NIM: 090114586

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2003**

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 19 MEI 2003**

Oleh:

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Doddy M. Soebadi, dr. SpB, SpUK  
NIP: 130 610 103

Pembimbing



Soetjipto, dr. MS, Ph.D  
NIP: 130 687 606

Mengetahui  
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Soetjipto, dr. MS, Ph.D  
NIP: 130 687 606

Telah diuji pada

Tanggal 19 Mei 2003

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Aucky Hinting, dr. Sp.And., Ph.D

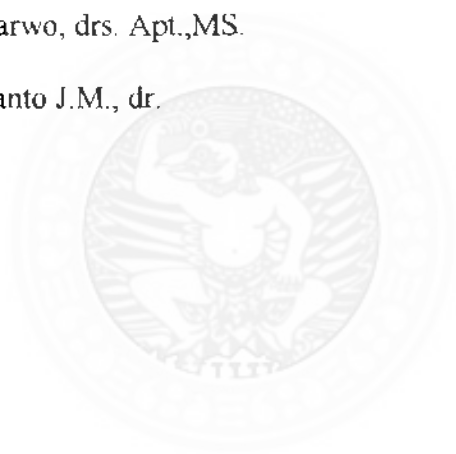
Anggota : Prof. Dr. Doddy M. Soebadi, dr. SpB., SpU(K)

Soetjipto, dr., MS, Ph.D

Dr. Kuntoro, dr.

Dr. Sudjarwo, drs. Apt.,MS.

Dr. Harjanto J.M., dr.



## UCAPAN TERIMAKASIH

Kami panjatkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Pengasih Dan Penyayang atas semua berkah dan karuniaNYA, sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Terimakasih yang tidak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya saya haturkan kepada Prof. Dr. Doddy M. Soebadi, dr. Sp.B., Sp.U(K) sebagai pembimbing ketua dan kepala Laboratorium / SMF Urologi yang dengan penuh dedikasi telah memberikan dorongan, bimbingan demi terselesainya tesis ini serta kesempatan dan kemudahan yang diberikan di Laboratorium / SMF Urologi selama proses pendidikan magister ini.

Terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya saya persembahkan kepada Soetjipto, dr., MS., Ph.D., yang dengan penuh kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran demi terselesainya pendidikan magister dan tesis ini. Terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya juga kami ucapkan kepada Aucky Hinting, dr. Sp.And., Ph.D. dan Dr.Sudjarwo, drs. Apt., M.S. atas semua bimbingan dan bantuannya dalam proses penelitian ini.

Dengan selesainya tesis ini perkenankan saya mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr.Med. Puruhito, dr. SpB TKV, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan pada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program magister. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr.,Sp.P. serta dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. H.M.S. Wiyadi, dr. Sp.THT, yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti program magister.



Dokter Adi Santoso, Sp.B., SpU(K), mantan sekretaris program studi Laboratorium Urologi dan dr. Wahjoe Djatisoesanto, Sp.U., sekretaris program studi Laboratorium Urologi yang memberikan kesempatan dan banyak kemudahan di Lab./SMF Urologi selama mengikuti pendidikan magister ini

Jefri Effendi, sahabat dan saudara saya, yang banyak membantu terselesaikannya tesis ini. Orang tua kami tercinta yang telah memberikan dorongan dengan sabar, pengorbanan yang tidak terhingga dan penuh pengertian selama kami mengikuti pendidikan. Serta wanita mulia yang selalu memberikan doa, kasih, pengorbanan dan pengabdianya. Akhirnya, Deta, Tita dan Abhi, jadilah anak bangsa kebanggaan orang tua.

Terimakasih



## RINGKASAN

Varikokel adalah dilatasi abnormal pleksus pampiniformis, dimana 78-93 persen terjadi pada sisi kiri. Insiden varikokel pada laki-laki dewasa berkisar antara 15-23 persen namun pada pria infertil dapat mencapai 40%. Varikokel merupakan penyebab tersering infertilitas pada pria. Sampai saat ini belum terdapat teori yang dapat menerangkan secara pasti bagaimana varikokel satu sisi dapat menyebabkan terjadinya gangguan testis bilateral sehingga mengakibatkan infertilitas. Beberapa penelitian terakhir, meneliti peran radikal bebas pada sperma. Pada penelitian ini ingin diketahui apakah kadar senyawa oksigen reaktif meningkat pada kedua testis dan hubungannya dengan kualitas sperma.

Penelitian jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group design* ini menggunakan kelinci (*oryctolagus cuniculus*) sebagai hewan coba sebanyak 12 ekor pada setiap kelompok perlakuan. Dimana pada kelompok pertama dilakukan varikokel kiri buatan dan diberikan antioksidan, kelompok kedua dilakukan varikokel buatan dan pada kelompok ketiga hanya dilakukan operasi *sham* (kelompok kontrol). Analisa sperma dan euthanasia dilakukan pada minggu kedelapan. Kadar senyawa oksigen reaktif testis kiri dan kanan ditentukan dengan cara tidak langsung melalui penentuan kadar malondialdehida (MDA).

Varikokel kiri buatan dapat dibuat dengan baik melalui ligasi parsial vena renalis kiri kelinci. Terdapat perubahan diameter vena spermatika interna kiri dan perbedaan kualitas sperma pada kelompok varikokel kiri buatan. Jumlah dan persentase motilitas spermatozoa menunjukkan perbedaan pada setiap kelompok



perlakuan. Dimana hasil terendah didapatkan pada kelompok varikokel kiri buatan tanpa antioksidan. Dengan pemberian antioksidan, ternyata kualitas sperma menjadi lebih baik, meskipun belum bisa mendekati hasil yang didapat oleh kelompok kontrol.

Terdapat perbedaan kadar MDA yang bermakna antara varikokel kiri buatan jika dibandingkan dengan varikokel kiri buatan dengan antioksidan dan kelompok kontrol. Pada kelompok varikokel kiri buatan yang diberikan antioksidan ternyata tidak menunjukkan perbedaan kadar MDA dibandingkan dengan kelompok kontrol. Disini menunjukkan bahwa antioksidan yang diberikan (selenium, vitamin E, vitamin C dan  $\beta$  karoten) ternyata menurunkan kadar MDA pada testis kanan dan kiri.

Kadar MDA testis kanan dan kiri pada tiap kelompok perlakuan ternyata tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Hasil ini menggambarkan bahwa varikokel unilateral dapat membuat perubahan kadar MDA pada testis bilateral. Didapatkan korelasi negatif kuat antara kadar MDA testis kiri dan kanan terhadap persentase motilitas dan jumlah spermatozoa. Sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa oksigen reaktif dapat merupakan salah satu penyebab gangguan testis bilateral pada varikokel kiri buatan.

## ABSTRACT

To determine the level of malondialdehyde (MDA), an indirect indicator of lipid peroxidation induced injury by reactive oxygen species in bilateral testis of experimental left varicocele (ELV) animal. To determine the correlation between the levels of MDA and sperm quality (sperm concentration and motility).

Thirty six rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) were divided to 3 groups. The first is group of ELV and antioxidant treatment, the second one is group of ELV and the last one is a control group. ELV was performed by partially ligation of left renal vein. Six samples were excluded. Sperm analysis was determined on the 8<sup>th</sup> week a moment before they were sacrificed. Levels of MDA were measured in the bilateral testicular of 30 ELV. Data were analyzed by SPSS 11.

The mean (SD) MDA level of each groups at the left testicular were 0.467 (0.107); 1.066 (0.497); 0.190 (0.156). While at the rights ones were 0.483 (0.114); 0.867(0.515); 0.198 (0.104). The MDA level of ELV group was significantly greater then others group. There was no significant difference between ELV group and antioxidant treatment to control group. No significant difference either was found on left testicular MDA level to the right one ( $p=0.343$ ). These were strong inversely correlation between the MDA levels to sperm motility ( $p=0.0001$ ;  $r = -0.682$ ) and sperm concentration ( $p=0.0001$ ;  $r = -0.618$ )

These results showed that ELV is able to increase the MDA level of both side testicular. While increasing levels of MDA are inversely correlated with sperm concentration and motility. Reactive oxygen species is a possible rationale cause for bilateral testicular dysfunction on left experimental varicocele.

Keywords: reactive oxygen species, experimental left varicocele, varicocele, and malondialdehyde.

**DAFTAR ISI**

	<b>Hal.</b>
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR SKEMA	v
DAFTAR GRAFIK	vii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR SINGKATAN	viii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
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 klinis	5
<b>BAB 2 TINJAUAN KEPUSTAKAAN</b>	<b>6</b>
2.1 Varikokel	6
2.2. Senyawa Oksigen Reaktif, Antioksidan Dan Cara Pengukuran Kadar Senyawa Oksigen Reaktif	11
2.2.1. Senyawa oksigen reaktif	11
2.2.2. Antioksidan	18
2.2.3. Cara pengukuran senyawa oksigen reaktif dan kadar antioksidan	22
2.3. Sperma	25
2.4 .Jejas Pada Sel	26
2.5. Varikokel Buatan pada Kelinci	28
2.5.1. Tinjauan mengenai kelinci ( <i>Oryctolagus Cuniculus</i> )	28
2.5.2. Varikokel buatan	29

	2.6. Senyawa Oksigen Reaktif Pada Varikokel	30
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	33
	3.1 Kerangka Konseptual	33
	3.2 Hipotesis Penelitian	36
BAB 4	METODE PENELITIAN	37
	4.1 Rancangan Penelitian	37
	4.2 Populasi Sampel	37
	4.3 Besar Sampel	38
	4.4 Variabel Penelitian	39
	4.5 Kriteria Drop Out	39
	4.6 Cara kerja	40
	4.6.1. Persiapan hewan coba	40
	4.6.2. Persiapan alat dan bahan	41
	4.6.3. Tahap perlakuan	41
	4.7 Definisi Operasional dan Pengukuran Variabel	43
	4.7.1. Varikokel kiri buatan	43
	4.7.2. Vena spermatika interna kiri	43
	4.7.3. Vena spermatika interna kanan	45
	4.7.4. Analisa sperma	45
	4.7.5. Malondialdehida	45
	4.7.6. Darah lengkap	46
	4.7.7. Antioksidan	46
	4.7.8. Volume testis	46
	4.7.9. Berat badan kelinci	47
	4.8.0. Usia kelinci	47
	4.8 Analisis Data	47
	4.9. Jadwal, Tempat Penelitian	47
	4.9.1. Jadwal penelitian	47
	4.9.2. Tempat penelitian	47
BAB 5	HASIL PENELITIAN	48
	5.1. Berat Badan Sebelum Dan Sesudah Perlakuan	48
	5.2. Hemoglobin Sebelum Dan Sesudah Perlakuan	49

5.3. Leukosit Sebelum Dan Sesudah Perlakuan	50
5.4. Uji Homogenitas	50
5.5. Uji Distribusi Normal	51
5.6. Volume Testis Kiri Dan Kanan	52
5.7. Diameter Vena Spermatika Interna Kiri dan Kanan	54
5.8. Volume ejakulat, Jumlah dan Persentase Motilitas Spermatozoa	56
5.9. Kadar Malondialdehida Testis Kiri dan Kanan	59
5.10. Hubungan Antara Kadar Malondialdehida dengan Motilitas dan Jumlah Spermatozoa	62
BAB 6 PEMBAHASAN	64
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	76
7.1. Kesimpulan	76
7.2. Saran	77
DAFTAR KEPUSTAKAAN	78
LAMPIRAN	82

## DAFTAR GAMBAR

	hal.
1. Sumber radikal bebas oksigen dalam sel	13
2. Mekanisme rusaknya sel akibat pengaruh radikal bebas	17
3. Titik tangkap kerja antioksidan	20
4. Proses terbentuknya RBO dan mekanisme pencegahannya	21
5. Kejadian apoptosis	69



## DAFTAR SKEMA

	hal.
Skema 1. Kerangka konseptual varikokel kiri dapat menyebabkan gangguan motilitas sperma, perubahan morfologi dan berkurangnya jumlah spermatozoa.	33
Skema 2. Alur kerja penelitian	44
Skema 3. Mekanisme kerusakan membran pada jejas iskemia/hipoksia	63



**DAFTAR GRAFIK**

	hal.
5.1. Rata-rata berat badan kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan	49
5.2. Rata-rata kadar hemoglobin kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan	49
5.3. Rata-rata hitung leukosit darah kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan	50
5.4. Rata-rata volume testis kiri dan kanan pada masing-masing kelompok perlakuan	52
5.5. Rata-rata diameter vena spermatika interna kiri dan kanan kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan	54
5.6. Rata-rata volume ejakulat pada masing-masing kelompok perlakuan	57
5.7. Rata-rata jumlah spermatozoa kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan	57
5.8. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan	58
5.9. Rata-rata kadar MDA testis kiri dan kanan kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan	59
5.10 Nilai cut off kadar MDA testis kiri dan testis kanan	62



**DAFTAR TABEL**

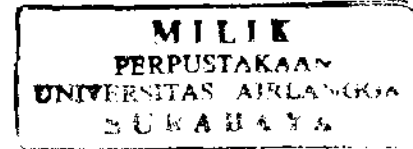
	hal.
1. Rata-rata produksi air sperma pada kelinci ukuran sedang	29
2. Uji homogenitas	50
3. Uji distribusi normal pada variabel penelitian	51
4. Volume testis kiri kelinci pada ketiga kelompok perlakuan	52
5. Beda rata-rata volume testis kiri pada ketiga kelompok perlakuan	53
6. Volume testis kanan kelinci pada ketiga kelompok perlakuan	53
7. Beda rata-rata volume testis kanan pada ketiga kelompok perlakuan	53
8. Uji t tes berpasangan volume testis pada ketiga kelompok perlakuan	53
9. Diameter vena spermatika interna kiri pada ketiga kelompok perlakuan	54
10. Beda rata-rata diameter vena spermatika interna kiri pada ketiga kelompok perlakuan	55
11. Diameter vena spermatika interna kanan pada ketiga kelompok perlakuan	55
12. Beda rata-rata diameter vena spermatika interna kanan pada ketiga kelompok perlakuan	55
13. Uji t tes berpasangan diameter vena spermatika interna kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan	56
14. Rata-rata volume ejakulat pada ketiga kelompok perlakuan	57
15. Beda rata-rata volume ejakulat pada ketiga kelompok perlakuan	57
16. Rata-rata jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan	58
17. Beda rata-rata jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan	58
18. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan	58
19. Beda rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan	59
20. Kadar MDA testis kiri kelinci pada ketiga kelompok perlakuan	60
21. Beda rata-rata kadar MDA testis kiri pada ketiga kelompok perlakuan	60
22. Kadar MDA testis kanan kelinci pada ketiga kelompok perlakuan	60
23. Beda rata-rata kadar MDA testis kanan pada ketiga kelompok perlakuan	61
24. Uji t tes berpasangan kadar MDA pada ketiga kelompok perlakuan	61
25. Uji korelasi antara kadar MDA dengan jumlah dan motilitas spermatozoa	62

## DAFTAR SINGKATAN

AO	: Antioksidan
ATP	: Adenosin Triphosfat
DL	: Darah Lengkap
DNA	: Dioksiribo Nucleic Acid
ELV	: Experimental Left Varicocele (varikokel kiri buatan)
GPx	: Glutation Peroksidase
IL	: Interleukin
MDA	: Malondialdchida
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acid
SOD	: Superoksíde Dismutase
SOR	: Senyawa Oksigen Reaktif

# BAB 1

## PENDAHULUAN



### 1.1 Latar Belakang

Varikokel adalah suatu keadaan dilatasi abnormal pleksus pampiniformis dari vena spermatica interna. Keadaan ini sering dikaitkan dengan infertilitas pada pria. Walaupun banyak klinisi percaya bahwa varikokel merupakan faktor penyebab utama infertilitas pada pria, namun masih banyak kontroversi diantara para ahli mengenai patogenesis dan kelainan testis pada varikokel dalam kaitannya sebagai penyebab infertilitas pada pria. Ada banyak faktor yang telah dikemukakan oleh para peneliti terdahulu dan sampai saat ini belum ada kesepakatan faktor yang paling berperan terhadap infertilitas pria. Beberapa teori yang telah diajukan adalah gangguan regulasi temperatur testis, hipoksia jaringan germinal akibat stasis vena, dilusi bahan-bahan intratestikular (seperti testosterone), ketidakseimbangan hormonal dan refluk bahan-bahan metabolit renal dan atau adrenal yang bersifat toksis kedalam vena spermatica interna (Brandel, 2001). Masing-masing penelitian saling mendukung data tersebut, sehingga kemungkinan besar etiologi varikokel adalah multifaktor. (Rajfer, 1998)

Insiden yang dilaporkan sangat bervariasi. Abdelrahim melaporkan insiden varikokel pada orang dewasa berkisar 15-23 % (Brandel, 2001). Sawczuk melaporkan hanya 13 % dari laki-laki Amerika yang menderita varikokel akan menjadi infertil (Sawczuk, 1993), sedangkan Saypol dan Cameron melaporkan 25-40% laki-laki infertil disebabkan oleh varikokel (Saypol, 1981). Secara umum insiden varikokel pada populasi umum berkisar antara 15-20% (Coolsact, 1980).

Di Indonesia sendiri belum ada publikasi data mengenai insiden varikokel ini. Perbaikan fertilitas pria sangat bermakna setelah dilakukan tindakan pada varikokel ini. Tindakan tersebut berupa vasoligasi vena spermatika interna baik pada satu atau pada bilateral dengan berbagai macam teknik operasi.

Adanya perubahan struktur pada biopsi testis pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Coolsaet, melaporkan adanya penurunan volume testis yang bermakna pada sekelompok kecil laki-laki muda yang terdiagnosa varikokel secara kebetulan (Coolsaet, 1981). Gambaran cairan seminal pada pria subfertil dengan varikokel pertama dikemukakan oleh McLeod, 1965, yang melihat adanya oligospermia namun yang lebih penting adalah adanya tanda-tanda kegagalan motilitas sperma dan peningkatan sperma imatur (Coolsaet, 1981; Rafjer, 1998).

Penyebab efek bilateral pada varikokel unilateral kiri juga belum jelas diketahui. Shafik, 1984, membantah pengaruh bilateral dari varikokel disebabkan oleh refluk vena kontralateral dan hipertensi vena, karena ternyata tekanan vena pada penderita *nonvaricose* yang infertil didapatkan normal. Namun terdapat perbedaan tekanan vena antara kedua sisi yang menyebabkan aliran darah melintasi vena komunikasi dan membawa metabolit toksik dari sisi varikokel tekanan tinggi ke sisi dengan tekanan rendah. Pengaruh infertilitas yang diakibatkannya memberi kesan bahwa gangguan spermatogenesis terjadi pada kedua sisi. (Shafik, 1984)

Akhir-akhir ini investigasi terhadap patogenesis infertilitas pria lebih diarahkan pada tiga tipe analisa yaitu evaluasi histopatologi biopsi testis dan uji hormonal yang berpengaruh pada regulasi spermatogenesis serta peranan radikal bebas (Santoro, 1999; Asci, 1999; Cameron 1980).

Beberapa penelitian terakhir mengemukakan peranan senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species*) dalam modulasi seksual dan fungsi reproduksi. Pada penderita varikokel didapatkan peningkatan senyawa oksigen reaktif. Perubahan ini dihubungkan dengan perubahan fungsi sperma dan infertilitas yang banyak dijumpai pada penderita varikokel (Hendin, 1999).

Sulaiman, tahun 1996 menyatakan bahwa asthenospermia merupakan faktor utama penyebab infertilitas pria. Motilitas sperma tergantung pada integritas dari selubung mitokondria. Fosfolipid yang merupakan komponen utama selubung mitokondria sangat mudah diserang oleh radikal bebas, yang akan mengakibatkan motilitas spermatozoa yang menurun. (Sulaiman, 1996)

Malondialdehid adalah salah satu jenis aldehid yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid akibat serangan senyawa oksigen reaktif pada asam lemak tidak jenuh yang merupakan penyusun utama membran sel, termasuk spermatozoa. Kadar Malondialdehid dalam jaringan testis, kami pakai untuk menilai kadar senyawa oksigen reaktif yang terjadi akibat varikokel unilateral kiri.

Berdasarkan fakta-fakta tersebut di atas, pada penelitian ini akan dicari mekanisme kejadian infertilitas pada pria dengan varikokel unilateral kiri yang sampai kini belum jelas.

Sehubungan dengan kode etik yang tidak memungkinkan untuk dilakukannya varikokel eksperimental pada manusia, maka penelitian ini kami lakukan pada hewan model yang secara klinis memberikan pola yang sama seperti pada manusia yaitu hewan kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Dari studi kepustakaan, tidak pernah dilaporkan adanya varikokel alami pada hewan kelinci.

Dipilih varikokel artifisial yang kiri agar menyerupai epidemiologi varikokel pada manusia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Pada penelitian ini akan dicari jawaban dari beberapa permasalahan yaitu:

1. Apakah terdapat perbedaan kadar MDA testis kiri yang bermakna antara kelompok kelinci dengan varikokel kiri buatan dibandingkan dengan kelompok kelinci varikokel kiri buatan dengan penambahan antioksidan serta terhadap kelinci kelompok kontrol?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar MDA testis kanan yang bermakna antara kelompok kelinci dengan varikokel kiri buatan dibandingkan dengan kelompok kelinci varikokel kiri buatan dengan penambahan antioksidan serta terhadap kelinci kelompok kontrol?
3. Apakah terdapat hubungan antara perubahan kadar MDA dan perubahan motilitas spermatozoa pada kelinci dengan varikokel kiri buatan?
4. Apakah terdapat perbedaan kadar MDA antara testis kiri dan testis kanan pada varikokel kiri buatan pada kelinci.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum :

Mengungkapkan mekanisme perubahan motilitas spermatozoa dalam hubungannya dengan perubahan kadar malondialdehida kedua testis pada varikokel unilateral kiri

### 1.3.2 Tujuan khusus :

1. Membuktikan varikokel kiri buatan pada kelinci akan mengakibatkan perbedaan kadar malondialdehida pada testis kiri dibandingkan kelompok dengan varikokel dan antioksidan serta kelompok kontrol.
2. Membuktikan varikokel kiri buatan pada kelinci akan mengakibatkan perbedaan kadar malondialdehida pada testis kanan dibandingkan kelompok dengan varikokel dan antioksidan serta kelompok kontrol.
3. Membuktikan adanya hubungan antara perubahan kualitas sperma yang dinyatakan dengan motilitas spermatozoa pada varikokel kiri buatan pada kelinci dengan kadar malondialdehida.
4. Menilai pengaruh antioksidan terhadap kadar malondialdehida akibat varikokel kiri buatan pada kelinci

#### **1.4 Manfaat Penelitian.**

##### 1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Memberikan informasi tentang pengaruh varikokel kiri buatan terhadap perubahan kadar malondialdehida pada testis kiri dan kanan.
2. Menjawab pertanyaan bagaimana mekanisme kejadian infertilitas pada varikokel unilateral kiri. Adanya perubahan kadar malondialdehida menunjukkan adanya senyawa oksigen reaktif yang bermakna pada jaringan testis bilateral tentunya akan mempengaruhi proses spermatogenesis pada tingkat testikular.

##### 1.4.2 Manfaat Klinis

1. Melalui penelitian ini diketahui pengaruh pemberian antioksidan terhadap kualitas sperma pada penderita varikokel kiri.

## BAB 2

### TINJAUAN KEPUSTAKAAN

#### 2.1. Varikokel

Varikokel didefinisikan sebagai dilatasi abnormal vena pada pleksus pampiniformis testis (Brandel, 2001; La Nasa,1987). Merupakan suatu keadaan patologis yang sering ditemukan. Kepentingan varikokel terletak pada kaitannya dengan infertilitas pada pria. Pada abad pertama, Celsus telah menggambarkan adanya pembengkakan pada vena di atas testis dan atrofi testis pada sisi yang terkena. Laporan pertama tentang perbaikan pada kualitas sperma dan kehamilan setelah perbaikan varikokel dilaporkan oleh Barwell pada tahun 1885, Bennett tahun 1889, dan Macomber dan Sanders pada tahun 1929. Perhatian pada koreksi pembedahan baru berkembang setelah laporan Tulloch's pada tahun 1952 yang menggambarkan varikokelektomi pada pasien dengan varikokel bilateral dan azoospermia yang akhirnya menjadi normospermia dan istrinya menjadi hamil (Pryor,1987; Hurt,1987 ).

Insidensi yang dilaporkan berkisar dari 19% sampai 41% pada laki-laki infertile (Pryor,1987; Hurt,1987; Brandell, 2001). Sementara insiden varikokel pada populasi laki-laki sekitar 8-23% (Hendin,1999; Saypol,1981). Karena secara umum diterima bahwa insiden infertilitas pada laki adalah 5%, maka dapat dikatakan bahwa tidak semua varikokel menyebabkan infertil. (Pryor,1987; Hurt,1987). Pada laki-laki remaja juga dilaporkan mempunyai insiden yang hampir sama seperti pada laki-laki dewasa yaitu sekitar 16%. (Santoro,2001; Alkan,1997 ; Rajfer,1998).



Terjadinya dilatasi pleksus pampiniformis pada varikokel mungkin disebabkan oleh salah satu dari sejumlah faktor yang telah dikemukakan oleh para peneliti. Penyebab yang paling banyak dikemukakan adalah abnormalitas pada katup vena, panjangnya vena spermatica interna kiri, obstruksi partial vena spermatica interna kiri oleh arteri mesenterika superior dan perubahan degenerasi pada vena-vena dari pleksus pampiniformis itu sendiri. (Sayfan, 1985).

Mayoritas studi mengklaim bahwa kebanyakan varikokel (78–93%) terjadi pada sisi kiri dan ini mungkin berkaitan dengan perbedaan aliran vena pada kedua sisi. Vena spermatica interna kiri masuk ke vena renalis kiri pada sudut yang lebih tegak sedang vena spermatica interna kanan mengalir secara oblique ke vena cava inferior. Karena vena spermatica interna kiri 8 – 10 cm lebih panjang dari sisi yang kanan dan tekanan yang tinggi dari vena renalis kiri pada posisi tegak, maka dianggap bahwa vena spermatica yang kiri berperan sebagai kolom hidrostatik yang panjang dengan peningkatan tekanan pada posisi tegak. Tekanan yang tinggi ini dianggap bertanggung jawab terhadap pembentukan varikokel dan menjelaskan insiden yang tinggi pada sisi kiri. Selain itu dikatakan bahwa 40% vena spermatica interna kiri tidak mempunyai katup sedang yang kanan hanya 23% (Pryor,1987). Adanya *nutcracker phenomenon* dimana terdapat penekanan dari vena renalis kiri antara aorta dibagian posterior dan arteri mesenterika superior dibagian depannya juga pernah dilaporkan (Coolsaet,1980; Brandell,2001; Rajfer,1998 ). Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Shafik bahwa pembentukan varikokel berhubungan dengan insufisiensi serabut otot kremaster dalam korda spermatica yang menyebabkan hilangnya mekanisme pompa terhadap aliran vena spermatica interna (Shafik,1984), namun teori ini

dibantah oleh Sayfan yang tidak menemukan pembentukan varikokel pada 40 penderita yang dieksisi lapisan korda spermatika saat herniorafi (Sayfan,1985).

Walaupun hubungan pasti antara varikokel dan infertilitas belum jelas, namun sekitar 40% laki-laki yang infertil secara klinis memperlihatkan adanya varikokel.(Rajfer,1998) Mekanisme bagaimana varikokel bisa merubah fisiologi testis sangat sukar untuk dipahami. Berbagai teori telah dikemukakan oleh para ahli. Swerdloff dan Walsh mengukur kadar estradiol, *follicle-stimulating hormone* (FSH), *luteinizing hormone* (LH), dan testosteron pada vena perifer yang dibandingkan dengan kadar testosteron dan estradiol dari vena spermatika pada penderita varikokel dan kelompok kontrol, mereka mendapatkan hasil yang sama pada kedua grup (Pryor,1987). Adanya peningkatan respon gonadotropin (FSH dan LH) terhadap gonadotropin releasing hormone (GnRH) dan peningkatan respon prolaktin terhadap thyrotropin-releasing hormone pada penderita varikokel memberi asumsi bahwa sebagian pria infertil yang disertai varikokel terdapat perubahan integritas hormonal pada aksis hypothalamic-pituitary-testicular (Pryor, 1987; Hurt, 1987; Su Li-Ming, 1995; Podesta,1994) dan bahwa perubahan tersebut menjadi normal setelah koreksi pembedahan mendukung hipotesis yang menyatakan disfungsi hormonal testis akibat varikokel dapat kembali normal dengan varikokelektomi (Su Li-Ming,1995). Shakhov EV menyatakan bahwa ada interaksi sistem endokrin hipofise-gonad dengan varikokel. Didapatkan 18% penderita varikokel dengan kadar FSH yang tinggi berhubungan dengan oligo-patospermia dan perubahan pada epitel spermatogenik dan 15% penderita varikokel memiliki kadar testosteron yang rendah yang berkaitan dengan hipogonadisme (Shakhov,1993). Atekeler dan kawan-kawan melaporkan adanya

sedikit peningkatan kadar FSH dan LH basal namun tidak bermakna bila dibanding kontrol (Atekeler, 1996). Beberapa peneliti lain juga melaporkan tidak ada perbedaan yang bermakna kadar hormonal pre dan post operasi dan mekanisme tersebut tidak dapat menjelaskan pengaruh hormonal tersebut pada semua pasien dengan varikokel (Pryor, 1987).

Refluk metabolit renal dan adrenal adalah salah satu mekanisme yang mungkin menyebabkan perubahan pada spermatogenesis. Banyak peneliti yang menemukan adanya refluk aliran darah dari vena renalis kiri kedalam vena spermatika pada pemeriksaan venografi. Comhaire mengemukakan bahwa varikokel selalu disebabkan oleh adanya refluk vena yang membawa bahan-bahan vasoaktif yang menyebabkan arteriokonstriksi kronis pada tingkat testikular dan mungkin berhubungan dengan disfungsi epididimal testikular pada beberapa penderita varikokel (Comhaire, 1984). Dikatakan bahwa darah dari vena adrenal kiri dan vena renalis kiri membawa bahan-bahan metabolit toksik seperti steroid (inhibitor spermatogenik yang poten) dalam konsentrasi yang relatif lebih tinggi. Bahan-bahan tersebut masuk kedalam vena spermatika interna dalam keadaan belum didetoksifikasi dan dapat mencapai kedua testis yang mempengaruhi produksi sperm. (Nudell, 2001) Hanley dan Harrison yang pertama kali mengemukakan adanya hubungan infertilitas pada varikokel dengan pengaruh sekunder dari peningkatan temperatur dalam skrotum akibat stasis darah, kemudian ini dibantah oleh Tessler dan Krahn. Namun beberapa peneliti lain seperti Comhaire (1984), Mann T dan kawan-kawan juga mendapatkan adanya perubahan suhu yang berhubungan dengan varikokel. (Mann, 1981). Lund, melaporkan tidak ada perbedaan suhu kulit skrotum pada laki-laki dengan

varikokel dan tanpa varikokel. Eksperimen dengan melakukan varikokel buatan pada tikus dengan cara meligasi cabang utama vena spermatika interna kiri atau ligasi parsial vena renalis kiri dan mendapatkan adanya kenaikan suhu yang bermakna pada testis dan epididimis bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (Lund, 1996; Hurt, 1987). Peneliti lain juga mendapatkan hasil yang sama dari penelitiannya pada tikus dan anjing dewasa (Saypol, 1981).

Stagnasi aliran darah pada sistim sirkulasi testis telah banyak dilaporkan dalam kaitannya dengan hipoksia pada varikokel menyebabkan perubahan spermatogenesis. Jejas oksidatif merupakan satu istilah yang dipakai untuk menerangkan kerusakan jaringan yang disebabkan oleh penyerangan radikal bebas pada jaringan. Kondisi jejas oksidatif ini dapat disebabkan oleh panas, trauma, radiasi, infeksi, hipoksia, racun, iskemia dan lain-lain. Hal ini diyakini memberikan pengaruh yang besar terhadap disfungsi spermatozoa (Alkan,1997; Hendin,1999).

Varikokel kiri buatan terbukti mengakibatkan terjadinya peningkatan suhu dan aliran darah pada testis bilateral. Menurut Turner dan kawan-kawan, organ kontralateral mungkin memberikan respon terhadap jejas pada satu sisi melalui mekanisme hormonal ataupun neural. Walaupun kemungkinan adanya vena komunikasi diantara keduanya belum dapat disingkirkan (Turner, 1990).

## 2.2. Senyawa Oksigen Reaktif, Anti Oksidan dan Cara Pengukuran Kadar

### Senyawa Oksigen Reaktif

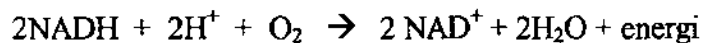
#### 2.2.1. Senyawa Oksigen Reaktif

Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*). Radikal bebas memiliki dua sifat yaitu reaktivitas tinggi, karena kecenderungan menarik elektron dan sifat yang dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal karena radikal bebas memiliki reaktivitas yang tinggi dan cenderung membentuk radikal baru lagi sehingga terjadi reaksi rantai (*chain reaction*). Reaksi rantai ini baru berhenti apabila radikal bebas itu dapat diredam (*quenched*) (Suryohudoyo, 2000).

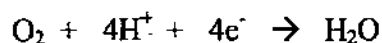
Seluruh reaksi radikal bebas dapat dijabarkan menjadi 3 tahap yaitu tahap inisiasi, propagasi dan terminasi. Karena reaktivitasnya yang tinggi, radikal bebas tidak stabil dan berumur sangat pendek sehingga sulit dideteksi kecuali dengan metoda khusus seperti EPR (*electron paramagnetic resonance*) (Halliwell, 1999).

Oksidan yang terlibat dalam proses patologis sebagian besar berasal dari proses-proses biologis alami dan melibatkan senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species*) sebagian diantaranya berbentuk radikal seperti radikal hidroksil ( $\text{OH} \cdot$ ), radikal peroksil ( $\text{OOH} \cdot$ ) dan ion superoksida ( $\text{O}_2 \cdot^-$ ) dan sebagian lagi bukan radikal seperti singlet oksigen ( $^1\text{O}_2$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan ion hipoklorit ( $\text{ClO}^-$ ) (Halliwell 1, 1999; Suryohudoyo, 2000).

Senyawa oksigen reaktif berasal dari oksigen ( $O_2$ ), senyawa yang diperlukan semua organisme aerobik untuk menghasilkan ATP. Proses tersebut secara sederhana digambarkan sebagai berikut: (Halliwell 1, 1999; Suryohudoyo, 2000)



Pada proses tersebut terjadi reduksi  $O_2$  menjadi  $H_2O$  yang dapat digambarkan sebagai persamaan reaksi di bawah ini:

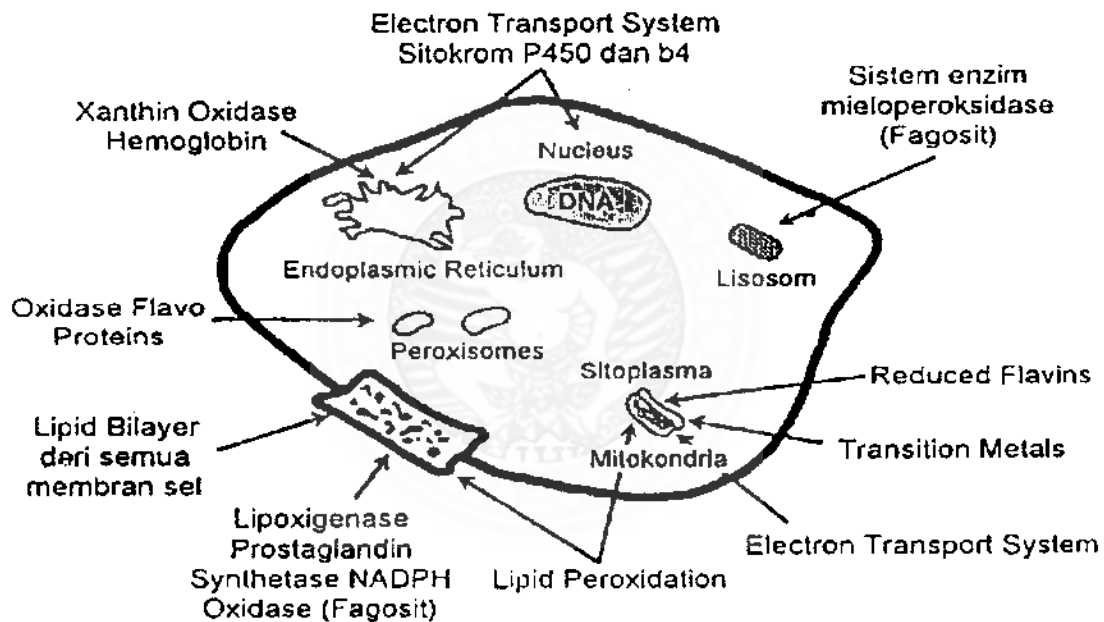


Sekitar 1-3% oksigen pernafasan digunakan untuk membuat superoksida sehingga dapat menjadi 2 kg pertahun. Radikal bebas dibentuk sebagai suatu proses biokimia normal yang dihasilkan pada respirasi mitokondria, metabolisme asam arachidonat dan aktivasi fagosit.

Dalam keadaan tertentu pengalihan elektron berjalan kurang sempurna sehingga terjadi senyawa oksigen reaktif yang sangat berbahaya, yang akan merusak sel apabila tidak diredam. Keadaan ini disebut jejas oksidatif. Jejas oksidatif ini dapat dicetuskan oleh kondisi panas, trauma, sinar ultraviolet, radiasi, racun, infeksi hiperoksia dan iskemia. Gambar sistematika lokasi tentang sumber-sumber radikal bebas dapat dilihat pada gambar 1. Kondisi ini akan menimbulkan keadaan:

1. Fagositosis dan aktivasi yang menghasilkan  $O_2^{\bullet -}$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO^{\bullet}$
2. Pelepasan asam arachidonat, pembentukan enzim peroksidase oleh aktivasi enzim lipoksigenase, siklooksigenase.

3. Pelepasan ion metal dari protein penyimpan dan transpor (Fe, Cu) yang akan merangsang pembentukan  $\text{OH}^{\bullet}$
4. Pelepasan protein heme, yang beraksi dengan peroksidase dan melepaskan ion  $\text{Fe}^{++}$
5. Xantin oksigenasi dalam mitokondria
6. Gangguan pada pertahanan antioksidan.

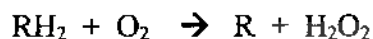


**Gambar 1.** Sumber radikal bebas oksigen dalam sel. Adaptasi dari : Askandar T, Ari S : Radikal Bebas dan Diabetes (Aspek Klinik - Aplikasi Terapi). Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Saraf Indonesia RSUD Dr. Sutomo - FK Unair, 1995.1-22.

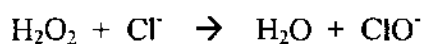
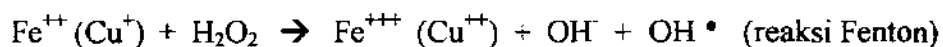
Oksigen ( $\text{O}_2$ ) memiliki 2 elektron yang tidak berpasangan (diradikal), namun tidak terlalu reaktif sebab kedua elektron tersebut terletak pada orbital yang berbeda dan menunjukkan angka kuantum putaran yang sama serta memiliki putaran sejajar (*parallel spin*). Ion superoksida, radikal peroksil, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil terjadi karena pengalihan elektron yang kurang

sempurna pada saat terjadi reduksi oksigen. Molekul oksigen dapat berubah menjadi sangat reaktif bila kedua elektron tunggalnya disatukan dalam 1 orbital dengan putaran yang berlawanan. Molekul oksigen ini disebut dengan singlet oksigen (Askandar, 1995; Halliwell 1, 1999; Suryohudoyo, 2000)

Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) terutama terbentuk karena aktifitas enzim-enzim oksidase yang terdapat dalam retikulum endoplasmik dan peroksisom. Senyawa ini merupakan oksidan kuat dan dapat mengoksidasi berbagai senyawa yang terdapat dalam sel. Reaksi terbentuknya hidrogen peroksida:



Daya rusak hidrogen peroksida bukan hanya karena senyawa tersebut merupakan senyawa oksidan kuat, tetapi juga karena  $H_2O_2$  dapat menghasilkan radikal hidroksil bila bereaksi dengan logam transisi ( $Fe^{++}$  dan  $Cu^{++}$ ). Oksidan lain yang dapat dihasilkan adalah ion hipoklorit ( $ClO^-$ ) melalui reaksi yang dikatalisa enzim mieloperoksidase (terdapat dalam sel-sel radang seperti granulosit, monosit dan makrofag). Adapun reaksinya adalah :



Ion superoksida dapat terbentuk melalui beberapa cara, yaitu :

1. Sebagai reaksi sampingan yang melibatkan  $Fe^{++}$

(a) Proses fosforilasi oksidatif

(b) Proses oksigenasi hemoglobin

(c) Proses hidroksilasi oleh enzim mono oksigenasi

(d) Reaksi :  $Fe^{++} + O_2 \rightarrow Fe^{+++} + O_2^{\bullet -}$



2. Reaksi yang dikatalisis oleh NADH / NADPH oksidase yang terdapat dalam mitokondria dan granulosit



3. Reaksi yang dikatalisa oleh enzim xantin oksidase.

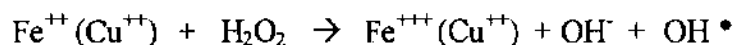


Dalam keadaan iskemia enzim xantin dehidrogenase dapat berubah menjadi xantin oksidase melalui proses proteolisis. Perubahan ini tidak reversibel, akibatnya jika pasokan oksigen kembali normal, terbentuklah ion superoksida yang justru merusak jaringan (jejas reperfusi). Reaksinya sebagai berikut :



Seperti radikal lainnya, radikal peroksil juga sangat reaktif dan dapat membentuk radikal baru serta  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Jadi jelas radikal peroksil lebih berbahaya dibandingkan dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Reaksinya:  $\text{XH} + \text{OOH} \bullet \rightarrow \text{X} \bullet + \text{H}_2\text{O}_2$ .

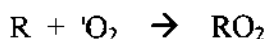
Ion superoksida akan sangat berbahaya apabila terdapat bersamaan dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$  karena akan membentuk radikal hidroksil ( $\text{OH} \bullet$ ) (Reaksi Haber-Weiss). Reaksi ini memerlukan  $\text{Fe}^{+++}$  atau  $\text{Cu}^{++}$  dan melalui 2 tahap :



Secara singkat reaksi Haber-Weiss dapat digambarkan sebagai berikut :



Singlet oksigen merupakan oksigen yang lebih reaktif dibanding oksigen biasa. Singlet oksigen dapat mengoksidase berbagai senyawa, reaksinya :



Singlet oksigen terbentuk pada reaksi yang dikatalisa oleh enzim tertentu, yaitu:

- (a) Enzim mono-oksigenase yang menggunakan sitokrom p450.
- (b) Enzim prostaglandin endoperoksida sintetase, suatu enzim yang berperan dalam pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat
- (c) Reaksi yang dikatalisis oleh enzim mieloperoksidase.

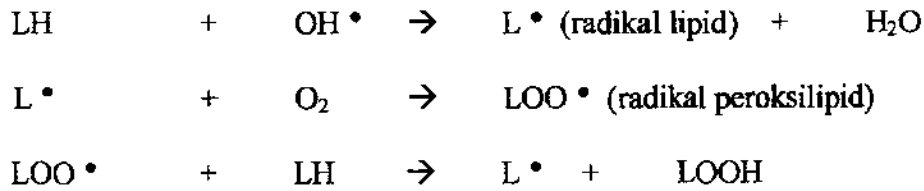
Diantara semua senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil adalah yang paling reaktif dan paling berbahaya. Namun radikal hidroksil bukan merupakan produk primer proses biologik, tetapi berasal dari  $H_2O_2$  dan  $O_2 \cdot^-$

Senyawa oksigen reaktif merupakan oksidan yang kuat dengan derajat kekuatannya yang berbeda. Dampak negatif tersebut timbul karena reaktifitasnya sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk menjaga integritas dan kehidupan sel. Senyawa radikal hidroksil dapat merusak 3 jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu asam lemak (khususnya asam lemak tak jenuh), DNA dan protein (Halliwell 1, 1999).

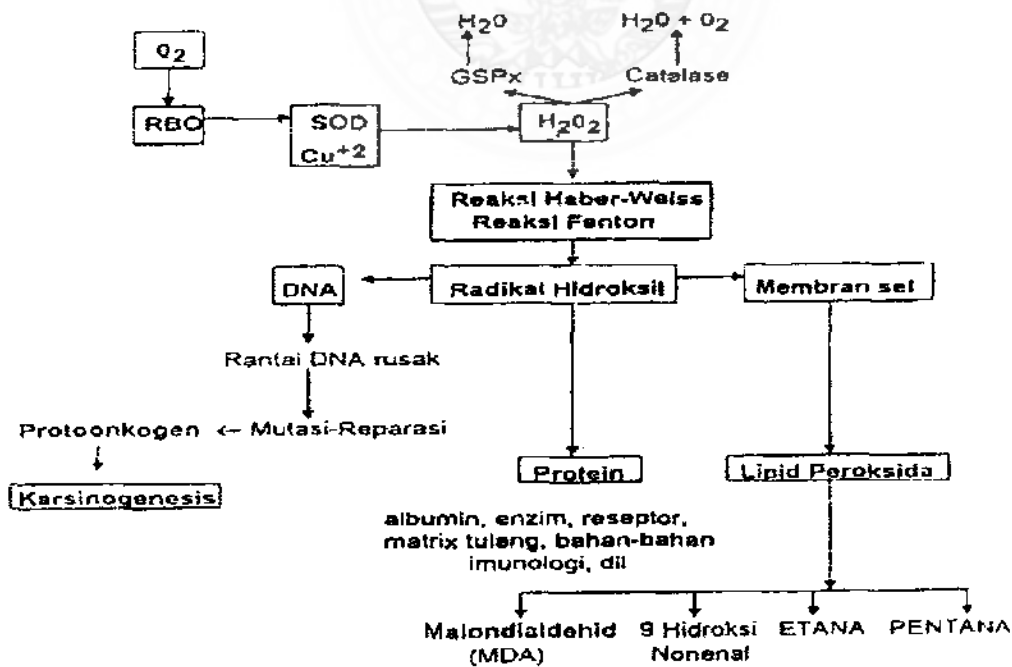
Dampak negatif radikal bebas terhadap membran sel terutama melalui asam lemak tidak jenuh (asam linoleat, linolenat dan arakidonat) yang merupakan komponen terpenting penyusun membran sel (fosfolipid dan glikolipid). Radikal bebas khususnya radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal sebagai peroksidasi lipid (Halliwell 1, 1999)

Pada gambar 2 diterangkan hasil akhir dari reaksi rantai ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksis terhadap sel, antara lain aldehida seperti malondialdehida (MDA), 9 hidroksi-neononal serta bermacam-macam hidrokarbon seperti etana ( $C_2H_6$ ) dan pentana ( $C_5H_{12}$ ). (Halliwell 1, 1999; Suryohudoyo, 2000)

Reaksi peroksidase lipid :



Dampak negatif terhadap DNA, pada gambar 2, dapat mengakibatkan perubahan berupa hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tidak parah dapat diperbaiki dengan sistem perbaikan DNA. Jika kerusakan terlalu parah, maka kerusakan tidak dapat diperbaiki lagi dan terjadi gangguan replikasi sel. Susahnya perbaikan ini justru sering menimbulkan mutasi karena adanya kesalahan (*error prone*). Protein dirusak melalui reaksi dengan asam-asam amino yang menyusun protein. Diantara asam amino yang paling rawan adalah sistein yang mengandung gugus sulfhidril (SH). (gambar 2). (Suryohudoyo, 2000)



**Gambar 2.** Mekanisme rusaknya sel akibat pengaruh radikal bebas. Adaptasi dari: Askandar T, Ari S : Radikal Bebas dan Diabetes (Aspek Klinik - Aplikasi Terapi). Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Saraf Indonesia RSUD Dr. Sutomo - FK Unair, 1995.1-22.

### 2.2.2. Antioksidan

Organisme aerobik dapat bertahan terhadap serangan radikal bebas karena alam menyediakan senyawa antioksidan yang meredam dampak negatif oksidan. Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron. Namun dalam pengertian biologis diartikan sebagai senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan termasuk enzim dan protein pengikat logam. Pemeriksaan status antioksidan tubuh dapat dilakukan melalui pengukuran status antioksidan total (metode ABTS assay = 1320-1580  $\mu\text{M}$ ) dan enzim-enzim antioksidan seperti SOD, GPx dan status selenium (Askandar, 1995; Suryohudoyo, 2000).

Dalam meredam dampak negatif oksidan terdapat strategi 2 lapis yaitu mencegah terhimpunnya senyawa oksidan secara berlebihan dan mencegah reaksi rantai lebih lanjut. Berdasarkan mekanisme pencegahannya anti oksidan dibagi menjadi 2 golongan yaitu antioksidan pencegahan (*preventive anti oxidants*) dan antioksidan pemutus rantai (*chain breaking anti oxidants*) (Askandar, 1995; Halliwell 3, 1999; Suryohudoyo, 2000).

Antioksidan pencegah tujuan utamanya adalah mencegah terjadinya radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat dibentuk dengan bantuan tiga komponen yaitu logam transisi Fe atau Cu,  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan  $\text{O}_2 \bullet^-$ . Untuk mencegah reaksi Fenton maka harus dicegah keberadaan  $\text{Fe}^{++}$  atau  $\text{Cu}^+$  bebas. Beberapa protein penting untuk itu adalah transferin atau feritin untuk Fe dan seruloplasmin atau albumin untuk  $\text{Cu}^+$ . Penimbunan  $\text{O}_2 \bullet^-$  dicegah oleh enzim superoksida dismutase (SOD). Penimbunan  $\text{H}_2\text{O}_2$  dicegah melalui 2 enzim yaitu enzim katalase dan enzim peroksidase. Diantara berbagai peroksidase yang paling penting adalah glutathion

peroksidase (GPx). Apabila radikal hidroksil masih terbentuk, terdapat sarana lain untuk meredamnya dengan melibatkan senyawa yang mengandung gugusan sulfhidril seperti glutation (GSH) dan sistein (Cys-SH) (Suryohudoyo, 2000).

Anti oksidan pemutus reaksi rantai terdiri dari vitamin E (tokoferol), asam askorbat (vitamin C),  $\beta$ -karoten dan 2 senyawa yang juga berperan sebagai anti oksidan pencegahan yaitu glutation dan sistein. Tokoferol dan  $\beta$ -karoten bersifat lipofilik, sehingga dapat berperan pada membran untuk mencegah peroksidase lipid. Sebaliknya vitamin C, glutation dan sistein bersifat hidrofilik dan berperan dalam sitosol. Karena keberadaannya dalam membran, vitamin E (Toc-H) dapat beraksi dengan radikal lipid ( $L^{\bullet}$ ) dan radikal peroksilipid ( $LOO^{\bullet}$ ) (Suryohudoyo, 2000).



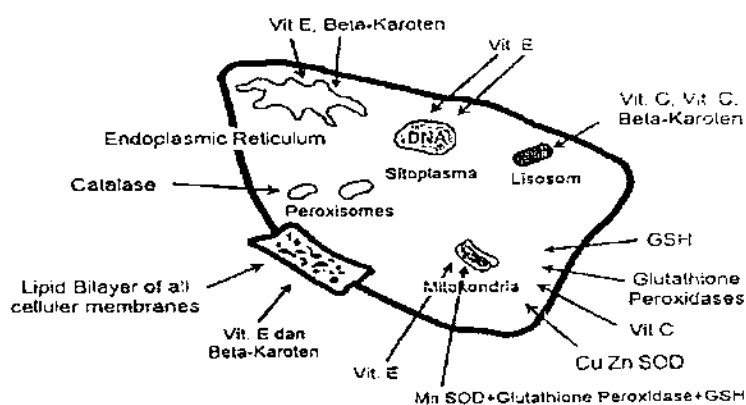
Radikal vitamin E (Toco) tidak terlalu reaktif karena terjadi resonansi. Meskipun demikian, radikal vitamin E perlu juga dihilangkan. Untuk itu terdapat 3 cara yaitu (Suryohudoyo,2000):

1. Radikal vitamin E mengalami reaksi-reaksi intramolekul menghasilkan senyawa non radikal
2. Setelah bergeser kearah permukaan molekul, radikal vitamin E beraksi dengan vitamin C dan menghasilkan radikal vitamin C.
3. Radikal vitamin C kemudian dihilangkan melalui reaksi dismutasi yang menghasilkan vitamin C dan dehidro-asam askorbat (DHAA). Radikal vitamin E dapat bereaksi dengan glutation dan sistein yang juga terdapat dalam sitosol.

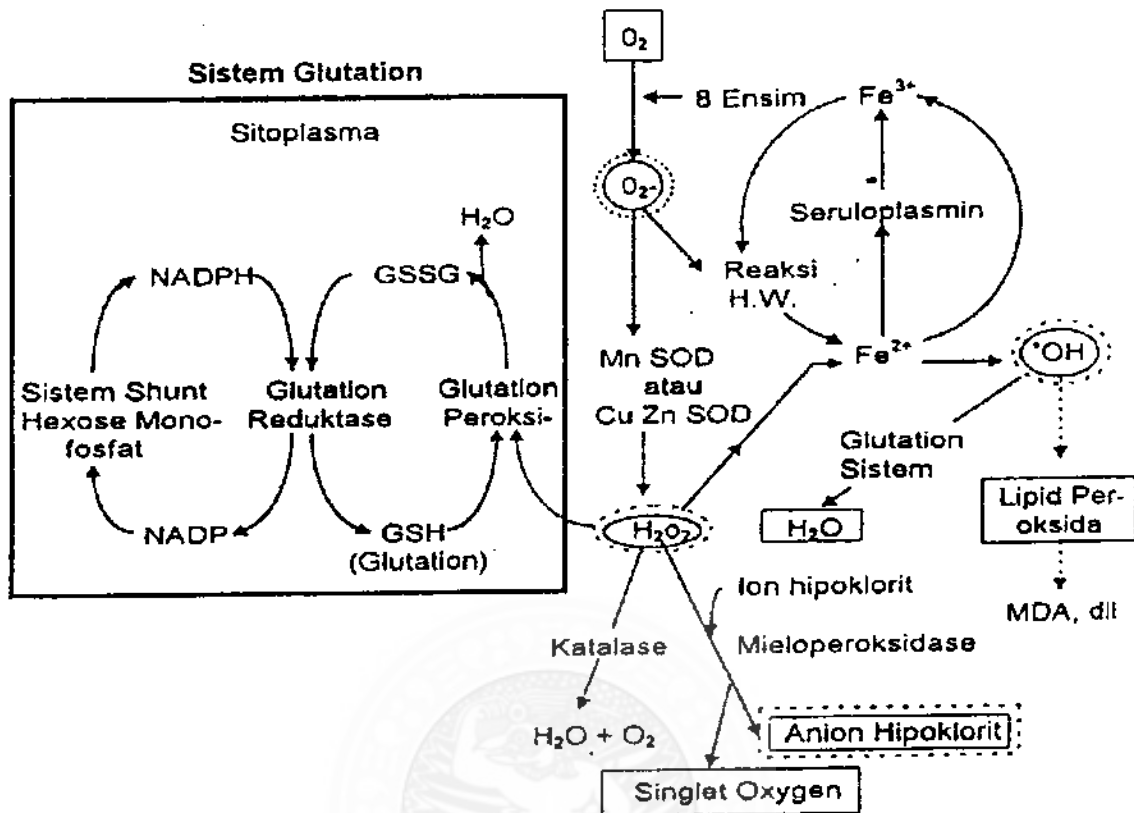
Vitamin A adalah salah satu vitamin yang larut dalam lemak. Vitamin ini dapat mempengaruhi permeabilitas atau transport pada berbagai membran sel dan bekerja sebagai oksidator atau reduktor, koenzim atau inhibitor enzim. Vitamin  $\beta$  karoten yang bersifat lipofilik ini merupakan peredam singlet oksigen yang paling kuat, terutama bekerja pada  $PO_2$  yang rendah. Karena sifatnya yang lipofilik  $\beta$  karoten dapat berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasi lipid, melindungi lisosom dan endoplasmik retikulum (Askandar, 1995; Halliwell, 1999).

Selenium suatu *trace element* yang diperlukan oleh tubuh, merupakan bagian penting dari enzim glutathion peroksidase (GPx) yang melindungi membran sel dengan cara menghancurkan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh SOD (Superoksida Dismutase) dalam sitosol dan mitokondria. Selenium penting untuk enzim GPx untuk berfungsi normal sebagai antioksidan. (Halliwell, 1999)

Antioksidan juga dibedakan atas antioksidan enzimatis (SOD, katalase, glutathion peroksidase) dan antioksidan nonenzimatis seperti  $\beta$  karoten, tocoferol (lipofilik), vitamin C (hidrofilik). Pada gambar 3 ditunjukkan beberapa tempat titik tangkap kerja yang berbagai antioksidan dalam sel (Askandar, 1999).



**Gambar 3.** Titik tangkap kerja antioksidan. Adaptasi dari : Askandar T, Ari S : Radikal Bebas dan Diabetes (Aspek Klinik - Aplikasi Terapi). Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan, Surabaya, 1995, p. 1-22



**Gambar 4** Proses terbentuknya RBO dan mekanisme pencegahannya. Adaptasi dari : Askandar T, Ari S : Radikal Bebas dan Diabetes (Aspek Klinik - Aplikasi Terapi). Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Saraf Indonesia RSUD DR. Sutomo - FK Unair, 1995.1-2

Gambar diatas menunjukkan bagaimana radikal bebas oksigen yang terbentuk dapat dinetralsisir oleh SOD menjadi hidrogen peroksida (pro-oxidant). Melalui reaksi Hubber Weis dan Fenton terbentuk radikal hidroksil yang sangat toksis terhadap sel tubuh, serta dapat merusak membran sel melalui lipid peroksida. Namun reaksi tersebut diatas dapat dicegah oleh beberapa antioksidan seperti seruloplasmin dan albumin untuk  $\text{Cu}^{2+}$  dan transferin serta feritin untuk pencegahan  $\text{Fe}^{2+}$ . Penimbunan hidrogen peroksida dikurangi oleh 2 ensim yaitu katalase dan peroksidase. Ensim peroksidase terpenting adalah glutation peroksidase. (Askandar, 1999)

Glutation peroksidase dengan selenium sebagai komponen integralnya melengkapi garis pertahanan kedua untuk menghancurkan hidrogen peroksida, setelah vitamin E yang merupakan garis pertahanan pertama terhadap peroksidasi fosfolipid sel dan membran subseluler. Selenium dan vitamin E mempunyai efek sinergis dalam memerangi radikal bebas dan kerusakan sel. (Halliwell 3, 1996)

Seng (zinc), Copper (Cu) dan Manganese (Mn) merupakan komponen SOD yang terdapat dalam sitosol dan mitokondria. Enzim ini merubah superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang dinetralisir oleh katalase dan GPx. (Halliwell 3, 1999)

### 2.2.3 Cara Pengukuran Senyawa Oksigen Reaktif dan Kadar Antioksidan

Radikal bebas sangat tidak stabil, bereaksi sangat cepat dan kadar yang dicapai sangat rendah ( $10^{-4}$  -  $10^{-9}$  M) serta berada tidak jauh dari tempat terbentukannya. Misalnya radikal hidroksil, dapat mempengaruhi sel secara efektif pada radius sekitar  $30 \text{ \AA}$ , dan waktu paruhnya singkat sekali (hanya  $10^{-7}$  detik) sehingga sukar untuk dianalisa langsung (Southorn, 1988).

Satu-satunya cara untuk melihat radikal bebas secara langsung adalah *electron paramagnetic resonance spectroscopy* (EPRS) atau sering dikenal sebagai *electron spin resonance* (ESR). Teknik ini dikerjakan dengan mengukur perubahan energi yang terjadi pada saat elektron yang tidak berpasangan bereaksi dengan medan magnetik eksternal. ESR dipakai untuk mendeteksi secara langsung radikal  $\text{O}_2^{\bullet -}$  dan  $\text{OH}^{\bullet -}$  namun teknik ini kurang sensitif jika dipakai pada makhluk hidup. Terdapat metode lain untuk mengukur kadar radikal bebas secara tidak langsung seperti metode *trapping* dan *fingerprinting*. *Trapping*



dikerjakan dengan membuat radikal bebas beraksi dengan molekul trap yang menghasilkan produk yang lebih stabil. Metode *Fingerprint Assay* digunakan untuk menentukan adanya radikal bebas dalam darah dengan menentukan konsentrasi MDA yang merupakan hasil akhir peroksidasi lipid. Senyawa oksigen reaktif dapat dinyatakan sebagai '*agents of tissue injury*' dengan memeriksa tipe perubahan kimia yang dihasilkan pada saat bereaksi dengan molekul biologis (Halliwell 2, 1999; Southorn, 1988).

Peroksidasi lipid merupakan satu proses kompleks yang terjadi pada beberapa tahap. Terdapat banyak teknik untuk mengukur hasil peroksidasi lipid dan tidak satupun yang dapat dikatakan paling akurat. Peroksidasi lipid akan menyebabkan hilangnya rantai asam lemak tidak jenuh dan menghasilkan hidrolisa lipid yang dapat diukur (Halliwell 2, 1999).

Pengukuran hasil akhir peroksidasi lipid juga dianggap sebagai '*fingerprint assay*', misalnya MDA (*Malondialdehyde*) dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi TBA (*Thiobarbituric Acid*). Yaitu pemanasan dengan TBA pada situasi basa dan mengukur terbentuknya warna *pink* pada atau sekitar 532 nm (mengukur nilai fluoresens). MDA merupakan kelompok aldehid yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan atom hidrogen dari air atau alkohol. Karena adanya ikatan ini, kelarutan aldehida dalam air sejajar dengan alkohol. MDA yang memiliki ikatan gabungan 2 asam amino akan memproduksi molekul fluoresens. Produknya, basa aminoiminopropene Schiff (basa imin), terbentuk stabil pada pH asam. Metode ini mudah dilakukan, namun mempunyai kelemahan yaitu tidak spesifik. MDA dapat dimetabolisme oleh jaringan, konsentrasi dalam plasma dapat dipengaruhi (meningkat) oleh penyakit: misalnya hepatitis, hiperlipidemia

dan hanya menggambarkan sebagian proses peroksidasi lipid. Konsentrasi MDA dalam plasma manusia sehat adalah  $0.45 \pm 0,35 \mu\text{M}$  tanpa penambahan *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan  $0.10 \pm 0.10 \mu\text{M}$  dengan penambahan BHT pada sampel. Pada akhir-akhir ini, penelitian terhadap '*prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds*' (*Isoprostanes*) yang terdapat dalam plasma manusia (30-40 pg/ml) dan urin ( $\pm 2 \text{ ng/mg creatinine}$ ) dapat dipakai sebagai petunjuk adanya peroksidasi lipid (Halliwell 2, 1999; Southorn, 1988)

Kadar antioksidan yang diukur dengan menggunakan teknik TRAP (*total radical trapping antioxidant parameter*) dengan bahan cairan tubuh yang dikalibrasi dengan analog vitamin E, Trolox C. Masih terdapat jenis-jenis pemeriksaan kadar total antioksidan yang lain seperti *chemiluminescence*, teknik *phycoerythrin*, ABTS, FRAP (*ferric reducing ability of plasma*) dan lain-lain.

Pada penelitian yang dikerjakan Mir H.Ali dan kawan-kawan dengan menggunakan vena umbilikal manusia membuktikan bahwa hipoksia lama akan membuat perubahan yang reversibel pada endotelial. Juga disebutkan bahwa senyawa oksigen reaktif dan sitokin akan meningkatkan permeabilitas endotelial. Ali menyimpulkan bahwa senyawa oksigen reaktif bertindak sebagai elemen *signaling* yang mengatur sekresi sitokin proinflamasi, seperti IL-6 (terutama), IL-8, TNF $\alpha$  dan IL-1 $\alpha$ , untuk merubah permeabilitas endotelial. Ogawa juga membuktikan bahwa hipoksia kronis akan merubah fungsi *barrier* endotelial yang reversibel. Radikal bebas yang tidak stabil, bereaksi cepat dengan kadar sangat rendah serta berada dekat dari tempat terbentukannya, sekitar 30 Å. (Ali, 1999; Southorn, 1988)

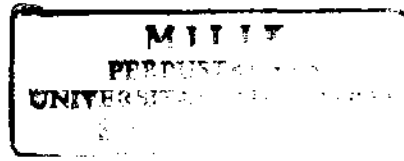
### 2.3. Sperma

Sperma terdiri dari spermatozoa yang diproduksi di tubulus seminiferus dan plasma sperma yang dihasilkan oleh kelenjar epididimis, vas deferens, vesikula seminalis, prostat, kelenjar Cowperi dan kelenjar Littre (Mann, 1981).

Spermatozoa merupakan sel padat, spesifik dan tidak mengalami pertumbuhan. Berawal dari gonosit yang menjadi spermatogonium, spermatosit primer dan sekunder. Tahap selanjutnya spermatid dan akhirnya menjadi spermatozoon. Spermatozoon terdiri dari 2 bagian fungsional, kepala dan ekor. Kepala spermatozoon berbentuk lonjong berukuran 5x3x2 mikron. Sifat genetik pada nukleus terletak pada kepala. Anterior kepala spermatozoon terdapat akrosom yang mengandung enzim hidrolitik seperti hialuronidase, akrosin, corona penetrating enzyme (CPE), yang penting saat fertilisasi (Mann, 1981).

Ekor spermatozoon berasal dari bagian sentriol dengan panjang 55-57 mikron yang terdiri dari *midpiece*, *principle piece* dan *endpiece*. Midpiece terdiri dari sekitar 10-15 mitokondria yang merupakan sumber energi utama pada spermatozoon (Mann, 1981).

Seminal plasma atau plasma sperma merupakan media yang mengandung bahan nutrisi. Sebagian besar 2/3 bagian dari vesikula seminalis dan 1/3 bagian dari prostat. Sementara kelenjar lain hanya memberikan kontribusi sedikit. Volume sperma pada manusia bervariasi antara 2-5 ml, dimana hanya 10% dari spermatozoa. Volume ejakulat pada kelinci bervariasi antara 0,8-1 ml. (Mann, 1981).



#### 2.4. Jejas Pada Sel

Sel normal merupakan mikrokosmos yang berdenyut tanpa berhenti, secara tetap mengubah struktur dan fungsinya (beradaptasi) untuk memberi reaksi terhadap tantangan dan tekanan yang selalu berubah. Bila batas kemampuan adaptasi tersebut dilampaui, akan timbul suatu keadaan yang disebut jejas sel (*cell injury*). Jejas sel dapat bersifat sementara (*reversible*) atau bahkan kematian sel (*cell death = irreversible cell injury*). Pola kematian sel akibat jejas dapat berupa nekrosis dan apoptosis. Nekrosis koagulasi (*coagulation necrosis*) umumnya terjadi karena faktor eksternal seperti: iskhemia dan kimia, sedangkan apoptosis terjadi karena aktivasi program kematian sel yang dikontrol secara internal (*internally controlled suicide program*) (Haliwell 1,1999; Cotran, 1999).

Nekrosis ditandai dengan sel yang membengkak, hilangnya integritas mitokondria, membran plasma, peroxisomal dan lisosom. Bahan-bahan nekrotik dapat mempengaruhi sel sekitar dengan pelepasan enzim lisosomal dan pro oksidan seperti ion besi dan cupper. Apoptosis ditandai dengan sel yang berkerut, kondensasi dan fragmentasi kromosom, kolaps struktur sitoskeletal dan menjadi *apoptotic bodies* tanpa rupturnya membran mitokondria dan lisosom. Akhirnya *apoptotic body* ini difagositosis oleh sel sekitar (Halliwel 1,1999; Cotran, 1999).

Mekanisme biokimia yang bertanggung jawab pada jejas sel sampai kematian sel sangat kompleks. Respon sel secara prinsip ditentukan oleh banyak faktor, diantaranya adalah: jenis, lama, dan beratnya rangsangan, serta jenis, keadaan, dan kemampuan sel untuk beradaptasi (Halliwel 1,1999; Contran, 1999).

Penyebab jejas sel digolongkan dalam beberapa kelompok (Contran, 1999):

1. Gangguan oksigenasi. Iskemia dan keracunan oksigen (*oxigen toxicity*), Istilah ini menggambarkan gangguan oksigenasi dengan pengertian dan pengaruh yang berbeda. Selama iskhemia, glikolitik dengan produk-produknya merupakan upaya menjamin tersedianya energi sehingga iskhemia cenderung menyebabkan jejas sel lebih cepat. Titik pertama hipoksi ialah pernapasan aerob sel, yaitu fosforilasi oksidatif oleh mitokondria (Cotran, 1999).
2. Faktor fisik (*Physical Agents*)
3. Faktor kimia dan obat
4. Faktor infeksi (*Infectious Agents*)
5. Reaksi imunologis (*Immunologic Reactions*)
6. Kelainan genetik
7. Malnutrisi (*Nutritional Imbalances*)

Iskemia merupakan salah satu faktor atau penyebab terbentuknya radikal bebas oksigen yang menyebabkan kerusakan sel, faktor lain adalah: jejas reperfusi, radiasi, inflamasi, keracunan oksigen dan faktor kimia. Iskemia yang berkelanjutan akan menyebabkan kerusakan sel karena meningkatnya radikal bebas oksigen dan atau menurunnya pertahanan antioksidan. Kerusakan sel terjadi karena pengaruh langsung (*direct damage*) terhadap DNA, protein dan atau lipid, dan secara tidak langsung (*secondary damage*) akibat meningkatnya ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan mungkin  $\text{Fe}^{2+}$  intraselular.  $\text{Ca}^{2+}$  merangsang protease dan nuklease yang merusak DNA dan cytoskeleton. Peningkatan senyawa oksigen reaktif dan berkurangnya antioksidan telah dibuktikan menyebabkan peningkatan proses apoptosis, meskipun telah diberikan stimuli hormon glucocortikoid dan sitokin seperti  $\text{TNF}\alpha$

dan TGF $\beta$ . Apoptosis dapat dihentikan atau dikurangi dengan pemberian antioksidan (Halliwell 1,1999; Cotran, 1999).

## **2.5 Varikokel Buatan pada Kelinci**

### **2.5.1. Tinjauan Mengenai Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*)**

Alat kelamin kelinci terdiri dari 2 buah testis dengan vas deferens, kelenjar aksesoris, uretra dan penis. Alat kelamin primer yaitu testis berfungsi memproduksi spermatozoa sedangkan alat kelamin sekunder, rete testis, vas deferens, epididimis dan uretra berfungsi sebagai sarana transpor sperma. Testis kelinci tersimpan dalam kantong skrotum berbentuk oval dan berwarna merah muda. Proses terbentuknya spermatozoon sama dengan manusia. Proses terbentuknya spermatozoon ini terdiri dari 2 fase, spermatogenesis dan spermiogenesis. Fase spermatogenesis berakhir pada terbentuknya 4 buah sel spermatid yang memiliki kromosom haploid. Sedangkan fase spermiogenesis dari spermatid menjadi spermatozoon yang normal. Seluruh proses berlangsung sekitar 40-45 hari dan dibagi menjadi 4 tahap, yaitu tahap proliferasi, tahap tumbuh, tahap menjadi matang dan tahap transformasi (Hardjopranyoto, 1995, Hafez, 1970).

Produksi sperma kelinci tergantung pada berat badan dan jenisnya. Semakin berat dan besar tubuhnya, testis akan semakin besar dan jumlah spermatozoa yang dihasilkan makin banyak. Produksi optimum dicapai pada usia 32 minggu, dimana 1 gram testis dapat menghasilkan 100 juta spermatozoa setiap minggu. Sebagian spermatozoa yang tidak diejakulasi akan mengalami degenerasi dalam epididimis.

Tabel 1. Rata-rata produksi air sperma pada kelinci ukuran sedang

KETERANGAN	JUMLAH
Volume per ejakulat (ml)	0,8
Berat ejakulat	1,7
Jumlah sel sperma per ml ejakulat	10-1000 x 10 <sup>6</sup>
Jumlah sel sperma per ejakulat	200 x 10 <sup>6</sup>
Jumlah sel sperma pada testis	350 x 10 <sup>6</sup>
Produksi sel sperma perhari	170 x 10 <sup>6</sup>
Produksi sel sperma tiap gram testis	24 x 10 <sup>6</sup>
Jumlah sel sperma dalam epididimis	
Caput	140 x 10 <sup>6</sup>
Corpus	60 x 10 <sup>6</sup>
Cauda	600 x 10 <sup>6</sup>
Vas deferens	50 x 10 <sup>6</sup>

Dikutip dari Hafez, 1970, *Reproduction and breeding techniques for laboratory animals*, Lea Febiger, Philadelphia.

### 2.5.2 Varikokel Buatan

Varikokel yang terjadi secara alamiah pada manusia, dapat dibuat secara artifisial pada hewan. Banyak peneliti telah membuktikan terjadinya varikokel buatan pada hewan primata dan anjing. Penelitian terbaru, juga membuktikan terbentuknya varikokel pada hewan yang lebih kecil seperti tikus dan kelinci. Semua model memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing seperti biaya mahal, masalah pemeliharaan, tingkat kesulitan operasi dan lain-lain (Snydle, 1983; Turner, 1990).

Frank E. Snyder berhasil membuat varikokel artifisial pada kelinci putih melalui pendekatan laparotomi dan ligasi parsial trunkus lumbotestikularis kiri. Terjadinya varikokel kiri telah dibuktikannya dengan adanya perubahan diameter vena testikularis kiri, morfologi dan analisa sperma. Dari semua hasil penilaian parameter tersebut, disimpulkan bahwa kelinci merupakan hewan coba yang sangat baik untuk membuat varikokel buatan (Snyder, 1983).

## 2.6 Senyawa Oksigen Reaktif Pada Varikokel

Jejas oksidatif mulai diperhatikan sebagai salah satu faktor yang mempengaruhi viabilitas dan fungsi sperma sejak tahun 1943 ketika didapatkan bahwa sperma manusia akan segera kehilangan motilitasnya jika diinkubasi pada  $O_2$  konsentrasi tinggi dan pemberian katalase memberikan perlindungan terhadap sel sperma. Jejas oksidatif ini akan mempengaruhi sel sperma secara langsung dan juga menyebabkan peningkatan  $Ca^{2+}$  intraseluler serta penurunan ATP yang menyebabkan gangguan motilitas spermatozoa (Halliwell 3, 1999)

Sumber utama senyawa oksigen reaktif pada sperma adalah netrofil, yang selalu ada pada sperma dan spermatozoa. Alasan mengapa kadar senyawa oksigen reaktif rendah ditemukan pada spermatozoa normal sampai saat ini belum jelas. Griveau dan kawan-kawan menunjukkan peran fisiologi senyawa oksigen reaktif pada spermatozoa untuk hiperaktivasi, kapasitasi dan reaksi acrosomal. Kapasitasi spermatozoa saat proses fertilisasi, yaitu untuk menembus lapisan yang mengelilingi oocyte (zona pellucida). Reaksi acrosomal adalah suatu kejadian fusi membran yang melibatkan acrosomal luar dan membran spermatozoa yang akan



melepaskan isi akrosomal termasuk protease yang memfasilitasi spermatozoa ke zona pellucida (Alkan, 1997; Halliwell 3, 1999).

Sperma manusia mengandung ROS dalam kadar yang rendah. Adanya antioksidan dalam sperma yang banyak terdapat pada vesikula seminalis akan melindungi spermatozoa dari ROS. Sperma mengandung SOD, katalase, glutathione peroxidase/reductase dan GSH serta askorbat dan  $\alpha$ -tocoferol. Enzim antioksidan ini banyak terdapat pada bagian tengah spermatozoa, sehingga bagian kepala dan ekor spermatozoa kurang terlindungi dari ROS.(Hendin, 1999; Halliwell 3, 1999)

Tampaknya lipid peroksidase memainkan peranan penting pada disfungsi spermatozoa. Sel lemak spermatozoa kaya dengan rantai asam lemak tidak jenuh (PUFA: *poly unsaturated fatty acid*). Sekitar 50% bentuk esterifikasi asam lemak di spermatozoa adalah DHA. Asam lemak tidak jenuh diperlukan dalam proses fertilisasi. Jejas oksidatif pada spermatozoa terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi yang berlebihan dan kurangnya antioksidan di vesika seminalis. Jeulin dan kawan-kawan lebih menekankan gangguan fungsi sperma terjadi karena adanya produksi senyawa oksigen reaktif yang berlebihan daripada berkurangnya senyawa-senyawa antioksidan (Alkan, 1997; Halliwell 3, 1999).

Sementara itu Benjamin NH membuktikan bahwa terdapat peningkatan senyawa oksigen reaktif dan berkurangnya kapasitas antioksidan pada penderita dengan varikokel. Terdapat kesan hubungan yang sangat kuat antara jejas oksidatif terhadap disfungsi spermatozoa. Hendin menilai pemberian antioksidan peroral mungkin cukup menjanjikan untuk meningkatkan fungsi spermatozoa dan angka kehamilan. LT Koksai mendapatkan hubungan antara kenaikan kadar MDA

dengan tingkat keparahan varikokel (Alkan, 1997; Hendin, 1999; Nudel, 2001; Koksai, 2000).

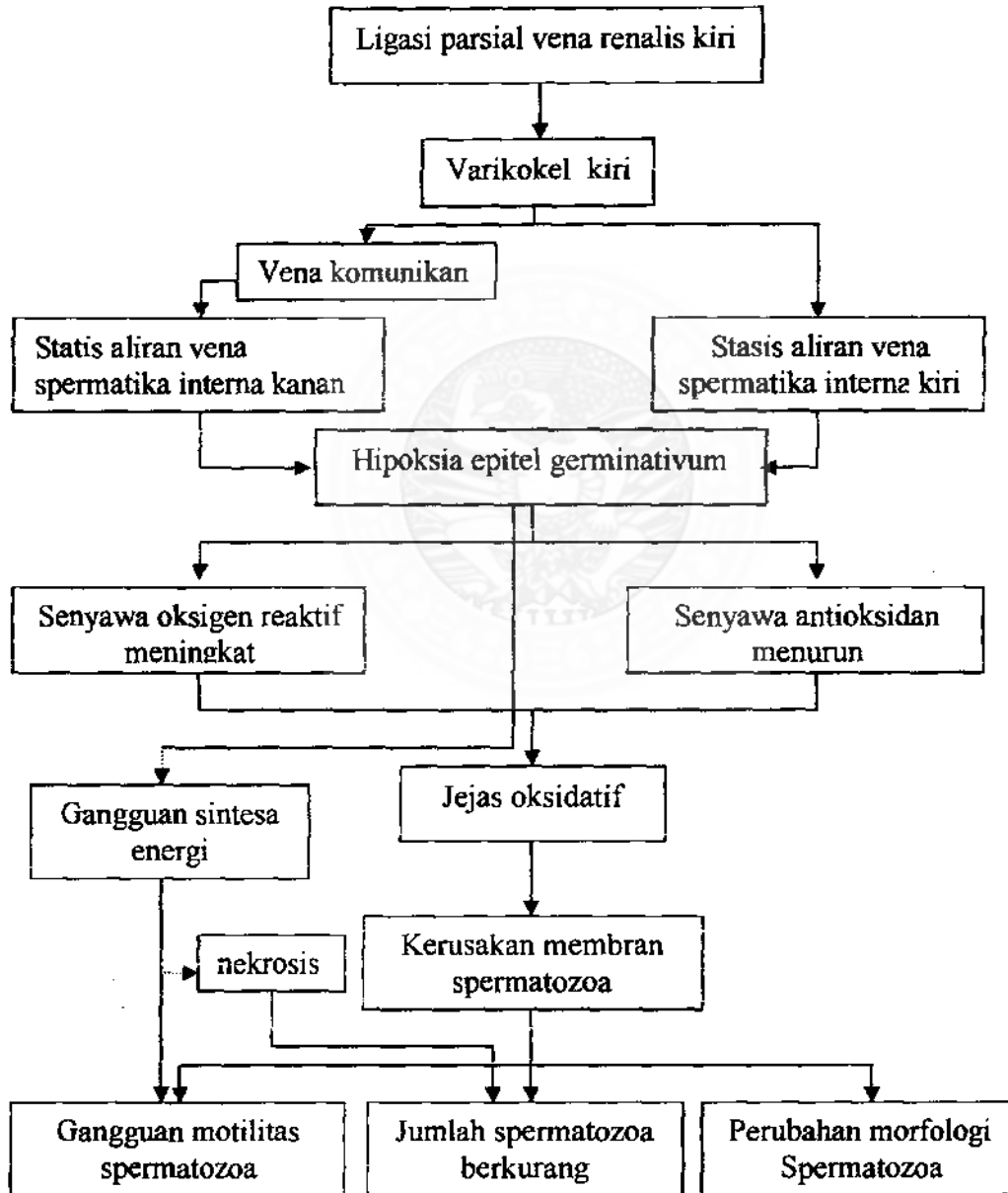
Sulaiman, tahun 1996 menyatakan bahwa asthenospermia merupakan faktor utama penyebab infertilitas pria. Motilitas sperma dipengaruhi oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen antara lain maturitas sperma, morfologi yang ideal, sel yang intak, kestabilan membran, pola gerakan flagel yang lurus ke depan, senyawa oksigen reaktif dan ketersediaan energi. Faktor eksogen (biofisik) antara lain pH, suhu, plasma semen, getah servik, obat, hormon, faktor imunologi dan radiasi, komposisi ion. Faktor utama yang mengontrol motilitas spermatozoa adalah ATP (Sulaiman, 1996).

Sampai saat ini belum jelas bagaimana senyawa oksigen reaktif dapat menyebabkan perubahan morfologi, motilitas dan gangguan jumlah spermatozoa pada penderita dengan varikokel. Aitken mendapatkan adanya korelasi negatif antara tingginya kadar senyawa oksigen reaktif terhadap kapasitas fusi spermatozoa. Diyakini sampai saat ini kerusakan melalui peroksidasi lipid merupakan penyebab major inefektivitas fungsi spermatozoa karena jejas oksidatif. Pembentukan ROS di sperma manusia melibatkan sistem oksidase NADPH yang memproduksi  $O_2 \bullet^-$  yang selanjutnya menjadi hidrogen peroksidase melalui kerja superoxide dismutase. Bersama keduanya akan membentuk radikal hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber Weiss (Koksai, 2000; Hendin, 1999; Alkan, 1997; Halliwell 3, 1999).

**BAB 3**

**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1. Kerangka Konseptual**



Skema 1. Kerangka konseptual varikokel kiri dapat menyebabkan gangguan motilitas spermatozoa, perubahan morfologi dan berkurangnya jumlah spermatozoa.

Dengan melakukan ligasi parsial pada vena renalis kiri akan mengakibatkan bendungan truncus lumbotestikularis kiri yang selanjutnya akan menyebabkan dilatasi vena testikularis kiri dan plexus venosus di sekitar testis kiri kelinci. Bendungan ini akan menyebabkan stasis aliran vena spermatika interna kiri. Efek yang sama juga akan diterima oleh vena spermatika kanan melalui vena komunikan. Bendungan ini menyebabkan refluk aliran darah vena renalis kiri ke vena spermatika interna kiri yang membawa hasil metabolit renal dan adrenal.

Kondisi ini akan menyebabkan hipoksia pada testis bilateral. Jejas hipoksia dapat menyebabkan kerusakan spermatozoa melalui proses nekrosis dan apoptosis. Kondisi hipoksia juga akan menyebabkan peningkatan senyawa oksigen reaktif dan menurunnya antioksidan yang disebut sebagai jejas oksidatif.

Berkurangnya ATP akan menyebabkan terjadi peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  intraseluler. Terjadi juga influk natrium yang diikuti  $\text{H}_2\text{O}$  serta efluk kalium. Semua kejadian diatas akan mengakibatkan pembengkakan sel sampai nekrosis. Kondisi lain yang menyebabkan nekrosis adalah peningkatan glikolisis sehingga pH akan turun. Keadaan asidosis akan merangsang aktivasi dan pelepasan enzim lisosomal dan terjadi *cell digestion*. (contran, 1999)

Jejas oksidatif (peningkatan senyawa oksigen reaktif dan berkurangnya antioksidan) akan menyebabkan kerusakan sel melalui beberapa jalan, yaitu menyebabkan lesi pada DNA, modifikasi oksidasi sintesa protein dan peroksidasi lipid membran sel. Kerusakan pada plasma membran akan menyebabkan peningkatan permeabilitas terhadap  $\text{Na}^{2+}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{Ca}^{2+}$ . Terjadinya pembengkakan sel dan disusul kembali oleh influk  $\text{Ca}^{2+}$  yang masif akan

mengakibatkan inaktivasi mitokondria, ensim-ensim sel dan denaturasi protein sampai akhirnya kematian sel. (Contran, 1999)

Proses apoptosis dapat dicetuskan oleh sel T sitotoksis, hilangnya hormon pertumbuhan, interaksi reseptor-ligand antara TNF-TNF reseptor atau FAS-FAS ligand karena jejas radiasi, toksin dan radikal bebas. Senyawa oksigen reaktif dapat menyebabkan apoptosis melalui kerusakan DNA (genotoxic stress). Akibat dari proses nekrosis dan apoptosis adalah berkurangnya konsentrasi spermatozoa. (Contran, 1999).

Kondisi hipoksia secara langsung atau melalui jejas oksidatif akan menyebabkan gangguan sintesa energi pada mitokondia yang terletak pada bagian *principle tail* spermatozoa akan mengakibatkan gangguan motilitas spermatozoa. Kerusakan DNA dan kerusakan pada *cytoskeletal* sel akan mengakibatkan perubahan morfologi spermatozoa.



### 3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan kadar MDA testis kiri yang bermakna antara kelompok kelinci dengan varikokel kiri buatan dibandingkan dengan kelompok kelinci varikokel kiri buatan dan antioksidan serta terhadap kelinci kelompok kontrol.
2. Terdapat perbedaan kadar MDA testis kanan yang bermakna antara kelompok kelinci dengan varikokel kiri buatan dibandingkan dengan kelompok kelinci varikokel kiri buatan dan antioksidan serta terhadap kelinci kelompok kontrol.
3. Terdapat hubungan antara perubahan kadar MDA terhadap perubahan motilitas spermatozoa.
4. Tidak terdapat perbedaan kadar MDA antara testis kiri dan testis kanan pada varikokel kiri buatan pada kelinci.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian *post test control group design*. Menggunakan binatang coba kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) dengan perlakuan random alokasi dan menggunakan kelompok kontrol yang dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga dan Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

#### **4.2 Populasi Sampel**

Sampel terdiri dari 36 ekor kelinci dewasa berumur 13-17 minggu dengan berat badan kelinci dibatasi antara 1250 sampai 1750 gr. Sampel dalam penelitian ini dikelompokkan kedalam 3 kelompok, yaitu: kelompok I: kelinci dilakukan operasi sham, merupakan kelompok kontrol, pengukuran kadar darah lengkap dilakukan pada minggu ke 0 dan minggu ke 8. Kadar MDA testis kanan dan kiri serta analisa sperma diukur pada minggu ke 8.

Kelompok II: kelinci dibuat varikokel dengan cara melakukan ligasi parsial pada vena renalis kiri, kemudian pada minggu ke 0 dan minggu ke 8 dilakukan pemeriksaan darah lengkap. Kadar MDA testis kiri dan kanan serta analisa sperma diperiksa pada minggu ke 8.

Kelompok III: Kelinci dibuat varikokel dengan cara melakukan ligasi parsial pada vena renalis kiri dan diberikan zat antioksidan, kemudian pada

minggu ke-0 dan minggu ke-8 dilakukan pemeriksaan darah lengkap. Kadar MDA testis kiri dan kanan serta analisa sperma diperiksa pada minggu ke 8.

#### 4.3 Besar Sampel

$$N = \frac{1}{(1-f)} \left\{ \frac{z(z\alpha + z\beta)^2 \cdot p(1-p)}{(pc + pt)^2} \right\}^2$$

$$N = \frac{1}{0,25} \left\{ \frac{257(2,57+2,28)^2 \cdot 0,3(1-0,7)}{(90-60)^2} \right\}^2$$

$$N = \frac{1}{0,25} \left\{ \frac{257(23,5225) \cdot (0,21)}{900} \right\}^2$$

$$N = 7,9524 = 8$$

Keterangan:

n : jumlah

f : banyaknya kelompok yang akan diteliti dalam satuan persepuluhan

z : tingkat ketelitian yang dikehendaki

$z\alpha$  : nilai standar normal yang besarnya tergantung  $\alpha$

$z\beta$  : nilai tergantung  $\beta$  yang ditentukan (lihat tabel)

p : kemungkinan terjadinya kasus

pc : kemungkinan keberhasilan pada kelompok kontrol

pt : kemungkinan keberhasilan pada kelompok perlakuan

Karena sampel dibagi kedalam 3 kelompok, maka jumlah sampel minimal keseluruhan dalam penelitian ini adalah 24 sampel testis kiri dan 24 sampel testis kanan. Dalam pelaksanaannya ditambah menjadi 36 sampel



karena kemungkinan sampel yang *dropout*. Kelinci yang dipilih adalah kelinci jantan dewasa muda berusia 13-17 minggu dengan berat badan 1250-1750 gram dari peternakan di Malang. Diadaptasi selama 7 hari dan dipelihara dengan cara yang sama dan mendapat diet yang sama pula. Makanan terdiri dari jagung muda atau wortel pada pagi hari dan sayuran hijau segar pada malam hari. Minuman diberikan air bersih secukupnya.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas :

1. varikokel kiri
2. pemberian antioksidan

Variabel terikat :

1. motilitas spermatozoa
2. jumlah spermatozoa
3. kadar MDA testis kiri dan kanan

Variabel kendali :

1. hitung jumlah leukosit (Ampicillin 100 mg/kg BB peri operatif)
2. berat badan kelinci (1250 -1750 gram)
3. umur kelinci (13-17 minggu)

#### 4.5 Kriteria *Drop Out*

1. Hewan coba mati selama penelitian.
2. Tidak terdapatnya varikokel setelah ligasi parsial vena renalis sinistra
3. Testis mengalami infeksi secara klinis dan laboratoris

## 4.6 Cara Kerja

### 4.6.1 Persiapan hewan coba.

Secara fisik masing-masing kelinci jantan dalam keadaan sehat, mempunyai dua testis kanan dan kiri, kemudian diadaptasikan dalam kandang selama tiga hari. Kelinci dibedakan dalam 3 kelompok, masing-masing 12 ekor secara alokasi random, yaitu kelompok I, II, dan kelompok III. Ketiga kelompok kelinci tersebut dilakukan pengukuran berat badan sebelum dilakukan perlakuan.

Kelompok I: kelinci dilakukan operasi *sham* tanpa memanipulasi vena renalis kiri, ini merupakan kelompok kontrol, pemeriksaan darah lengkap dikerjakan pada minggu ke 0 dan minggu ke 8. Pengukuran diameter vena spermatika interna kanan dan kiri, pengambilan spesimen sperma dan pengukuran kadar MDA testis kiri dan kanan dikerjakan pada minggu ke 8.

Kelompok II: kelinci dibuat varikokel dengan cara melakukan ligasi parsial pada vena renalis kiri proksimal dari tempat muara vena spermatika interna. Pengukuran darah lengkap dikerjakan pada minggu ke 0 dan minggu ke 8. Pengukuran diameter vena spermatika interna kanan dan kiri, pengambilan spesimen sperma dan pengukuran kadar MDA testis kiri dan kanan dikerjakan pada minggu ke 8.

Kelompok III: kelinci dibuat varikokel dengan cara melakukan ligasi parsial pada vena renalis kiri proksimal dari tempat muara vena spermatika interna. Diberikan senyawa antioksidan sejak hari ke 0. Pengukuran darah lengkap dikerjakan pada minggu ke 0 dan minggu ke 8. Pengukuran diameter vena spermatika interna kanan dan kiri, pengambilan spesimen

sperma dan pengukuran kadar MDA testis kiri dan kanan dikerjakan pada minggu ke 8. Kelompok ini bertujuan untuk menilai pengaruh antioksidan terhadap kualitas sperma pada kelompok varikokel kiri buatan serta membuktikan bahwa gangguan testikuler memang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif

#### 4.6.2. Persiapan alat dan bahan.

Peralatan dan bahan yang diperlukan untuk operasi sebagai berikut: pisau bedah steril, klem, korentang lurus, gunting runcing, duk lubang steril, sarung tangan steril, kasa steril, depers steril, benang sutra kecil, jarum, pemegang jarum untuk menjahit, alcohol, pinset bedah dan anatomis, Povidone Iodine 10%, panci steril untuk tempat alat-alat, larutan ketamin, meja dan perlak untuk operasi, jangka sorong, gelas obyek, miskroskop cahaya, *disposable spuit*, reagen pemeriksaan MDA, benang kromik *cat gut* 1.0, reagen pemeriksaan DL

#### 4.6.3. Tahap Perlakuan

##### Kelompok I.

Merupakan kelompok kontrol dengan jumlah 12 ekor. Pada hewan kelinci kelompok ini dikerjakan operasi sham tanpa mendapat manipulasi pada vena renalis kiri. Darah lengkap diukur pada minggu ke 0 dan minggu ke 8. Diameter vena spermatika interna kanan dan kiri, jumlah dan motilitas spermatozoa, serta kadar MDA testis kanan dan kiri diperiksa pada minggu ke 8.

## Kelompok II

Pemeriksaan darah lengkap dikerjakan terlebih dahulu sebelum dilakukan tindakan pembedahan. Spesimen diambil dari pembuluh darah vena pada daun telinga kelinci.

Kelinci mendapat perlakuan yaitu ligasi parsial pada vena renalis kiri. Sebelum operasi, kelinci dipuasakan (kecuali minum) selama 5 – 6 jam. Setengah jam sebelum dianastesi, diberikan atropin 1-3 mg/kg BB secara intramuskular. Kemudian disuntikkan ketamin dengan dosis 40 mg/kg BB secara intramuskular dan dikombinasikan dengan paraldehyde 0,5 mg/kg BB agar efek anastesi dapat bertahan lebih lama. Setelah kelinci dibius, diposisikan miring ke kanan dengan memberi bantalan pada daerah torakolumbal sehingga paparan daerah flank kiri cukup baik untuk insisi lumbotomi. (Malole,1989)

Dilakukan tindakan aseptis pada lapangan tindakan yang meliputi dinding abdomen skrotum dan sekitarnya dengan menggunakan larutan povidon iodine 10% kemudian lapangan tindakan ditutup dengan duk steril. Dilakukan sayatan kulit mulai diantara costa 11-12 ke arah pusar sepanjang kurang lebih 7-10 cm, kemudian diperdalam lapis demi lapis. Setelah itu identifikasi ginjal dan vasa renalis dan vena-vena yang mengalir ke dalam vena renalis kiri. Vena renalis kiri dibuat ligasi parsial dengan cara diletakkan senar dengan ukuran 50% diameter vena renalis kiri, lalu keduanya diikat halus dengan sutra 4-0 pada daerah proksimal muara vena. Senar ditarik perlahan-lahan, sehingga lumen vena terbuka kembali dengan diameter lumen menjadi lebih kecil, sebesar 50% dari diameter vena renalis

sebelumnya. Rawat perdarahan dan selanjutnya lapangan operasi ditutup lapis demi lapis, dan diberikan ampisillin 200 mg parenteral pada vena daun telinga kelinci. (Malole,1989)

Kelinci dipelihara sebagaimana mestinya selama 8 minggu setelah ligasi vena renalis kiri. Hewan coba dikorbankan pada minggu ke 8 dan dilakukan pengukuran kadar malondialdehida pada testis kiri dan kanan, pengukuran besar vena spermatika interna kiri dan kanan, kadar darah lengkap serta analisa sperma untuk menghitung jumlah dan motilitas spermatozoa.

#### *Kelompok III*

Perlakuan diberikan sama seperti pada kelompok II, dan diberikan terapi antioksidan segera setelah dilakukan operasi varikokel buatan. setelah operasi. Hewan coba dikorbankan pada minggu ke 8.

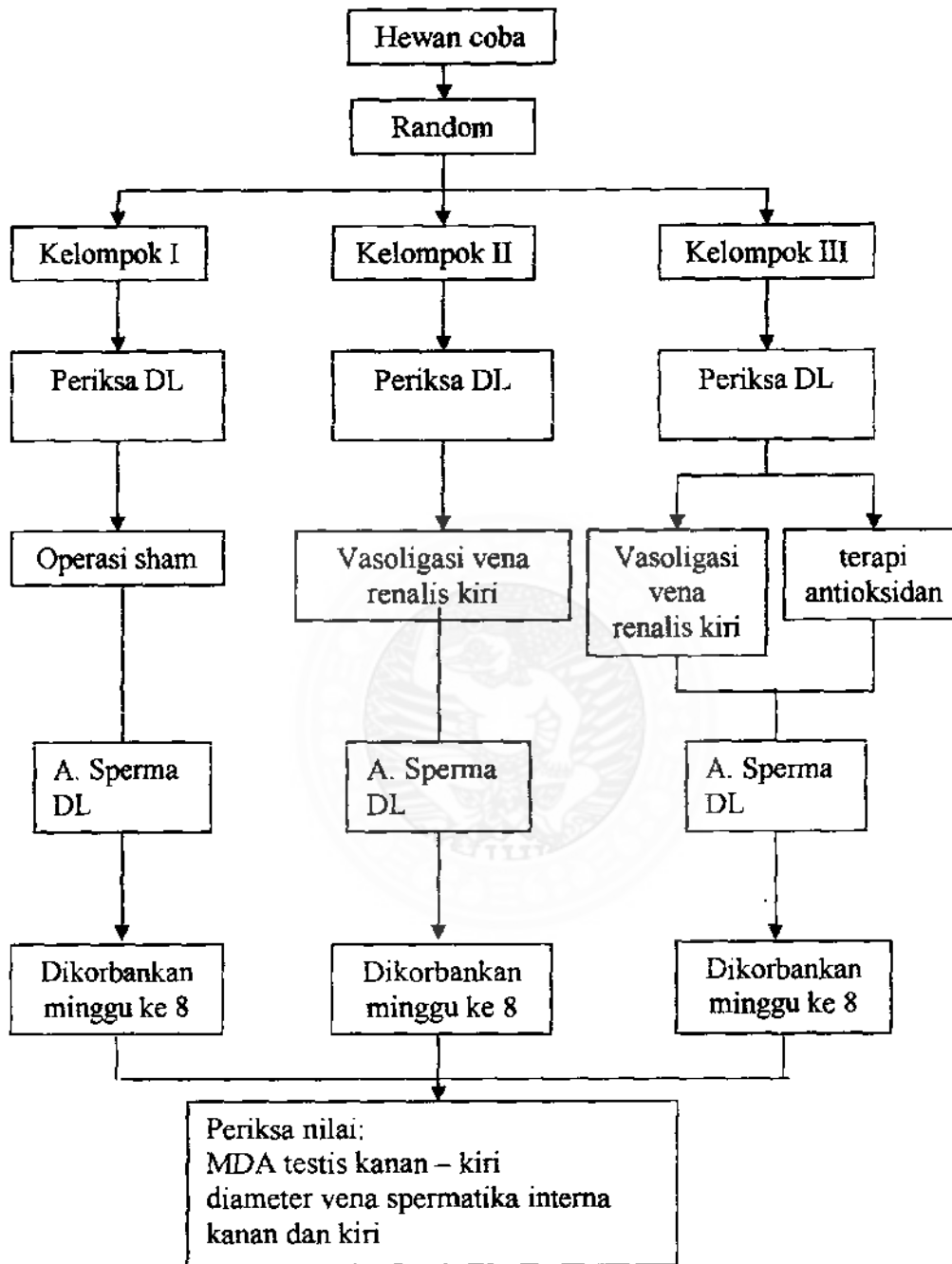
## **4.7 Definisi Operasional dan Pengukuran Variabel**

### **4.7.1 Varikokel kiri buatan**

Dikerjakan dengan cara ligasi vena renalis kiri dengan benang sutra 4-0 dan memberi ganjalan senar dengan ukuran 50% besar vena renalis awal, yang ditarik setelah vena renalis diikat sehingga terjadi ligasi parsial. Terjadinya varikokel kiri ditentukan dengan perubahan diameter vena spermatika interna kanan dan kiri 8 minggu setelah perlakuan.

### **4.7.2 Vena spermatika interna kiri**

Diameter vena spermatika interna diukur menggunakan senar pancing merek Danyl® yang berukuran 5 lbs (0,30 mm) sampai 50 lbs (0,75 mm).



Skema 2. Alur kerja penelitian. Setiap hari dikerjakan tindakan operasi pada 6 ekor kelinci. Hari I dan II dikerjakan operasi sham masing-masing pada 6 kelinci kelompok kontrol. Hari III dan IV operasi masing-masing pada 6 kelinci kelompok perlakuan 1 (varikokel). Hari V dan VI dikerjakan operasi masing-masing pada 6 kelinci kelompok perlakuan 2 (varikokel dan antioksidan).

#### 4.7.3 Vena spermatika interna kanan

Diameter vena spermatika interna kanan diukur menggunakan senar pancing merek Danyl® yang berukuran 5 lbs (0,30 mm) sampai 50 lbs (0,75 mm).

#### 4.7.4 Analisa spema

Dikerjakan dengan cara masturbasi buatan pada kelinci dengan menggunakan vagina buatan yang diisi air panas 70°-80°C. Sperma yang dihasilkan ditampung dalam tabung plastik 2 ml. Segera sperma dilakukan pemeriksaan analisa sperma.

Konsentrasi spermatozoa: dilakukan dengan metoda Thoma, sperma diaduk merata kemudian diencerkan 200 kali dengan larutan pengencer (NaCl 3%) dengan cara menghisap sperma dengan pipet eritrosit sampai tanda 0,5. Ditambahkan larutan pengencer sampai tanda 101. Kocok pipet eritrosit dan buang 3 tetes pertama. Diteteskan pada kotak penghitung. Biarkan selama 15-20 menit agar merata, lalu dihitung dengan alat hitung.

Motilitas spermatozoa: Satu tetes sperma diletakan pada gelas obyek dan ditutup dengan gelas penutup. Lalu diperiksa di bawah mikroskop pembesaran 700 kali. Dilihat persentase yang bergerak dan tidak bergerak.

#### 4.7.5 Malondialdehida

Senyawa yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid sebagai akibat kerja senyawa oksigen reaktif pada membran spermatozoa. Metoda ini menilai kadar MDA secara spektrofotometri. Jaringan dicuci dengan NaCl 0,9%, ditimbang dan disimpan dalam lemari pendingin -80°C sampai saat pemeriksaan.

Sejumlah gram jaringan testis dilakukan homogeniser dengan KCl jenuh 1,15% sampai terjadi homogenous. Sebanyak 0,4 ml homogenisat ditambah 3 ml asam asetat 20% sentrifus selama 10 menit pada 5000 rpm. Hasil tadi ditambahkan dengan larutan SDS 8,1% sebanyak 0,4 ml., kemudian diberikan sejumlah 3,0 ml., natrium thiobarbiturat 1%. Inkubasi diatas penangas selama 135 menit. Larutan berwarna yang terjadi diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang eksitasi,  $\lambda$  533,2 nm.

Dibandingkan dengan larutan standar MDA yang dibuat dari 515  $\mu$ g/ml., dikerjakan sama seperti diatas dan diamati di spektrofotometre dengan  $\lambda$  533,2 nm. Larutan blanko dibuat dari 4 ml KCl ditambah 3 ml asam asetat 20% dan 0,4 ml SDS 8,1% serta 3 ml TBA 1%. Dipanaskan dalam waktu yang sama kemudian diamati dengan spektrofotometer dengan  $\lambda$  533,2 nm.

#### 4.7.6 Darah lengkap

Dihitung jumlah leukosit darah pada hari ke 0 dan pada minggu ke 8 dengan kamar penghitung di Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

#### 4.7.7 Antioksidan :

Diberikan Seloxy<sup>®</sup> yang mengandung selenium,  $\beta$  carotene, vitamin E dan C. Dosis yang diberikan berdasarkan dosis vitamin E dengan rasio luas tubuh manusia (70 kg) terhadap kelinci (2 kg), sebesar  $0,07 \times 200$  IU (kandungan vitamin E /kaplet) = 14 IU dimasukkan kedalam kapsul.

Diberikan peroral mulai hari ke 0, dosis 1 kali perhari selama 8 minggu.

#### 4.7.8 Volume testis



Diukur diameter panjang, lebar dan tingginya dengan menggunakan jangka sorong, kemudian dihitung volumenya dalam  $\text{mm}^3$ .

#### 4.7.9 Berat badan kelinci

Berat badan kelinci dibatasi antara 1250 sampai 1750 gr., diukur dengan menggunakan timbangan merk MIC (buatan Cina)

#### 4.7.10 Usia kelinci

Diambil kelinci dewasa muda dengan usia antara 13-17 minggu. Usia 13-16 minggu ditentukan dari usia kelinci sejak lahir dari 1 peternakan. Biasanya ditandai dengan testis yang sudah turun ke dalam kantong skrotum.

### 4.8 Analisis Data

Hasil data yang didapatkan, ditabulasi secara statistik. Data disajikan secara deskriptif dan dianalisa dengan uji-t, *chi-square* dan *ANOVA* untuk membandingkan pengaruh ligasi parsial vena renalis kiri terhadap kualitas sperma dan perubahan kadar MDA jaringan testis kiri dan kanan. Derajat kemaknaan yang dipakai adalah  $\alpha = 0,05$ .

### 4.9 Jadwal ,Tempat Penelitian

#### 4.9.1 Jadwal penelitian

Persiapan	: Agustus 2002 - Februari 2003
Pengumpulan dan pengolahan data	: Maret 2003 – April 2003
Penyajian hasil penelitian	: Mei 2003

#### 4.9.2 Tempat penelitian

: Lab. Biokimia FK Universitas Airlangga  
Lab.Dasar Bersama Universitas Airlangga

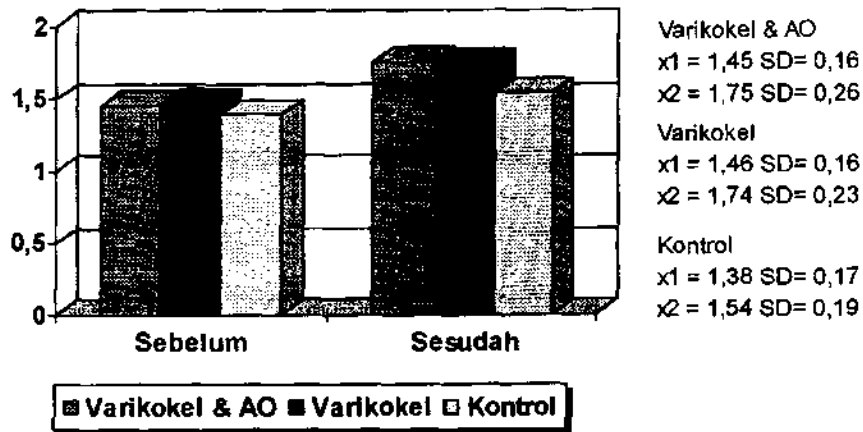
## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

Secara keseluruhan terdapat 30 ekor kelinci yang terbagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok varikokel kiri buatan dan pemberian antioksidan (10 ekor), kelompok varikokel kiri buatan tanpa pemberian antioksidan (11 ekor) dan kelompok kontrol 9 ekor. Makanan diberikan 2 kali sehari berupa jagung, kulit jagung, wortel, ubi, kangkung dan air minum secukupnya. Selama penelitian 5 ekor kelinci mati, yaitu 2 ekor pada kelompok pertama, 1 ekor pada kelompok kedua dan 2 ekor pada kelompok kontrol. Tiga ekor mati karena diare, 1 ekor didapatkan perlekatan pada usus dan pecah lambung, sementara 1 ekor terjadi abses pada ginjal kiri. Satu ekor pada kelompok 3 dikeluarkan dari penelitian karena pada saat euthanasia didapatkan perlukaan pada daerah sekitar skrotum.

#### 5.1 Berat Badan Sebelum Dan Sesudah Perlakuan

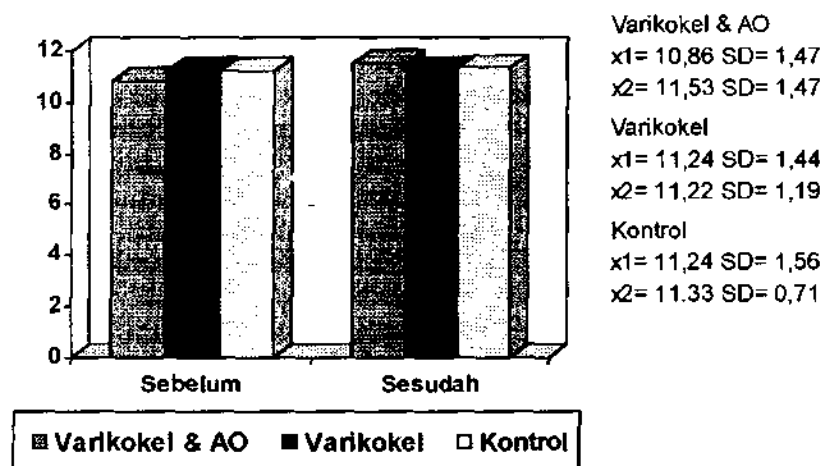
Berat badan kelinci diukur sesaat sebelum diberikan perlakuan dan saat sebelum dilakukan euthanasia. Pada ketiga kelompok berat badan awal berkisar antara 1,25 kg – 1,75 kg. Kelinci diluar *range* berat badan tersebut dikeluarkan dari sampel. Dengan berat badan rata-rata sebelum dan sesudah perlakuan pada grafik 5.1.



Grafik 5.1. Rata-rata berat badan kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan

## 5.2 Hemoglobin Sebelum Dan Sesudah Perlakuan

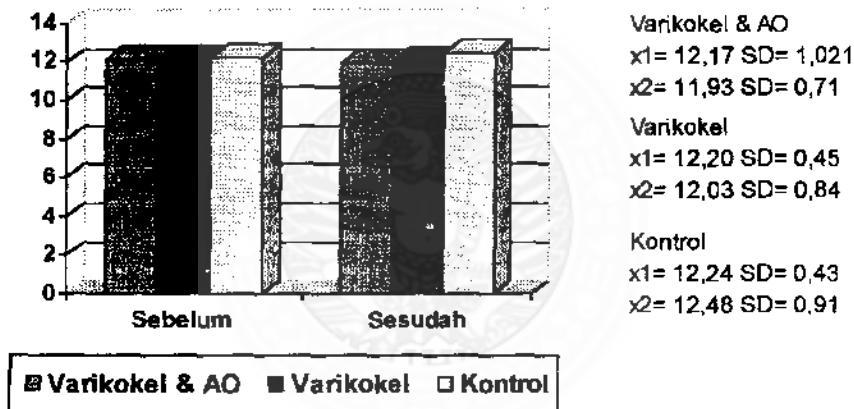
Kadar hemoglobin sebelum dan sesudah perlakuan pada ketiga kelompok tidak terlalu jauh berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada operasi pembuatan varikokel kiri buatan pada kelinci tidak terjadi perdarahan yang berarti. Selain itu, menu makanan yang diberikan pada ketiga kelompok adalah sama. Kadar hemoglobin ketiga kelompok perlakuan itu dapat dilihat pada grafik 5.2.



Grafik 5.2. Rata-rata kadar hemoglobin kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan

### 5.3 Leukosit Sebelum Dan Sesudah Perlakuan

Hitung leukosit dikerjakan bersamaan dengan pemeriksaan hemoglobin. Leukosit diperhatikan karena dipakai untuk menilai ada tidaknya infeksi sistemik pada kelinci pasca perlakuan. Hitung leukosit rata-rata sebelum perlakuan pada kelompok kontrol adalah 12.244 (SD 0,428). Sedangkan rata-rata hitung leukosit pada kelompok perlakuan 1 dan 2, masing masing adalah 12.170 (SD 1,021) dan 12.200 (SD 0,405). Kadar leukosit pasca perlakuan juga tidak jauh berbeda pada ketiga kelompok perlakuan.



Grafik 5.3. Rata-rata hitung leukosit darah kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan

### 5.4 Uji Homogenitas

Tabel 2. Uji homogenitas

No	Variabel	F (uji anova)	p (sig.)
1	Berat badan awal	0,635	0,538
2	Berat badan akhir	2,383	0,111
3	Hemoglobin awal	0,217	0,806
4	Hemoglobin akhir	0,185	0,832
5	Leukosit awal	0,029	0,972
6	Leukosit akhir	1,194	0,318

Hasil uji homogenitas variabel berat badan, hemoglobin, jumlah leukosit pada hewan coba pada ketiga kelompok perlakuan menunjukkan  $p > 0,05$  yang berarti variasi berat badan, hemoglobin dan jumlah leukosit hewan coba pada ketiga kelompok tidak ada perbedaan yang bermakna atau homogen. Sehingga disimpulkan bahwa variabel berat badan, hemoglobin dan jumlah leukosit tidak mempengaruhi hasil dari pemberian perlakuan pada hewan coba.

### 5.5 Uji Distribusi Normal

Tabel 3. Uji distribusi normal pada variabel penelitian

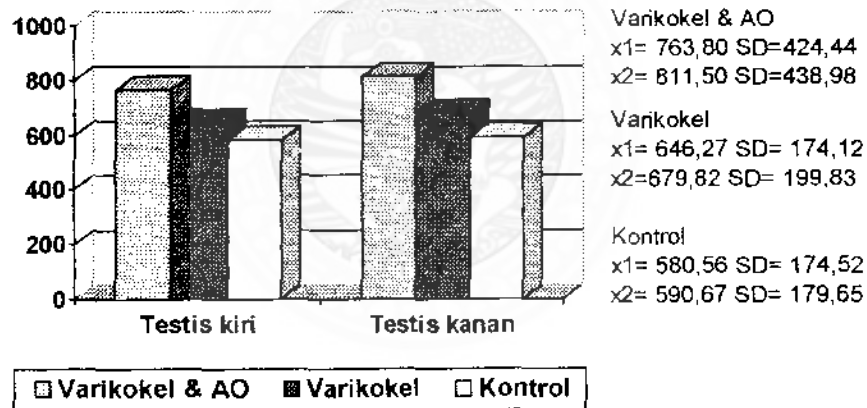
	Variabel	Perlakuan								
		Variokel & AO			Variokel			Kontrol		
		x	SD	p	x	SD	p	x	SD	p
1	BB awal	1,45	0,1581	0,697	1,46	0,1690	0,653	1,38	0,1732	0,676
2	BB akhir	1,75	0,2582	0,722	1,74	0,2333	0,786	1,54	0,1928	0,930
3	Hb awal	10,86	1,472	0,704	11,24	1,444	0,685	11,24	1,564	0,798
4	Hb akhir	11,53	1,470	0,862	11,22	1,190	0,904	11,33	0,711	0,719
5	Leu awal	12,17	1,021	0,870	12,20	0,405	0,584	12,24	0,428	0,397
6	Leu akhir	11,93	0,710	0,843	12,03	0,837	0,809	12,48	0,908	0,985
7	Vol tstit ki	763,80	424,44	0,334	646,27	174,12	0,885	580,56	174,52	0,840
8	Vol tstit ka	811,50	438,98	0,506	679,82	199,83	0,931	590,67	170,65	0,911
9	MDA tests kiri	0,467310	0,1074 77	0,723	1,0660 91	0,4974 82	0,932	0,1897 78	0,156276	0,871
10	MDA tests kanan	0,482620	0,1142 85	0,599	0,8673 45	0,5149 49	0,937	0,1984 89	0,104259	0,926
11	VSI kiri	24,50	9,56	0,613	26,36	7,78	0,287	11,11	4,17	0,532
12	VSI kanan	8,00	4,22	0,146	9,09	4,37	0,191	11,11	4,17	0,532
13	Jml sperma	337,70	68,63	0,891	94,82	73,59	0,717	485,33	189,38	0,655
14	Vol ejakul	0,69	0,1101	0,602	0,65	0,0723	0,351	0,7222	0,0565	0,829
15	%motil spr	63,50	15,64	0,869	25,09	16,28	0,852	80,00	8,66	0,964

x= rata-rata; SD= standar deviasi; p= nilai signifikansi

Hasil uji distribusi normal terhadap semua variable penelitian menunjukkan  $p > 0,05$ , yang berarti semua variabel penelitian untuk masing-masing perlakuan berdistribusi normal, sehingga analisa statistik dapat menggunakan metoda parametrik.

### 5.6 Volume Testis Kiri dan Kanan

Volume testis kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan diukur pada saat euthanasia. Rata-rata volume testis kiri dan kanan dapat dilihat pada grafik 5.4.



Grafik 5.4. Rata-rata volume testis kiri dan kanan kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan

Tabel 4. Volume testis kiri kelinci pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	P
1	Varikokol & AO	10	763,80	424,44	1,031	0,370
2	Varikokol	11	642,27	174,12		
3	Kontrol	9	580,56	174,52		

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; F=nilai hasil uji anova; p= nilai signifikansi

Tabel 5. Beda rata-rata volume testis kiri pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	117,53	183,24
Varikokel	-	65,72

Tabel 4 dan 5 diatas menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada volume testis kiri antara ketiga kelompok perlakuan.

Tabel 6. Volume testis kanan kelinci pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	P
1	Varikokel & AO	10	811,50	438,98	1,347	0,277
2	Varikokel	11	679,82	199,83		
3	Kontrol	9	590,67	170,65		

Tabel 7. Beda rata-rata volume testis kanan pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	131,68	220,83
Varikokel	-	89,15

Dua tabel diatas menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada volume testis kanan antara ketiga kelompok perlakuan ( $p > 0,05$ ).

Volume testis kanan dan kiri pada ketiga kelompok perlakuan dibandingkan dengan menggunakan uji t tes berpasangan

Tabel 8. Uji t tes berpasangan volume testis kiri dan kanan

	Paired differences					t	df	p
	x mean differ	SD	Error mean	95% confidence interval of differ				
				low	upp			
Varikokel & AO	-47,70	53,75	17,00	-86,15	-9,25	-2,806	9	0,020
Varikokel	-33,55	44,73	13,49	-63,59	-3,50	-2,487	10	0,032
Kontrol	-10,11	20,62	6,87	-25,96	5,74	-1,471	8	0,179

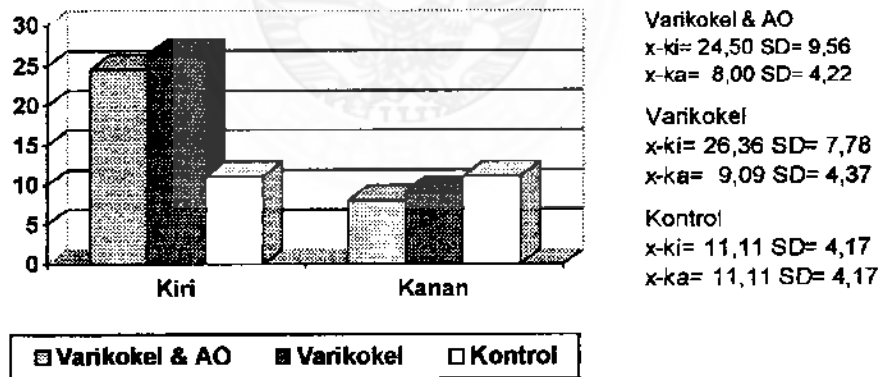
n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; t= nilai uji t

berpasangan; df= n-1; p= nilai signifikansi

Dari tabel diatas menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara volume testis kiri dan kanan pada kelompok perlakuan varikokel buatan dengan antioksidan dan kelompok varikokel buatan ( $p < 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna volume testis kiri dan kanan pada kelompok kontrol ( $p > 0,05$ ).

### 5.7 Diameter Vena Spermatika Interna Kiri Dan Kanan

Diameter vena spermatika interna kiri dan kanan diukur saat euthanasia dengan menggunakan senar merek Danyl dengan ukuran 5 lbs sampai 50 lbs. Dimana 5 lbs setara dengan 0,30 mm, 10 lbs setara dengan 0,35 mm, 15 lbs sama dengan 0,40 mm dan 50 lbs sama dengan 0,75 mm.



Grafik 5.5 Rata-rata diameter vena spermatika interna kiri dan kanan kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan

Tabel 9. Diameter vena spermatika interna kiri pada tiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	p
1	Varikokel & AO	10	24,50	9,56	11,365	0,0001
2	Varikokel	11	26,36	7,78		
3	Kontrol	9	11,11	4,17		

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; F=nilai hasil uji anova;  
 p= nilai signifikansi



Tabel 10. Beda rata-rata diameter vena spermatika interna kiri pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	1,86	13,39*
Varikokel	-	15,25*

\* perbedaan bermakna pada level 0,05

Tabel 9-10 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna diameter vena spermatika interna kiri antara kelompok varikokel dan varikokel dengan antioksidan terhadap kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ).

Tabel 11. Diameter vena spermatika interna kanan kelinci pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	p
1	Varikokel & AO	10	8,00	4,22	1,292	0,291
2	Varikokel	11	9,09	4,37		
3	Kontrol	9	11,11	4,17		

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; F=nilai hasil uji anova; p= nilai signifikansi

Tabel 12. Beda rata-rata diameter vena spermatika interna kanan pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	1,09	3,11
Varikokel	-	2,02

Tabel 11-12 diatas menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada diameter vena spermatika interna kanan antara ketiga kelompok perlakuan ( $p > 0,05$ ).

Diameter vena spermatika interna kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan dibandingkan dengan menggunakan uji t tes berpasangan

Tabel 13. Uji t tes berpasangan diameter vena spermatika interna kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan

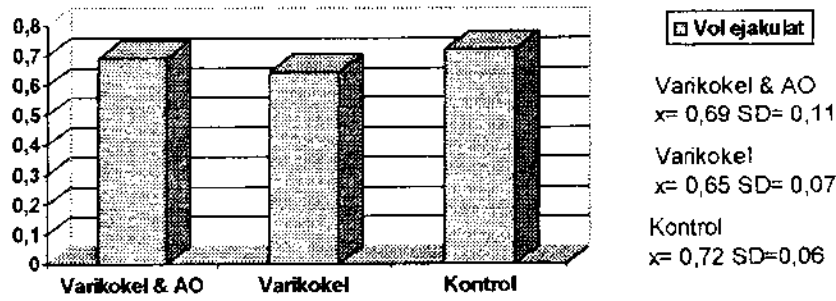
	Paired differences					t	df	p
	x mean differe	SD	Error mean	95% confidence interval of differ				
				low	upp			
Varikokel & AO	16,50	7,09	2,24	11,43	21,57	7,359	9	0,001
Varikokel	17,27	5,18	1,56	14,79	20,75	11,062	10	0,001

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; t= uji t berpasangan; df= n-1; p= nilai signifikansi

Dari tabel diatas menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara diameter vena spermatika interna kiri dan kanan pada kelompok perlakuan varikokel dengan antioksidan dan kelompok varikokel ( $p < 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna diameter vena spermatika interna kiri dan kanan pada kelompok kontrol.

### 5.8 Volume Ejakulat, Jumlah Dan Persentase Motilitas Spermatozoa

Ejakulat ditampung dalam vagina buatan dan dilakukan pengukuran dengan tabung ukur. Jumlah dan persentase motilitas spermatozoa langsung diperiksa saat itu juga menggunakan gelas kaca penghitung dengan mikroskop cahaya. Rata-rata volume ejakulat, jumlah dan persentase spermatozoa dapat dilihat pada grafik di bawah.



Grafik 5.6 Rata-rata volume ejakulat kelinci pada tiap kelompok perlakuan

Tabel 14. Rata-rata volume ejakulat pada ketiga kelompok perlakuan

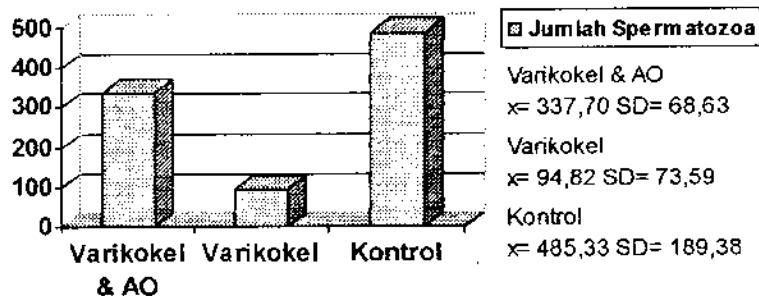
No	Kelompok	n	x	SD	F	P
1	Varikokol & AO	10	0,6900	0,1101	2,156	0,135
2	Varikokol	11	0,6455	0,0723		
3	Kontrol	9	0,7222	0,0565		

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; F=nilai hasil uji anova; p= nilai signifikansi

Tabel 15. Beda rata-rata volume ejakulat pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokol	Kontrol
Varikokol & AO	0,04455	0,032222
Varikokol	-	0,076768

Tabel 14-15 diatas menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna volume ejakulat pada ketiga kelompok perlakuan. ( $p > 0,05$ )



Grafik 5.7 Rata-rata jumlah spermatozoa kelinci pada tiap kelompok perlakuan

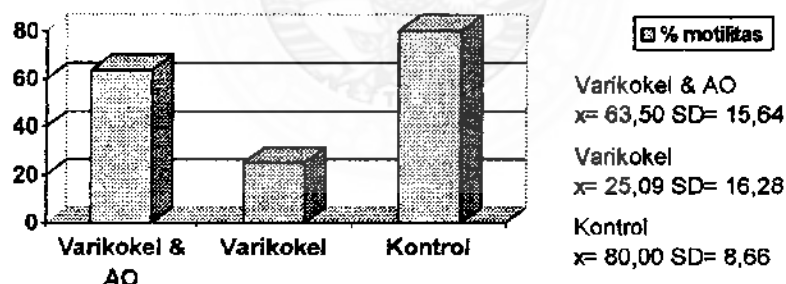
Tabel 16. Rata-rata jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	p
1	Varikokel & AO	10	337,70	68,63	27,633	0,001
2	Varikokel	11	94,82	73,59		
3	Kontrol	9	485,33	189,38		

Tabel 17. Beda rata-rata jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	242,88*	147,63*
Varikokel	-	390,52*

Tabel 16-17 diatas menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan. ( $p < 0,05$ )



Grafik 5.8 Rata-rata persentase motilitas spermatozoa kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan

Tabel 18. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	p
1	Varikokel & AO	10	63,50	15,64	40,043	0,001
2	Varikokel	11	25,09	16,28		
3	Kontrol	9	80,00	8,66		

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; F=nilai hasil uji anova; p= nilai signifikansi

Tabel 19. Beda rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan

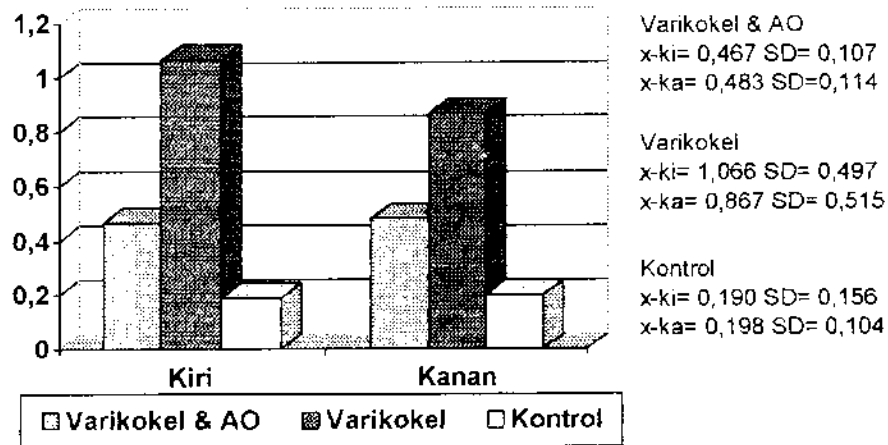
	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	38,41*	16,50*
Varikokel	-	54,91*

\* perbedaan bermakna pada level 0,05

Kedua tabel diatas menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna persentase motilitas spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan. ( $p < 0,05$ )

### 5.9 Kadar Malondialdehida Testis Kiri dan Kanan.

Kadar MDA testis dikerjakan dengan cara mengambil testis kiri dan kanan kelinci saat euthanasia. Kadar MDA testis kiri dan kanan pada kelompok perlakuan varikokel dan terapi antioksidan, perlakuan varikokel dan kelompok kontrol dapat dilihat pada grafik 5.9.



Grafik 5.9 Rata-rata kadar MDA testis kiri dan kanan kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan .

Tabel 20. Kadar MDA testis kiri kelinci pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	n	x	SD	F	p
1	Varikokel & AO	10	0,467310	0,107477	19,854	0,0001
2	Varikokel	11	1,066091	0,497482		
3	Kontrol	9	0,189778	0,156276		

Tabel 21. Beda rata-rata kadar MDA testis kiri pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	0,598781*	0,277532
Varikokel	-	0,876313*

\* perbedaan bermakna pada level 0,05

Tabel 20 dan 21 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna kadar MDA testis kiri pada kelinci dengan varikokel kiri buatan terhadap kelinci kelompok dengan varikokel buatan dan pemberian antioksidan serta kelinci kelompok kontrol. Sementara antara kelinci kelompok perlakuan varikokel dan antioksidan tidak terdapat perbedaan terhadap kelinci kelompok kontrol.

Tabel 22. Kadar MDA testis kanan kelinci pada ketiga kelompok perlakuan

No	Kelompok	N	X	SD	F	p
1	Varikokel & AO	10	0,482620	0,114285	10,688	0,0001
2	Varikokel	11	0,867345	0,514949		
3	Kontrol	9	0,198489	0,104259		

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; F=nilai hasil uji anova; p= nilai signifikansi

Tabel 23. Beda rata-rata kadar MDA testis kanan pada ketiga kelompok perlakuan

	Varikokel	Kontrol
Varikokel & AO	0,384725*	0,284131
Varikokel	-	0,668857*

\* perbedaan bermakna pada level 0,05

Dari tabel 22 dan 23 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna kadar MDA testis kanan pada kelinci dengan varikokel kiri buatan terhadap kelompok kelinci dengan varikokel buatan dan antioksidan serta kelompok kelinci kontrol. Sementara antara kelompok kelinci varikokel dan antioksidan tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kelinci kontrol.

Kadar MDA testis kanan dan kiri pada ketiga kelompok perlakuan dibandingkan dengan menggunakan uji t tes berpasangan

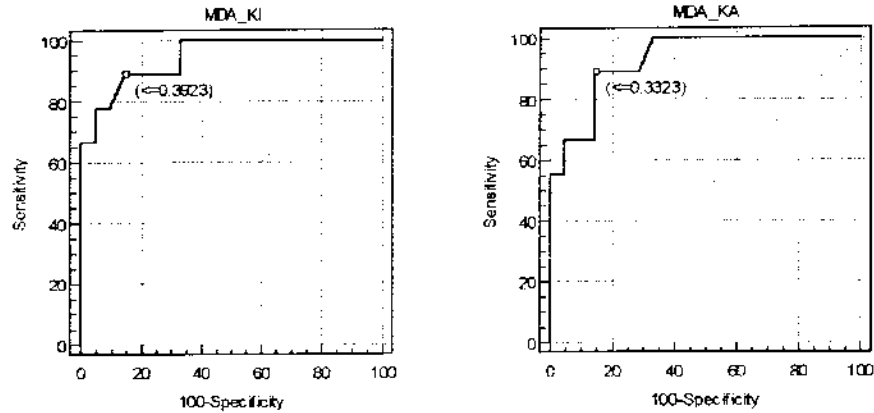
Tabel 24. Uji t tes berpasangan kadar MDA testis kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan

	Paired differences					t	df	p
	x mean diffem	SD	error mean	95% confidence interval of differ				
				low	upp			
Varikokel & AO	0,015	0,1655	0,0523	-0,134	0,103	-0,292	9	0,777
Varikokel	0,199	0,6628	0,1998	-0,247	0,644	0,995	10	0,343
Kontrol	0,009	0,0701	0,0234	-0,063	0,045	-0,373	8	0,719

n= jumlah sampel; x= rata-rata; SD= standar deviasi; t= uji t berpasangan;  
df= n-1; p= nilai signifikansi

Dari tabel diatas menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar MDA testis kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan

Dengan menggunakan program Medcalc, didapatkan angka cut off untuk kadar MDA testis kiri adalah 0,3923 dan kadar MDA testis kanan adalah 0.3323.



Grafik 5.10 Nilai *cut off* kadar MDA testis kiri dan testis kanan

## 5.10 Hubungan Antara Kadar Malondialdehida Dengan Motilitas Dan Jumlah Spermatozoa

Tabel 25. Uji korelasi antara kadar MDA dengan jumlah dan motilitas spermatozoa

### Correlations

		JMLSPTZ	MOTSPZ
JMLSPTZ	Pearson Correlation	1.000	.756**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	30	30
MOTSPZ	Pearson Correlation	.756**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	30	30
MDAKIRI	Pearson Correlation	-.597**	-.676**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000
	N	30	30
MDAKANA	Pearson Correlation	-.498**	-.529**
	Sig. (2-tailed)	.005	.003
	N	30	30
MDA	Pearson Correlation	-.618**	-.682**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000
	N	30	30

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Terdapat hubungan yang bermakna antara kadar MDA dengan motilitas spermatozoa ( $p < 0,05$ ). Besar hubungan adalah  $-0,682$  yang berarti terdapat hubungan terbalik antara kadar MDA dengan motilitas spermatozoa.

Terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah spermatozoa dengan kadar MDA ( $p < 0,05$ ). Besar hubungan adalah  $-0,618$  yang berarti terdapat hubungan terbalik antara kadar MDA dengan jumlah spermatozoa.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Varikokel kiri buatan dapat dibuat dengan menggunakan hewan coba kelinci dengan cara melakukan ligasi parsial pada vena renalis kiri. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya dilatasi vena spermatica interna kiri pada kelompok varikokel buatan kelinci dengan atau tanpa terapi antioksidan (rata-rata diameter vena spermatica interna kiri 24,50 dan 26,36 lbs) dibandingkan dengan kelompok kontrol (rata-rata diameter vena spermatica interna kiri 4,17 lbs). Analisa sperma (jumlah dan persentase motilitas) yang dikerjakan pada minggu kedelapan setelah perlakuan juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Teknik pembuatan varikokel kiri artifisial pada kelinci telah dibuktikan sebelumnya oleh Frank E. Snyder dan Don F. Cameron dengan ligasi parsial pada trunkus lumbotestikularis. Perubahan yang didapatkan berupa perubahan diameter vena spermatica interna kiri, perubahan analisa sperma juga perubahan morfologi ultrastruktur testis yang sama dengan perubahan yang terjadi pada manusia (Snyder, 1983)

Kadar hemoglobin yang relatif tidak berubah antara sebelum dan sesudah operasi ( $F=0,863$  dan  $p=0,433$ ) dimungkinkan karena pada operasi pembuatan varikokel artifisial tidak terjadi perdarahan yang berarti. Faktor makanan yang diberikan juga membuat kadar hemoglobin tetap terjaga baik dan terjadi peningkatan berat badan pada ketiga kelompok perlakuan. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna selisih peningkatan berat badan sebelum dan sesudah operasi pada ketiga kelompok perlakuan ( $F=2,869$ ,  $p=0,074$ ). Hitung jumlah leukosit darah dikerjakan sebelum dan sesudah perlakuan tidak memberikan

gambaran perbedaan yang bermakna ( $F=0,665$ ,  $p=0,522$ ). Hal ini menunjukkan pada 30 sampel tersebut tidak terjadi infeksi sistemik yang dapat mempengaruhi hasil akhir penelitian. Untuk mencegah infeksi semua kelinci diberikan antibiotika injeksi (Ampisilin) sebelum dan sesudah operasi dengan dosis 100 mg/kg BB.

Kadar hemoglobin, hitung jumlah leukosit dan berat badan tidak banyak berubah. Hasil uji homogenitas yang menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna pada ketiga kelompok perlakuan kelinci ( $p>0,05$ ). Hal ini dapat menyimpulkan bahwa pada penelitian ini kadar hemoglobin, leukosit dan berat badan tidak mempengaruhi intervensi dan hasil akhir dari perlakuan.

Volume testis kiri pada ketiga kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan bermakna ( $F=1,031$  dan  $p=0,370$ ). Demikian juga untuk volume testis kanan tidak terdapat perbedaan bermakna pada ketiga perlakuan ( $F=1,347$  dan  $p=0,277$ ). Dengan uji t test berpasangan, volume testis kiri dan kanan menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok varikokel buatan baik dengan terapi antioksidan ( $p=0,02$ ) maupun pada kelompok tanpa perlakuan antioksidan ( $p=0,032$ ). Ternyata varikokel buatan pada kelinci remaja mengakibatkan terjadinya perubahan volume testis ipsilateral.

Hal ini sesuai dengan Mazzoni dan kawan-kawan yang menyebutkan bahwa insiden varikokel pada anak-anak yang cenderung meningkat dapat menyebabkan perubahan progresif pada testis yang ireversibel. Dimana pada varikokel yang besar, dapat menyebabkan perubahan volume testis menjadi hipotrofi yang pada akhirnya akan menyebabkan infertilitas yang tinggi pada anak-anak. Paduch membuktikan adanya korelasi yang jelas antara varikokel dengan volume testis. Volume testis semasa anak-anak adalah konstan dan saat pubertas, volume testis

membesar dengan cepat. Pada remaja dengan varikokel pertumbuhan testis dapat terganggu yang menyebabkan terjadinya perbedaan volume testis. Paduch mengatakan bahwa hipotrofi testis ipsilateral bahkan dapat mencapai  $\frac{1}{4}$  ukuran testis kontralateral. Dikatakan pula bahwa hipotrofi tergantung pada waktu. (Paduch, 2001; Manzoni 1999)

Sampai saat ini belum jelas diketahui bagaimana terjadinya hipotrofi testis, khususnya testis ipsilateral. Beberapa teori yang diajukan adalah adanya massa varikokel yang menghambat perkembangan testis pada remaja, teori hipoksia yang menyebabkan gangguan pertumbuhan testis dan teori ketidakseimbangan hormonal yang menyebutkan bahwa pubertas, spermatogenesis dan perkembangan testis dipengaruhi oleh axis hipotalamus-hipofise dan testis. Biopsi pada testis yang varikokel menunjukkan berkurangnya hormon testosteron intratestikuler. Beberapa hormon lain yang berubah adalah LH (meningkat), respon abnormal terhadap GnRH, FSH (meningkat), sementara testosteron intratestikularis menurun disebabkan berkurangnya sel sertoli. Disebutkan bahwa sel sertoli lebih peka daripada sel germinal. Operasi varikokel mengembalikan ketidakseimbangan hormonal ini. (Paduch, 2001; Manzoni 1999)

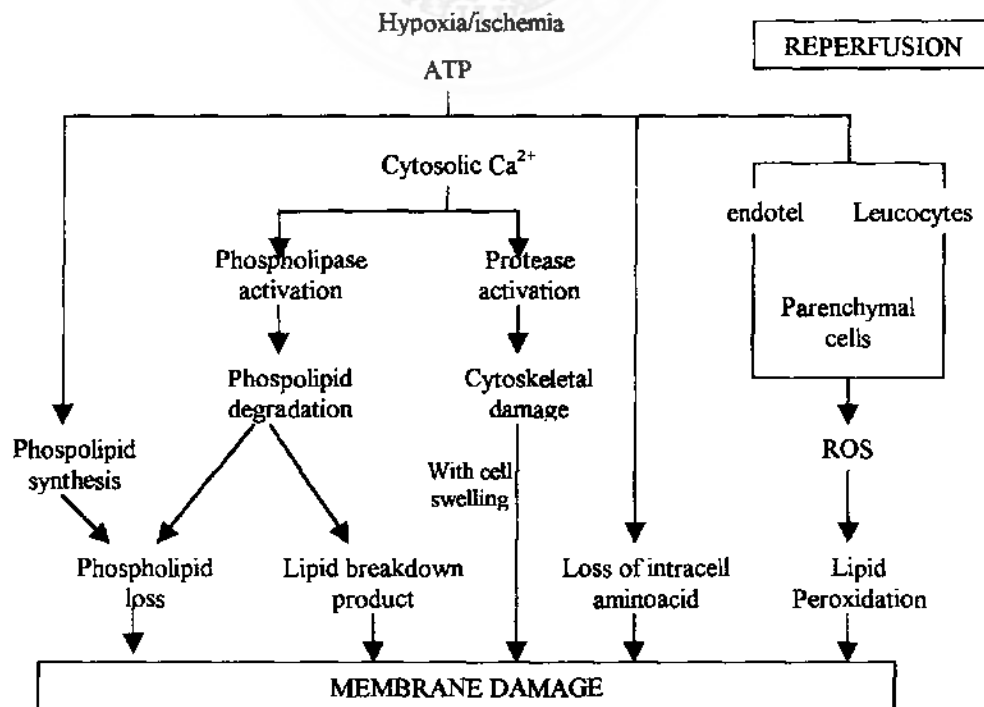
Sel sertoli dan sel leydig mengatur spermatogenesis melalui steroidogenesis dan produksi *growth hormone* dalam pertumbuhan testis. Sel-sel sertoli diatur oleh proliferasi dan differensiasi sel germinal yang dikontrol oleh apoptosis. FasL yang mempengaruhi regulasi apoptosis di sel germinal diproduksi oleh sel sertoli. Fas (APO-1, CD 95) merupakan suatu reseptor protein transmembran, akan mengantarkan signal apoptosis yang dikeluarkan sel yang terikat Fas Ligand (FasL). (Paduch, 2001)

Penanganan varikokel pada anak-anak dan remaja sering terlambat sebab sedikitnya keluhan pada anak-anak dan analisa sperma juga sulit dikerjakan pada anak-anak. Jadi hanya varikokel yang besar dan hipotrofi saja yang umumnya dioperasi. Tindakan pembedahan tidak dianjurkan pada semua anak-anak dan remaja dengan varikokel. Keadaan yang sebaiknya dilakukan pembedahan jika terjadi gangguan pertumbuhan testis, varikokel yang besar, gangguan analisa sperma, adanya keluhan nyeri, rasa berat dan bengkak serta pada varikokel bilateral. Prosedur yang terbaik dengan tingkat rekurensi yang terendah adalah teknik vasoligasi tinggi dari Palomo (Paduch,2001; Mazzoni,1999; Pintus,2001).

Pola analisis sperma pada pada kelompok varikokel buatan juga menggambarkan pola *stress* yaitu penurunan motilitas dan jumlah spermatozoa. Jumlah spermatozoa (rata-rata 337,70 juta/cc pada kelompok terapi antioksidan dan 94,82 juta/cc pada kelompok tanpa antioksidan) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (rata-rata 485,33 juta/cc). Menurut Hafez, *range* untuk jumlah spermatozoa normal pada kelinci berkisar antara 10 juta - 1000 juta/cc, mengesankan bahwa jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok perlakuan masih dalam batas normal (Hafez, 1970). Namun dari uji statistik, Anova 1 arah, didapatkan perbedaan yang bermakna jumlah spermatozoa antara kelompok varikokel dan terapi antioksidan dengan kelompok varikokel tanpa terapi antioksidan serta terhadap kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ). Pemberian antioksidan dapat membuat jumlah spermatozoa jauh lebih baik daripada tanpa antioksidan meskipun belum bisa menyamai jumlah spermatozoa pada kelompok kontrol. *Range* yang dibuat oleh Hafez adalah jumlah normal spermatozoa pada kelinci

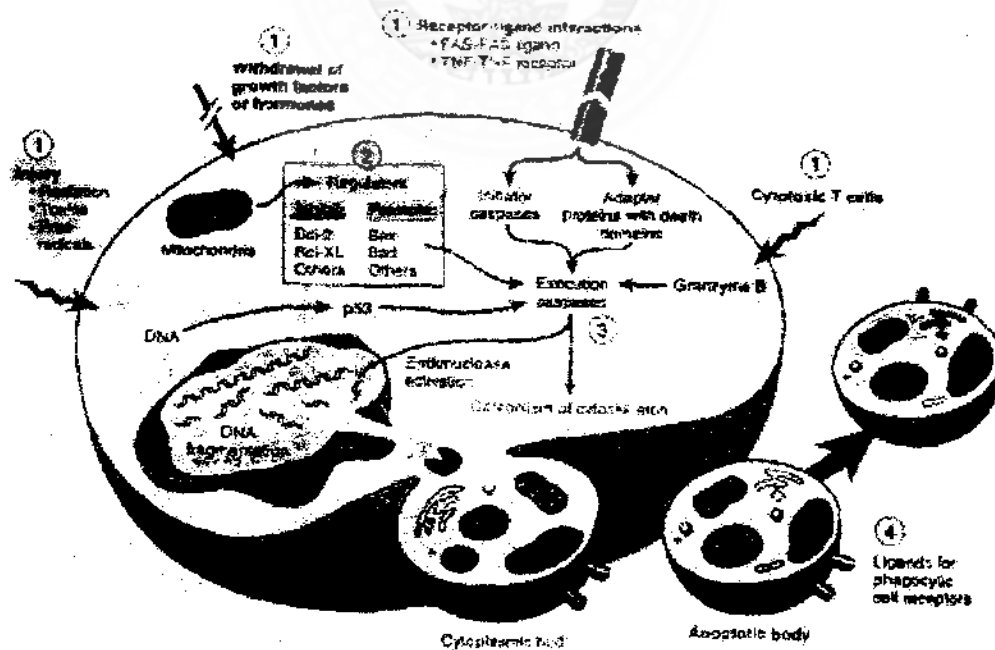
ukuran sedang tanpa pembatasan lebih ketat. Sedangkan pada penelitian ini jenis, usia dan berat badan kelinci dibuat sangat ketat. (Hafez, 1970)

Belum ada teori yang secara pasti dapat menerangkan terjadinya penurunan spermatozoa pada varikokel. Dan pada penelitian ini lebih ditujukan pada menentukan adanya peningkatan kadar senyawa oksigen reaktif testis bilateral pada varikokel kiri buatan kelinci. Diperkirakan terjadinya penurunan jumlah spermatozoa pada varikokel melalui proses nekrosis dan apoptosis. Nekrosis spermatozoa pada iskemia atau hipoksia disebabkan turunnya ATP yang akhirnya akan mengakibatkan rusaknya membran sel. Melalui jalur reperfusi dan radikal bebas, membran juga dapat rusak karena proses lipid peroksidase yang memecah asam lemak tak jenuh membran spermatozoa dan membran organela (skema 4). Aldehid yang dihasilkan pada peroksidasi lipid bersifat toksis terhadap sel itu sendiri juga terhadap sel-sel lain yang cukup jauh. (Cotran, 1999)



Skema 3. Mekanisme kerusakan membran pada jejas iskemi/hipoksia dan reperfusi. Dikutip dari Cotran RS, Kumar V, Collins T, 1999, Robbins Pathologic Basis of Disease 6<sup>th</sup> edition, chapter 1, p.111

Apoptosis suatu program kematian sel yang dapat terjadi pada beberapa kondisi seperti saat pertumbuhan, mekanisme homeostasis untuk menjaga populasi sel dalam jaringan, sebagai mekanisme pertahanan, proses aging atau ketika sel dirusak oleh penyakit atau agen-agen toksis tertentu. Kerusakan sel akibat radikal bebas akan merangsang apoptosis melalui mekanisme yang didahului oleh kerusakan DNA (*stress genotoxic*). Proses ini melibatkan gen tumor supresor p53. Jika usaha DNA untuk melakukan perbaikan gagal, maka p53 akan merangsang apoptosis. Tampaknya p53 merupakan tombol hidup mati sel pada *stress genotoxic* (Contran, 1999). Varikokel kiri buatan pada kelinci akan menyebabkan peningkatan senyawa oksigen reaktif pada testis kanan dan kiri. Adanya radikal bebas ini akan merangsang apoptosis pada sel germinal sehingga terjadi penurunan jumlah spermatozoa pada kelinci dengan varikokel kiri buatan.



Gambar 5. Kejadian apoptosis dimulai oleh beberapa stimuli (1) meliputi jejas, hilangnya *growth hormone*, interaksi ligand-reseptor, T sel sitotoksik. Regulasi diatur oleh inhibitor dan promotor (2), execution caspase (3) menghasilkan badan apoptotic yang difagosit sel fagosit (4). Dikutip dari Cotran RS, Kumar V, Collins T, 1999, Robbins Pathologic Basis of Disease 6<sup>th</sup> ed., ch. 1, p.22

Sejak 4 dekade yang lalu diketahui bahwa senyawa oksigen reaktif dapat toksik pada spermatozoa. Karena spermatozoa mengandung banyak PUFA, khususnya docosahexanoic acid yang mengandung 6 rantai tak jenuh ganda per satu molukul, sehingga sangat rentan terhadap peroksidasi lipid yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif. Pemberian enzim katalase, SOD, Glutation peroksidase dan vit E dapat melindungi kerusakan sperma yang disebabkan oleh senyawa ini. Lipid peroksidasi dapat membunuh spermatozoa manusia pada konsentrasi 100 nmol MDA yang dihasilkan setiap  $10^8$  sel. Jumlah dan motilitas spermatozoa sangat tergantung pada integritas dari membran mitokondria yang banyak mengandung phosfolipid (Aitken, 1989; Gagnon, 1991).

Motilitas sperma juga menunjukkan gambaran yang sangat berbeda pada tiap kelompok. Persentase motilitas sperma pada kelompok kontrol 80% jauh diatas kelompok varikokel dengan ataupun tanpa antioksidan, masing-masing sebesar 63,50% dan 25,09%. Secara statistik, jelas sekali terdapat perbedaan persentase motilitas pada ketiga kelompok. Hal ini sesuai dengan pola *stress* pada analisa sperma penderita dengan varikokel. Gerakan flagela sperma ditentukan oleh konsentrasi Mg ATP. Berkurangnya ATP intraseluler membuat frekuensi gerakan flagela jauh berkurang. Gagnon membuktikan bahwa kadar ATP menurun sampai 10-20 kali lipat setelah diberikan senyawa oksigen reaktif. Sperma normal dalam larutan Percoll dari pria normal, ketika ditambahkan senyawa xantin dan xantin oxidase konsentrasi 1 mM dan 0,05  $\mu$ M, motilitasnya berkurang dalam waktu 30 menit. Jika konsentrasi xantin < 0,1mM tidak akan memberikan efek apapun. Motilitas spermatozoa akan menurun signifikan jika konsentrasi ATP kurang dari 1 mM. Mekanisme bagaimana senyawa oksigen



reaktif dapat menurunkan kadar ATP pada spermatozoa belum jelas diketahui.  $H_2O_2$  dan  $OH^{\bullet}$  dapat menembus membran sel, diperkirakan penurunan ATP karena aksi  $H_2O_2$  dan  $OH^{\bullet}$  pada enzim glyceraldehydes 3 phosphate dehydrogenase, salah satu enzim yang diperlukan dalam sintesa ATP oleh mitokondria. Kemungkinan lain adalah aksi senyawa ini pada membran sel yang menghasilkan aldehida. Senyawa aldehida dapat bersifat toksik pada sel-sel yang berada di sekitarnya atau jauh dari tempatnya tersebut. Aldehida dalam konsentrasi rendah dapat menghambat beberapa kerja enzim, termasuk fungsi mitokondria, glikolisis anaerobik, sintesa DNA, RNA dan protein dan motilitas spermatozoa. (Gagnon, 1991; Sueliman, 1996)

Sangat mungkin fosforilasi komponen axonemal untuk motilitas sperma juga berkurang akibat rendahnya kadar ATP yang ditimbulkan senyawa oksigen reaktif. Hipotesa ini muncul karena spermatozoa yang imobil setelah diberikan cAMP dan cAMP *dependent* protein kinase akan segera terjadi reaktifasi dari spermatozoa tersebut. (Gagnon 1991)

Beberapa antioksidan yang dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat senyawa oksigen reaktif adalah SOD, katalase dan glutathione peroksidase. Vitamin E juga merupakan antioksidan yang penting untuk menjaga membran sel dari reaksi lipid peroksidase. Suleiman dan kawan-kawan membuktikan bahwa pemberian vitamin E pada penderita dengan asthenospermia akan memberikan hasil yang sangat baik terhadap jumlah spermatozoa, motilitas spermatozoa dan penurunan kadar MDA pada sperma. Hendin, Aitken berpendapat bahwa antioksidan ekstraseluler seperti tocopherol, askorbat dan glutathione juga

memiliki peranan pada motilitas spermatozoa *in vivo*. (Gagnon, 1991; Suleiman, 1996; Hendin, 1999, Aitken 1989)

Vesika seminalis manusia merupakan sumber utama antioksidan alami untuk spermatozoa. Dikatakan bahwa plasma seminalis dapat mengurangi efek senyawa oksigen reaktif sampai 70%, namun efek ini sangat bervariasi pada tiap individu. Hendin melalui penelitiannya pada penderita varikokel mendapatkan bahwa kadar antioksidan vesika seminalis sangat berkurang pada varikokel (Gagnon, 1991; Suleiman, 1996; Hendin, 1999)

MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid. Sumber MDA di testis adalah spermatozoa dan leukosit (khususnya neutrofil). Spermatozoa memiliki banyak rantai asam lemak tak jenuh ganda. Untuk mengurangi pengaruh leukosit, saat operasi testis dicuci bersih dengan gram fisiologis. Ketiga kelompok mendapat perlakuan yang sama, sehingga beda kadar MDA yang didapat merupakan hasil yang berasal dari reaksi peroksidasi lipid spermatozoa pada testis kiri dan kanan. Beberapa peneliti menuliskan bahwa kadar MDA testis (lipid peroksidase di testis sama dengan kadar di ginjal dan hepar. Sementara di traktus genitalia sendiri, kadar MDA sangat bervariasi dan yang tertinggi adalah dalam tubulus seminiferus. (Suleiman, 1996).

Dari analisis data kadar MDA testis kiri dan kanan didapatkan peningkatan kadar MDA pada kelompok varikokel dengan terapi antioksidan (kiri=0,467 nmol/mg; kanan=0,482 nmol/mg) dan varikokel tanpa terapi antioksidan (rata-rata kiri= 1,066 nmol/mg; kanan 0,867 nmol/mg) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (kiri=0,190 nmol/mg; kanan 0,198 nmol/mg). Dengan uji anova satu arah didapatkan perbedaan bermakna kadar MDA yang bermakna kelompok varikokel

tanpa terapi antioksidan terhadap varikokel dengan terapi antioksidan dan kelompok kontrol. Sedangkan dengan pemberian antioksidan pada varikokel buatan membuat kadar MDA testis menjadi tidak berbeda secara bermakna terhadap kelompok kontrol ( $F=19,854$ ;  $p=0,0001$ ).

Seperti telah disebutkan diatas bahwa antioksidan, khususnya SOD, glutathion peroksidase dan vitamin E dapat menurunkan kadar MDA pada sperma. Malondialdehida sangat toksis terhadap sel sekitarnya, baik yang dekat maupun pada sel yang letaknya cukup jauh. Vitamin E, dapat menjaga membran spermatozoa dan mitokondria dari senyawa oksigen reaktif (Suleiman, 1996)

Kadar MDA testis kiri dan kanan juga dibandingkan pada tiap kelompok perlakuan dengan uji t tes berpasangan. Tidak didapatkan perbedaan kadar MDA bermakna antara testis kiri dan kanan ( $p>0,05$ ) pada tiap kelompok perlakuan.

Kenyataan bahwa varikokel buatan pada satu sisi akan menyebabkan peningkatan kadar MDA pada sisi ipsilateral dan kadar MDA kontralateral dapat menerangkan bagaimana lesi varikokel ipsilateral merupakan salah satu faktor yang dapat memberikan efek bilateral, sehingga dapat menerangkan bagaimana varikokel unilateral kiri dapat membuat perubahan jumlah dan motilitas spermatozoa, yang pada akhirnya akan mengganggu kemampuan fertilisasi.

Paduch dan kawan-kawan membuktikan melalui studi venografi bahwa terdapat komunikasi silang antara sistem vena testikularis kanan dan kiri. Dengan adanya sistem komunikasi ini dapat membantu menerangkan bagaimana varikokel unilateral kiri dapat menyebabkan gangguan testis bilateral (Paduch, 2001). Turner dan Lopez meneliti aliran darah testikuler bilateral pada varikokel unilateral kiri pada tikus. Disimpulkan terdapat peningkatan aliran darah bilateral

dan peningkatan temperatur testis bilateral pada varikokel unilateral kiri. Turner berpendapat bahwa jejas pada 1 testis dapat memberikan respon terhadap testis kontralateral mungkin melalui mekanisme hormonal atau neural. Mekanisme *baroreseptor* atau *stretch reseptor* pada mekanisme hormonal atau neural belum dapat diterangkan (Turner, 1990). Koksai, membuktikan bahwa varikokel unilateral kiri juga dapat menyebabkan atrofi testis ipsilateral dan perubahan histologi pada testis bilateral. (Koksai, 2000)

Pada perhitungan nilai *cut off* kadar MDA testis kiri adalah 0,3923 nmol/mg protein dan kadar MDA testis kanan adalah 0,3323 nmol/mg protein. Kedua nilai *cut off* memiliki sensitivitas 88,9% dan spesifisitas 85,7%. Nilai *cut off* testis kanan sedikit lebih rendah daripada testis kiri, namun dengan uji t test berpasangan tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar testis kiri dan kanan. Jika kadar MDA melebihi angka tersebut diatas, seharusnya pada kelinci itu sudah diberikan tindakan intervensi. Dengan melihat nilai sensitivitas dan spesifisitas nilai *cut off* ini, masih ada sebesar 11,1% kejadian yang akan memberikan hasil positif palsu dan sebesar 14,3% yang akan memberikan hasil negatif palsu.

Dengan uji korelasi Pearson, diukur hubungan terbalik antara kadar MDA dengan jumlah spermatozoa ( $r -0,618$ ) dan motilitas spermatozoa ( $r -0,682$ ). Gagnon, mendapatkan korelasi negatif yang signifikan antara kadar ROS dan persentase motilitas dan jumlah spermatozoa. Suleiman mendapatkan angka korelasi sebesar  $-0,79$  (Gagnon, 1991; Suleiman 1996). Artinya, terdapat hubungan terbalik yang sangat kuat antara kadar MDA dengan motilitas dan jumlah spermatozoa, meskipun bukan satu-satunya faktor yang berperan pada penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa. Ligasi yang tepat di proksimal vena

spermatika interna memungkinkan terjadinya refluk metabolit dari ginjal dan adrenal. Faktor lainnya adalah perubahan temperatur pada testis akibat statis vena.

Design studi untuk menilai kadar malondialdehida dan analisa sperma yang dipakai adalah *post test control group design*. Kelemahan dari *design* ini tidak bisa untuk menentukan ada tidaknya suatu peningkatan mutlak kadar MDA. Paling ideal jika digunakan binatang coba kembar tiga monozigot. Untuk meminimalisasi dipakai kelompok kontrol yang relatif homogen dari satu peternakan.

Hasil dari penelitian ini dapat menjadi dasar untuk pemikiran lebih lanjut bahwa antioksidan yang terbukti memberikan efek positif terhadap varikokel kiri buatan, diharapkan juga memberikan efek yang sama pada manusia *in vivo*. Masih diperlukan pembuktian lebih lanjut peranan antioksidan terhadap kualitas sperma manusia *in vivo*. Dimungkinkan akan ditemukan hasil sinergistik antara pembedahan dan terapi antioksidan pada penderita varikokel pada penelitian-penelitian mendatang. Terimakasih.

## **BAB 7**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1. KESIMPULAN**

1. Varikokel kiri buatan pada kelinci dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA pada testis kiri dan kanan. Terdapat perbedaan kadar MDA testis kiri antara kelompok varikokel kiri buatan tanpa terapi antioksidan terhadap kelompok varikokel kiri buatan dengan terapi antioksidan dan kelompok kontrol. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar MDA testis kiri antara kelompok varikokel kiri buatan dengan terapi antioksidan terhadap kelompok kontrol.
2. Terdapat perbedaan kadar MDA testis kanan antara kelompok varikokel kiri buatan tanpa terapi antioksidan terhadap kelompok varikokel kiri buatan dengan terapi antioksidan dan kelompok kontrol. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar MDA testis kanan antara kelompok varikokel kiri buatan dengan terapi antioksidan terhadap kelompok kontrol.
3. Terdapat korelasi negatif antara kadar MDA testis (lipid peroksidasi) dengan motilitas spermatozoa.
4. Terdapat korelasi negatif antara kadar MDA testis (lipid peroksidasi) dengan jumlah spermatozoa.
5. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar MDA testis kiri dan kanan pada ketiga kelompok perlakuan. Kelompok varikokel kiri buatan dengan dan tanpa terapi antioksidan menyebabkan perbedaan jumlah dan motilitas spermatozoa terhadap kelompok kontrol.

6. Varikokel kiri buatan dapat dibuat pada kelinci dengan teknik ligasi vena renalis kiri tepat di proksimal dari muara vena spermatica interna
7. Varikokel kiri buatan dapat menyebabkan perubahan volume testis ipsilateral jika dibandingkan dengan testis kontralateral.
8. Pemberian antioksidan Vitamin  $\beta$  carotene, E, C dan selenium akan memberikan perbaikan yang bermakna terhadap persentase motilitas spermatozoa, jumlah spermatozoa serta penurunan kadar MDA pada varikokel kiri buatan pada kelinci.
9. Senyawa oksigen reaktif dapat merupakan salah satu penyebab efek bilateral pada varikokel unilateral kiri buatan pada kelinci.

## 7.2. SARAN

1. Pengaruh antioksidan terhadap fungsi spermatozoa pada penderita varikokel kiri masih perlu dibuktikan lagi melalui penelitian pada manusia. Antioksidan yang diberikan adalah  $\beta$  karoten, Vitamin E dan C serta Selenium. Jenis antioksidan tersebut terbukti memperbaiki jumlah, motilitas spermatozoa dan menurunkan kadar MDA testis kiri dan kanan.
2. Radikal bebas yang diperiksa hendaknya langsung dari spermatozoa manusia untuk mengetahui kadar dan jenis radikal bebas secara tepat.

**DAFTAR KEPUSTAKAAN**

1. Ali MH, Schlidt SA, Chandel NS, Hynes KL, Schumacker PT, Gewertz BL, 1999, Endothelial Permeability and IL-6 production during hypoxia:role of ROS in signal transduction, *AJP-Lung Cellular and Molecular Physiology* vol. 277 (5), 1057-1065.<http://ajplung.physiology.org/cgi/reprint/277/5/L1057?> [cited: November 12<sup>th</sup> 2002]
2. Aitken R.J., 1989, The role of free oxygen radicals and sperm function:editorial, *International Journal of Andrology* vol 12, p. 90-97
3. Alkan I. Simsek F., Haklar G., Kervancioglu E. Ozveri H., Yalcin S, Akdas A., 1997, Reactive Oxygen Species Production by The Spermatozoa of Patients With Idiopathic Infertility: Relationship to Seminal Plasma Antioksidan, *The Journal of Urology*, vol 157, 140-143
4. Asci R., 1999, The effects of experimental varicocele on testicular histology and fertility in monorchic adult rats. *BJU Int.* 83; 493-497.
5. Askandar T, Ari S, 1995, Radikal Bebas dan Diabetes (Aspek Klinik-Aplikasi Terapi). Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Saraf Indonesia RSUD Dr. Sutomo - FK Unair, Surabaya, 1-22.
6. Atekeler K., 1996, The value of the gonadotrophin-releasing hormone test as a prognostic factor in infertile patients with varicocele, *BJU* 78: 632-634.
7. Brandell RA and Peter N Schlegel, 2001, Male infertility, In (Robert M Weis et al., eds): *comprehensive Urology*, Mosby Int. limited. London, 386.
8. Cameron DF., 1980, Ultrastructural alterations in the adluminal testicular compartment in men with varicocele. *Fertil Steril.* May. 33 (5); 526-533.
9. Comhaire F., 1984, The value of scrotal thermography as compare with selective retrograde venography of the internal spermatic vein for the diagnosis of subclinical varicocele. *Fertil. Steril.*, 27:694,
10. Coolsaet BLRA., 1980, The varicocele syndrome : Venography determining the optimal level for surgical management. *J.Urol.* 124:833.



11. Cotran RS, Kumar V, Collins T, 1999, Robbins Pathologic Basis of Disease 6<sup>th</sup> edition, chapter 1, WB Saunders Company, USA, 1-30
12. Fessenden FJ, Fessenden JS, 1996, Fundamentals of Organic Chemistry ch.10: Aldehida and Keton, Harper Collins Publisher, USA, 357-397
13. Gagnon D., 1991, Sperm Cell Biology: Reactive Oxygen Species and Sperm Function, Urology research Laboratory, lecture at Royal Victoria Hospital, Mc Gill University, Canada.
14. Hafez EZE, 1970, Reproduction and Breeding Techniques for Laboratofy Animals, Lea Fegiber, Philadelphia, p 273-275.
15. Halliwell B, Gutteridge JMC, 1999, Free Radicals in Biology and Medicine 3<sup>th</sup> edition chapter 4: Oxidative stress: adaptation, damage, repair and death, Oxford University Press New York, USA, 246-350.
16. Halliwell B, Gutteridge JMC., 1999, Free Radicals in Biology and Medicine 3<sup>th</sup> edition chapter 5: Detection of Free Radicals and Other Reactive Species: Trapping and Fingerprinting, Oxford University Press New York, USA, 351-429
17. Halliwell B, Gutteridge JMC., 1999, Free Radicals in Biology and Medicine 3<sup>th</sup> edition chapter 7: Oxidative Stress and Antioxidant Protection: Some Special Cases, Oxford University Press New York, USA, 522-529.
18. Hardjopranoto S, 1995, Ilmu Kemajiran pada Ternak, Airlangga University Press, Surabaya.
19. Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK, 1999, Varicocele is Associated With Elevated Spermatozoal Reactive Oxygen Species Production and Diminished Seminal Plasma Antioxidant Capacity, The Journal of Urology vol 161, 1831-1834
20. Hurt GS, Howards SS, Turner TT., 1987, The effects of unilateral, experimental varicocele are not mediated through the ipsilateral testis. J Androl 8(6):403-408
21. KoksallT, Usta TM, Erol H, 2000, The Role of Reactive Oxygen Species in Testicular Dysfunction Associated with Varicocele, BJU International 86, 549-552
22. La Nasa JA and Ronald WL., 1987, Varicocele and its surgical management. Urologic clinics of north America. Feb. 14 (1); 127-136

23. Lund L and KT Nielsen, 1996, Varicocele and testicular temperatur, BJU. March. 78; 113-115.
24. Malole MBM, C Sri Utami P, 1989, Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat DIKTI, Pusat antar Universitas Bioteknologi IPB.
25. Mann T, Mann D, 1981, Male Reproduction Function and Semen, Springer Verlag Berlin Heidleberg, Newyork
26. Mazzone G., Fiocca G., Minucci S., 1999, Varicocele: a multidisciplinary approach in children and adolescents, The Journal of Urology vol 162, p. 1755
27. Nudell DM, Turek PJ, 2001, Male Fertility and Infertility in (Hanno PM, Malkowicz SB, Wein AJ, eds): Clinical Manual of Urology 3<sup>rd</sup>, McGraw-Hill International Edition, Singapore, 643-674
28. Paduch A.D., Skoog S.J., 2001, Current Management of Adolescent Varicocele, Reviues in Urology vol. 3(3), p. 120-133
29. Pintus C., Rodriguez Matas M.J., Manzoni C, Nanni L., Perrelli L., Varicocele in pediatric patients; comparative assessment of different therapeutic approaches, Urology 53, 2001, p. 154-158.
30. Podesta, 1994 Hormonal parameters and testicular volume in children and adolescents with unilateral varicocele : Preoperative and post operative finding. J.Urol. Agust; 152(2 pt 2) : 794-797.
31. Pryor JL., and Stuart SH., 1987, Varicocele. Urologic clinic of north America. August. 14. (3) : 499-511.
32. Rajfer Jacob, 1998, Congenital anomaly of the testis and scrotum, In (Walsh PC. Et al. eds.): Cambell's Urology, WB Saunders Company 7<sup>th</sup> ed., 2186-2187.
33. Santoro G., 1999, A morphometric and ultrastructural study of the changes in the lamina propia in adolescents with varicocele, BJU Int. 83; 826-832.
34. Santoro G., Rome C., 2001, Nitric Oxide synthase pattern in normal and varicocele testis in adolescent, BJU International 88, 967-971

35. Sawczuk IS., Varicocele, 1993, Effect on testicular volume in prepubertal and pubertal males. *Urology*. May. 41 (5) :466-468.
36. Sayfan J., Halevy A., Shperber Y., 1985, The role of spermatic cord layers in the development of varicocele. *J.Urol*. 133:233.
37. Saypol DC., 1981, Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, temperature and histology in adult rats and dogs. *J Clin Invest*. Jul; 68(1) : 39-45.
38. Shafik A., 1984, New concepts in pathogenesis and treatment of varicocele. In: *Varicocele and Male Infertility II*. Glezerman M and EW Jecht. Springer-Verlag. Berlin, 5-29.
39. Shakhov EV., Artifeksov SB., and Ryzhakov IuD.. 1993, The endocrine function of the hypophyseal gonadal system in varicocele. *Urol Nefrol*. May-Jun; (3) : 28-30.
40. Snyder FE and DF Cameron. Surgical induction of varicocele in the rabbit, *The Journal of Urology* vol.130; 1983, p.1005-1009.
41. Southorn PA, Pomis G., 1988, Free Radicals in Medicine I, Chemical Nature and Biologic Reaction, *Mayo Clin Proc* 63, 381-398.
42. Suleiman SA, Elamin Ali M, Zaki MS, El Malik EMA and Nasr MA, 1996, Lipid Peroxidation and Human Sperm Motility: Protective role of Vitamin E, *J.Andrology* vol. 17(5), p. 530-536.
43. Su Li-Ming, M Goldstein and Peter NS., 1995, The effect of varicocelectomy on serum testosterone level in infertile men with varicocele. *J.Urol*. Nov;154(5): 1752-1755.
44. Suryohudoyo P, 2000, *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler*, CV Infomedika, Jakarta, 31-47
45. Turner T.T., Lopez T.J., 1990, Testicular Blood Flow in Peripubertal and Older Rats with Unilateral Experimental Varicocele And Investigation into The Mechanism of Thet Bilateral Response to thehe unilateral lesion, *The Journal of Urology* vol 144, 1018-1021

**LAMPIRAN 1. Hasil Analisa Statistik SPSS 11.0 for Windows****1. Kelompok varikokel kiri buatan dan pemberian Antioksidan****Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BB01	10	1,4500	,15811	1,25	1,75
BB02	10	1,7500	,25820	1,40	2,10
HB01	10	10,860	1,4721	9,4	14,2
HB02	10	11,530	1,4705	9,8	14,4
LEUK01	10	12,170	1,0209	11,1	14,3
LEUK02	10	11,930	,7103	10,8	12,9
VOLKIRI	10	763,80	424,439	336	1617
VOLKANAN	10	811,50	438,979	357	1617

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
MDAKIRI	10	,467310	,1074769	,2903	,6292
MDAKANA	10	,482620	,1142849	,2757	,6635
VSIKIRI	10	24,50	9,560	15	40
VSIKANA	10	8,00	4,216	5	15
JMLSPTZ	10	337,70	68,628	241	448
VOLSPTZ	10	,6900	,11005	,55	,90
MOTSPZ	10	63,50	15,644	40	90

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BB01	BB02	HB01	HB02	LEUK01	LEUK02	VOLKIRI	volkan
N		10	10	10	10	10	10	10	10
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	1,4500	1,7500	10,860	11,530	12,170	11,930	763,80	811,50
	Std. Deviation	,15811	,25820	1,4721	1,4705	1,0209	,7103	424,439	438,979
Most Extreme Differences	Absolute	,224	,219	,223	,190	,188	,195	,299	,261
	Positive	,224	,219	,223	,190	,188	,128	,299	,261
	Negative	-,129	-,134	-,161	-,123	-,147	-,195	-,157	-,161
Kolmogorov-Smirnov Z		,709	,694	,704	,601	,595	,615	,945	,824
Asymp. Sig. (2-tailed)		,697	,722	,704	,862	,870	,843	,334	,506

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

	MDAKIRI	MDAKANA	VSIKIRI	VSIKANA	JMLSPTZ	VOLSPTZ	MOTSPZ	
N	10	10	10	10	10	10	10	
Normal Parameters	Mean	,467310	,482620	24,50	8,00	337,70	,6900	63,50
	Std. Deviation	1074769	,1142849	9,560	4,216	68,628	,11005	15,644
Most Extreme Differences	Absolute	,219	,243	,240	,362	,183	,242	,189
	Positive	,219	,182	,240	,362	,183	,242	,189
	Negative	-,167	-,243	-,164	-,238	-,138	-,141	-,154
Kolmogorov-Smirnov Z		,693	,767	,758	1,144	,579	,765	,596
Asymp. Sig. (2-tailed)		,723	,599	,613	,146	,891	,602	,869

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**2. Kelompok varikokel buatan dan tanpa pemberian Antioksidan****Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BB01	11	1,4636	,16895	1,25	1,75
BB02	11	1,7409	,23326	1,45	2,10
HB01	11	11,236	1,4438	9,7	14,2
HB02	11	11,218	1,1898	9,5	13,3
LEUK01	11	12,200	,4050	11,7	13,1
LEUK02	11	12,027	,8368	11,0	13,8
VOLKIRI	11	646,27	174,121	408	935
VOLKANAN	11	679,82	199,835	432	1080

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
MDAKIRI	11	1,066091	,4974816	,4303	2,1912
MDAKANA	11	,867345	,5149488	,3121	1,8601
VSIKIRI	11	26,36	7,775	15	40
VSIKANA	11	9,09	4,369	5	20
JMLSPTZ	11	94,82	73,592	15	252
VOLSPTZ	11	,6455	,07230	,55	,80
MOTSPZ	11	25,09	16,282	1	50

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB01	BB02	HB01	HB02	LEUK01	LEUK02	VOLKIRI	VOLKAN
N		11	11	11	11	11	11	11	11
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1,4636	1,7409	11,236	11,218	12,200	12,027	646,27	679,82
	Std. Deviation	,16895	,23326	1,4438	1,1898	,4050	,8368	174,121	199,835
Most Extreme Differences	Absolute	,222	,197	,216	,171	,234	,193	,176	,163
	Positive	,197	,197	,216	,153	,234	,193	,176	,163
	Negative	-,222	-,139	-,144	-,171	-,130	-,123	-,131	-,125
Kolmogorov-Smirnov Z		,735	,654	,716	,568	,776	,639	,584	,541
Asymp. Sig. (2-tailed)		,653	,786	,685	,904	,584	,809	,885	,931

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		MDAKIRI	MDAKANA	VSIKIRI	VSIKANA	JMLSPTZ	VOLSPTZ	MOTSPZ
N		11	11	11	11	11	11	11
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1,066091	,867345	26,36	9,09	94,82	,6455	25,09
	Std. Deviation	,4974816	,5149488	7,775	4,369	73,592	,07230	16,282
Most Extreme Differences	Absolute	,163	,161	,297	,327	,210	,281	,184
	Positive	,163	,161	,297	,327	,210	,281	,096
	Negative	-,101	-,140	-,249	-,219	-,139	-,174	-,184
Kolmogorov-Smirnov Z		,540	,535	,985	1,083	,697	,931	,609
Asymp. Sig. (2-tailed)		,932	,937	,287	,191	,717	,351	,852

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## 3. Kelompok kontrol

## Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BB01	9	1,3833	,17321	1,25	1,75
BB02	9	1,5444	,19275	1,35	1,95
HB01	9	11,244	1,5637	9,7	14,2
HB02	9	11,333	,7106	10,2	12,2
LEUK01	9	12,244	,4275	11,7	13,1
LEUK02	9	12,478	,9080	11,1	13,7
VOLKIRI	9	580,56	174,515	385	864
VOLKANAN	9	590,67	170,654	385	864

## Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
MDAKIRI	9	,189778	,1562762	,0224	,4762
MDAKANA	9	,198489	,1042590	,0710	,3323
VSIKIRI	9	11,11	4,167	5	15
VSIKANA	9	11,11	4,167	5	15
JMLSPTZ	9	485,33	189,384	314	872
VOLSPTZ	9	,7222	,05652	,65	,80
MOTSPZ	9	80,00	8,660	70	95

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	BB01	BB02	HB01	HB02	LEUK01	LEUK02	VOLKIRI	VOLKAN	
N	9	9	9	9	9	9	9	9	
Normal Parameters	Mean	1,3833	1,5444	11,244	11,333	12,244	12,478	580,56	590,67
	Std. Deviation	,17321	,19275	1,5637	,7106	,4275	,9080	174,515	170,654
Most Extreme Differences	Absolute	,240	,181	,215	,232	,299	,152	,206	,187
	Positive	,240	,181	,215	,173	,299	,145	,202	,167
	Negative	-,221	-,157	-,162	-,232	-,146	-,152	-,206	-,187
Kolmogorov-Smirnov Z	,721	,543	,646	,696	,897	,457	,618	,561	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,676	,930	,798	,719	,397	,985	,840	,911	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	MDAKIRI	MDAKANA	VSIKIRI	VSIKANA	JMLSPTZ	VOLSPTZ	MOTSPZ	
N	9	9	9	9	9	9	9	
Normal Parameters	Mean	,189778	,198489	11,11	11,11	485,33	,7222	80,00
	Std. Deviation	,1562762	,1042590	4,167	4,167	189,384	,05652	8,660
Most Extreme Differences	Absolute	,198	,182	,269	,269	,244	,208	,167
	Positive	,198	,182	,175	,175	,244	,208	,167
	Negative	-,142	-,174	-,269	-,269	-,183	-,138	-,124
Kolmogorov-Smirnov Z	,595	,547	,807	,807	,733	,625	,500	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,871	,926	,532	,532	,655	,829	,964	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## 4. Uji Anova

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BB01	Between Groups	,035	2	,018	,635	,538
	Within Groups	,750	27	,028		
	Total	,786	29			
BB02	Between Groups	,254	2	,127	2,383	,111
	Within Groups	1,441	27	,053		
	Total	1,696	29			
HB01	Between Groups	,963	2	,481	,217	,806
	Within Groups	59,912	27	2,219		
	Total	60,875	29			
HB02	Between Groups	,516	2	,258	,185	,832
	Within Groups	37,657	27	1,395		
	Total	38,174	29			
LEUK01	Between Groups	,026	2	,013	,029	,972
	Within Groups	12,483	27	,462		
	Total	12,510	29			
LEUK02	Between Groups	1,605	2	,802	1,194	,318
	Within Groups	18,138	27	,672		
	Total	19,743	29			

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
VOLKIRI	Between Groups	165633,9	2	82816,931	1,031	,370
	Within Groups	2168162	27	80302,296		
	Total	2333796	29			
VOLKANAN	Between Groups	236110,8	2	118055,415	1,347	,277
	Within Groups	2366646	27	87653,561		
	Total	2602757	29			
MDAKIRI	Between Groups	4,080	2	2,040	19,854	,000
	Within Groups	2,774	27	,103		
	Total	6,854	29			
MDAKANA	Between Groups	2,261	2	1,131	10,688	,000
	Within Groups	2,856	27	,106		
	Total	5,117	29			
VSIKIRI	Between Groups	1318,232	2	659,116	11,365	,000
	Within Groups	1565,934	27	57,998		
	Total	2884,167	29			
VSIKANA	Between Groups	46,869	2	23,434	1,292	,291
	Within Groups	489,798	27	18,141		
	Total	536,667	29			



## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
JMLSPTZ	Between Groups	784946,1	2	392473,065	27,633	,000
	Within Groups	383475,7	27	14202,805		
	Total	1168422	29			
VOLSPTZ	Between Groups	,030	2	,015	2,156	,135
	Within Groups	,187	27	,007		
	Total	,217	29			
MOTSPZ	Between Groups	16175,558	2	8087,779	40,043	,000
	Within Groups	5453,409	27	201,978		
	Total	21628,967	29			

## Multiple Comparisons

## LSD

Dependent Variable (I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
BB01	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-,0136	,07284	,853	-,1631	,1358
		kontrol	,0667	,07660	,392	-,0905	,2238
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	,0136	,07284	,853	-,1358	,1631
		kontrol	,0803	,07493	,293	-,0734	,2341
	kontrol	dengan anti oksidan	-,0667	,07660	,392	-,2238	,0905
		tanpa anti oksidan	-,0803	,07493	,293	-,2341	,0734
BB02	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	,0091	,10095	,929	-,1980	,2162
		kontrol	,2056	,10616	,063	-,0123	,4234
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-,0091	,10095	,929	-,2162	,1980
		kontrol	,1965	,10385	,069	-,0166	,4095
	kontrol	dengan anti oksidan	-,2056	,10616	,063	-,4234	,0123
		tanpa anti oksidan	-,1965	,10385	,069	-,4095	,0166
HB01	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-,376	,6509	,568	-1,712	,959
		kontrol	-,384	,6844	,579	-1,789	1,020
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	,376	,6509	,568	-,959	1,712
		kontrol	-,008	,6695	,990	-1,382	1,366
	kontrol	dengan anti oksidan	,384	,6844	,579	-1,020	1,789
		tanpa anti oksidan	,008	,6695	,990	-1,366	1,382
HB02	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	,312	,5160	,551	-,747	1,371
		kontrol	,197	,5426	,720	-,917	1,310
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-,312	,5160	,551	-1,371	,747
		kontrol	-,115	,5308	,830	-1,204	,974
	kontrol	dengan anti oksidan	-,197	,5426	,720	-1,310	,917
		tanpa anti oksidan	,115	,5308	,830	-,974	1,204
LEUK01	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-,030	,2971	,920	-,640	,580
		kontrol	-,074	,3124	,813	-,715	,567
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	,030	,2971	,920	-,580	,640
		kontrol	-,044	,3056	,885	-,672	,583
	kontrol	dengan anti oksidan	,074	,3124	,813	-,567	,715
		tanpa anti oksidan	,044	,3056	,885	-,583	,672
LEUK02	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-,097	,3581	,788	-,832	,638
		kontrol	-,548	,3766	,157	-1,320	,225
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	,097	,3581	,788	-,638	,832
		kontrol	-,451	,3684	,232	-1,206	,305
	kontrol	dengan anti oksidan	,548	,3766	,157	-,225	1,320
		tanpa anti oksidan	,451	,3684	,232	-,305	1,206

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
VOLKIRI	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	117,53	123,816	,351	-136,52	371,58
		kontrol	183,24	130,203	,171	-83,91	450,40
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-117,53	123,816	,351	-371,58	136,52
		kontrol	65,72	127,368	,610	-195,62	327,06
	kontrol	dengan anti oksidan	-183,24	130,203	,171	-450,40	83,91
		tanpa anti oksidan	-65,72	127,368	,610	-327,06	195,62
VOLKANAN	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	131,68	129,359	,318	-133,74	397,11
		kontrol	220,83	136,032	,116	-58,28	499,95
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-131,68	129,359	,318	-397,11	133,74
		kontrol	89,15	133,071	,509	-183,89	362,19
	kontrol	dengan anti oksidan	-220,83	136,032	,116	-499,95	58,28
		tanpa anti oksidan	-89,15	133,071	,509	-362,19	183,89
MDAKIRI	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-,598781*	,1400560	,000	-,886152	-,311410
		kontrol	,277532	,1472801	,070	-,024662	,579726
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	,598781*	,1400560	,000	,311410	,886152
		kontrol	,876313*	,1440741	,000	,580698	1,171929
	kontrol	dengan anti oksidan	-,277532	,1472801	,070	-,579726	,024662
		tanpa anti oksidan	-,876313*	,1440741	,000	-1,171929	-,580698
MDAKANA	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-,384725*	,1421112	,012	-,676313	-,093137
		kontrol	,284131	,1494412	,068	-,022497	,590759
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	,384725*	,1421112	,012	,093137	,676313
		kontrol	,668857*	,1461882	,000	,368903	,968810
	kontrol	dengan anti oksidan	-,284131	,1494412	,068	-,590759	,022497
		tanpa anti oksidan	-,668857*	,1461882	,000	-,968810	-,368903
VSIKIRI	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-1,86	3,328	,580	-8,69	4,96
		kontrol	13,39*	3,499	,001	6,21	20,57
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	1,86	3,328	,580	-4,96	8,69
		kontrol	15,25*	3,423	,000	8,23	22,28
	kontrol	dengan anti oksidan	-13,39*	3,499	,001	-20,57	-6,21
		tanpa anti oksidan	-15,25*	3,423	,000	-22,28	-8,23
VSIKANA	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	-1,09	1,861	,563	-4,91	2,73
		kontrol	-3,11	1,957	,124	-7,13	,90
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	1,09	1,861	,563	-2,73	4,91
		kontrol	-2,02	1,914	,301	-5,95	1,91
	kontrol	dengan anti oksidan	3,11	1,957	,124	-,90	7,13
		tanpa anti oksidan	2,02	1,914	,301	-1,91	5,95

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

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
JMLSPTZ	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	242,88*	52,072	,000	136,04	349,72
		kontrol	-147,63*	54,757	,012	-259,99	-35,28
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-242,88*	52,072	,000	-349,72	-136,04
		kontrol	-390,52*	53,565	,000	-500,42	-280,61
	kontrol	dengan anti oksidan	147,63*	54,757	,012	35,28	259,99
		tanpa anti oksidan	390,52*	53,565	,000	280,61	500,42
VOLSPTZ	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	,0445	,03635	,231	-,0300	,1191
		kontrol	-,0322	,03822	,407	-,1106	,0462
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-,0445	,03635	,231	-,1191	,0300
		kontrol	-,0768*	,03739	,050	-,1535	-,0001
	kontrol	dengan anti oksidan	,0322	,03822	,407	-,0462	,1106
		tanpa anti oksidan	,0768*	,03739	,050	,0001	,1535
MOTSPZ	dengan anti oksidan	tanpa anti oksidan	38,41*	6,210	,000	25,67	51,15
		kontrol	-16,50*	6,530	,018	-29,90	-3,10
	tanpa anti oksidan	dengan anti oksidan	-38,41*	6,210	,000	-51,15	-25,67
		kontrol	-54,91*	6,388	,000	-68,02	-41,80
	kontrol	dengan anti oksidan	16,50*	6,530	,018	3,10	29,90
		tanpa anti oksidan	54,91*	6,388	,000	41,80	68,02

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

## 5. Uji Paired t test

Kelompok varikokel kiri buatan dengan pemberian Antioksidan

## Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BB01	1,4500	10	,15811	,05000
	BB02	1,7500	10	,25820	,08165
Pair 2	VOLKIRI	763,80	10	424,439	134,219
	VOLKANAN	811,50	10	438,979	138,817
Pair 3	MDAKIRI	,467310	10	,1074769	,0339872
	MDAKANA	,482620	10	,1142849	,0361401
Pair 4	VSIKIRI	24,50	10	9,560	3,023
	VSIKANA	8,00	10	4,216	1,333

## Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	BB01 - BB02	-.3000	,16499	,05217	-.4180	-.1820	-5,750	9	,000
Pair 2	VOLKIRI - VOLKANAN	-47,70	53,748	16,997	-86,15	-9,25	-2,806	9	,020
Pair 3	MDAKIRI - MDAKANA	-.015310	,1655360	,0523471	-,133727	,103107	-,292	9	,777
Pair 4	VSIKIRI - VSIKANA	16,50	7,091	2,242	11,43	21,57	7,359	9	,000

Kelompok varikokel kiri buatan tanpa pemberian Antioksidan

## Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BB01 - BB02	1,4636	11	,16895	,05094
Pair 2	VOLKIRI - VOLKANAN	646,27	11	174,121	52,499
Pair 3	MDAKIRI - MDAKANA	1,066091	11	,4974816	,1499963
Pair 4	VSIKIRI - VSIKANA	26,36	11	7,775	2,344

## Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	BB01 - BB02	-.2773	,14894	,04491	-.3773	-.1772	-6,175	10	,000
Pair 2	VOLKIRI - VOLKANAN	-33,55	44,729	13,486	-63,59	-3,50	-2,487	10	,032
Pair 3	MDAKIRI - MDAKANA	,198745	,6627707	,1998329	-,246510	,644001	,995	10	,343
Pair 4	VSIKIRI - VSIKANA	17,27	5,179	1,561	13,79	20,75	11,062	10	,000

## Kelompok kontrol

## Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BB01	1,3833	9	,17321	,05774
	BB02	1,5444	9	,19275	,06425
Pair 2	VOLKIRI	580,56	9	174,515	58,172
	VOLKANAN	590,67	9	170,654	56,885
Pair 3	MDAKIRI	,189778	9	,1562762	,0520921
	MDAKANA	,198489	9	,1042590	,0347530
Pair 4	VSIKIRI	11,11 <sup>a</sup>	9	4,167	1,389
	VSIKANA	11,11 <sup>a</sup>	9	4,167	1,389

a. The correlation and t cannot be computed because the standard error of the difference is 0.

## Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	BB01 - BB02	-,1611	,05465	,01822	-,2031	-,1191	-8,845	8	,000
Pair 2	VOLKIRI - VOLKANAN	-10,11	20,618	6,873	-25,96	5,74	-1,471	8	,179
Pair 3	MDAKIRI - MDAKANA	-,008711	,0700588	,0233529	-,062563	,045141	-,373	8	,719

## 6. Uji Korelasi

### Correlations

		JML SPTZ	VOL SPTZ	MOT SPTZ	MDA KIRI	MDA KANAN
JMLSPTZ	Pearson Correlation	1	,421*	,756**	-,597**	-,498**
	Sig. (2-tailed)		,021	,000	,000	,005
	N	30	30	30	30	30
VOLSPTZ	Pearson Correlation	,421*	1	,447*	-,262	-,132
	Sig. (2-tailed)	,021		,013	,162	,485
	N	30	30	30	30	30
MOTSPZ	Pearson Correlation	,756**	,447*	1	-,676**	-,529**
	Sig. (2-tailed)	,000	,013		,000	,003
	N	30	30	30	30	30
MDAKIRI	Pearson Correlation	-,597**	-,262	-,676**	1	,590**
	Sig. (2-tailed)	,000	,162	,000		,001
	N	30	30	30	30	30
MDAKANA	Pearson Correlation	-,498**	-,132	-,529**	,590**	1
	Sig. (2-tailed)	,005	,485	,003	,001	
	N	30	30	30	30	30

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

\*\*. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Uji nilai *cut off* kadar MDA testis kiri dan kanan

Criterion	Sens.	Spec.	+LR	-LR
< 0.0224	0.0	100.0		1.00
<= 0.2617	66.7	100.0		0.33
<= 0.2903	66.7	95.2	14.01	0.35
<= 0.3573	77.8	95.2	16.34	0.23
<= 0.3859	77.8	90.5	8.17	0.25
<= 0.3923 *	88.9	85.7	6.22	0.13
<= 0.4347	88.9	66.7	2.67	0.17
<= 0.4726	100.0	66.7	3.00	0.00
<= 2.1912	100.0	0.0	1.00	

Sens. = Sensitivity  
 Spec. = Specificity  
 +LR = Positive likelihood ratio  
 -LR = Negative likelihood ratio

---

MedCalc 05.05.97 00:34

---

File C:\My Documents\MDA-WIRYA.MCI

---

ROC CURVE

---

VARIABLE = MDA\_KA

POSITIVE GROUP = KODE=1  
Sample size = 9

NEGATIVE GROUP = KODE=2  
Sample size = 21

Disease prevalence unknown.

Area under the ROC curve = 0.929  
Standard error = 0.047  
95% Confidence interval = 0.772 to 0.988

Criterion	Sens.	Spec.	+LR	-LR
< 0.071	0.0	100.0		1.00
<=0.2395	55.6	100.0		0.44
<=0.2757	55.6	95.2	11.67	0.47
<=0.3026	66.7	95.2	14.01	0.35
<=0.3121	66.7	85.7	4.67	0.39
<=0.3323 *	88.9	85.7	6.22	0.13
<=0.4661	88.9	71.4	3.11	0.16
<=0.4947	100.0	66.7	3.00	0.00
<=1.8601	100.0	0.0	1.00	

Sens. = Sensitivity  
Spec. = Specificity  
+LR = Positive likelihood ratio  
-LR = Negative likelihood ratio

---

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SUFAB

## LAMPIRAN Lembar Pengumpul Data Kelompok Perlakuan 1.

No kle	BB awal / akhir (kg)	Ukur testis ki-ka (mm)	DL awal	Dmtr VSI ki (mm)	Dmtr VSI ka (mm)	DL akhir	Kadar MDA Akhir Kiri	Kadar MDA Akhir Kanan	Jumlah sel Sperma (jt/cc)	Motilit Sel sperma (%)	Tgl Operasi Tgl Mati	Ket
1	1,30	16x7x3	H10,4 L11,4 T653	40 lbs	15 lbs	H12,4 L11,3 T944	0,4153	0,3045	396	+ 90	12 Okt	P2-4 AO (+) Euthanasia
	1,50	17x7x3										
2	1,25	17x7x4	H10,8 L11,1 T518	25 lbs	5lbs	H10,2 L10,8 T444	0,5834	0,5361	448	+ 60	13 Okt	P2-10 AO(+) Euthanasia
	1,75	17x7x4										
3	1,40	20x9x4	H9,8 L13,1 T518	15 lbs	5 lbs	H9,8 L12,3 T509	0,4317	0,4661	269	+ 50	13 Okt	P2-12 AO(+) Euthanasia
	1,60	22x9x4										
4	1,75	17x9x5	H11,6 L11,2 T314	35 lbs	5 lbs	H10,8 L12,1 T316	0,6292	0,2757	362	+ 80	13 Okt	P2-14 AO(+) Euthanasia
	2,10	19x9x5										
5	1,60	21x11x7	H9,4 L14,3 T256	35 lbs	15 lbs	H12,4 L11,1 T215	0,4347	0,5105	412	+ 80	22 Okt	P2-16 AO(+) Euthanasia
	2,00	21x11x7										
6	1,50	24x10x6	H14,2 L12,9 T342	15 lbs	5 lbs	H14,4 L12,2 T325	0,5455	0,6635	305	+ 60	22 Okt	P2-17 AO(+) Euthanasia
	2,10	24x11x6										
7	1,40	20x8x4	H9,8 L11,3 T288	15 lbs	5 lbs	H12,7 L11,5 T243	0,3923	0,4947	365	+ 60	22 Okt	P2-19 AO(+) Euthanasia
	1,60	20x8x4										



8	1,60	17x9x4	H9,9 L12,1 T382	15 lbs	0 lbs	H10,6 L12,4 T218	0,2903	0,5120	299	+ 50	2 Nov	P2-26 AO (+)
	1,90	17x9x4							$\Sigma$ 0,55	- 50	30 Des	Euthanasia
9	1,35	19x6x4	H10,4 L12,2 T318	25 lbs	10 lbs	H10,1 L12,9 T308	0,3859	0,5486	280	+ 40	21 Nov	P2 AO (+)
	1,40	19x6x5							$\Sigma$ 0,65	- 60	16 Jan	Euthanasia
10	1,35	16x9x4	H12,3 L12,1 T240	25 lbs	10 lbs	H11,9 L12,7 T312	0,5639	0,5145	241	+ 65	21 Nov	P2-33 AO (+)
	1,55	17x9x4							$\Sigma$ 0,65	- 35	16 Jan	Euthanasia

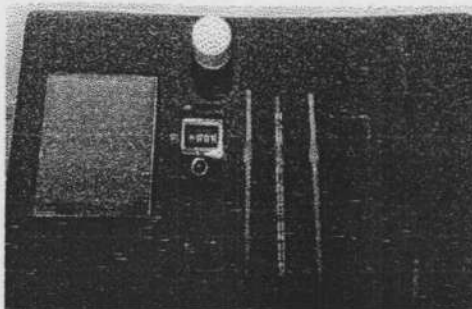
1	1,30	16x7x4	H12,0 L12,7 T217	15 lbs	0 lbs	H12,2 L12,3 T344	2,1912	0,5784	64	+ 5	13 Okt	P1-1 Tanpa AO
	1,30	16x7x4							$\Sigma$ 0,60	- 96	23 Des	Euthanasia
2	1,50	16x8x4	H11,7 L11,9 T286	25 lbs	5 lbs	H11,9 L13,8 T403	1,4081	1,6313	15	+ 10	13 Okt	P1-3 Tanpa AO
	2,00	16x9x4							$\Sigma$ 0,60	- 90	24 Des	Euthanasia
3	1,30	17x8x4	H12,9 L13,1 T324	15 lbs	0 lbs	H10,6 L12,1 T218	0,5103	1,0755	30	+ 40	13 Okt	P1-5 Tanpa AO
	1,55	17x8x4							$\Sigma$ 0,60	- 60	23 Des	Euthanasia
4	1,25	17x8x3	H9,7 L12,1 T342	25 lbs	0 lbs	H11,3 L11,1 T240	1,4794	1,8601	252	+ 50	15 Okt	P1-7 Tanpa AO
	1,55	18x8x3							$\Sigma$ 0,80	- 50	23 Des	Euthanasia
5	1,50	15x9x6	H14,2 L12,4 T218	25 lbs	10 lbs	H12,3 L12,1 T240	0,4303	0,9463	185	+ 20	15 Okt	P1-9 Tanpa AO
	1,60	15x9x6							$\Sigma$ 0,70	- 80	30 Des	Euthanasia
6	1,60	19x9x4	H9,9 L11,7 T227	35 lbs	10 lbs	H9,7 L11,1 T342	0,7502	0,3353	39	+ 1	15 Okt	P1-10 Tanpa AO
	1,90	20x9x4							$\Sigma$ 0,60	- 99	24 Des	Euthanasia

7	1,50	20x9x4	H10,3 L12,1 T328	25 lbs	10 lbs	H9,5 L11,0 P207	0,8334	0,9102	98	+ 15	20 Okt	P1-14 Tanpa AO Euthanasia
	2,10	21x9x4							$\Sigma$ 0,70	- 85	24 Des	
8	1,50	17x11x5	H12,0 L11,8 T312	35 lbs	10 lbs	H12,1 L12,0 T243	1,0329	0,9535	79	+ 25	21 Nov	P1 -17 Tanpa AO Euthanasia
	1,65	18x10x6							$\Sigma$ 0,55	- 75	16 Jan	
9	1,25	14x7x5	H10,6 L12,1 T218	25 lbs	10 lbs	H10,3 L12,0 T302	1,2112	0,3434	28	+ 30	21Nov	P1 -19 Tanpa AO Euthanasia
	1,45	14x7x5							$\Sigma$ 0,60	- 70	16 Jan	
10	1,75	17x11x4	H9,9 L12,1 T382	40 lbs	20 lbs	H12,0 L11,8 T312	0,9498	0,5947	93	+ 40	21Nov	P1 -20 Tanpa AO Euthanasia
	2,00	17x12x4							$\Sigma$ 0,70	- 60	16 Jan	
11	1,65	15x9x6	H10,4 L12,2 T318	25 lbs	10 lbs	H10,5 L13,0 P217	0,9302	0,3121	78	+ 40	21Nov	P1 -22 Tanpa AO Euthanasia
	1,85	15x9x6							$\Sigma$ 0,65	- 60	16 Jan	
1	1,50	15x9x6	H12,0 L12,7 T217	15 lbs	15 lbs	H11,9 L13,7 T207	0,3573	0,3026	336	+ 85	20 Nov	Kontrol 1 Euthanasia
	1,60	16x9x6							$\Sigma$ 0,70	- 15	16 Jan	
2	1,30	11x7x5	H11,7 L11,9 T286	10 lbs	10 lbs	H11,2 L11,6 T289	0,0956	0,1437	371	+ 80	20 Nov	Kontrol 1 Euthanasia
	1,50	11x8x5							$\Sigma$ 0,65	- 20	16 Jan	
3	1,25	11x7x4	H12,9 L13,1 T324	10 lbs	10 lbs	H12,0 L13,6 T214	0,0419	0,0710	321	+ 75	20 Nov	Kontrol 3 Euthanasia
	1,45	11x7x4							$\Sigma$ 0,80	-25	16 Jan	

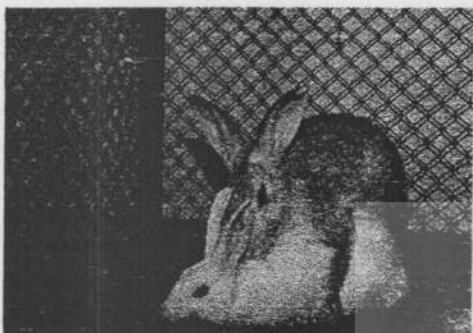
4	1,50	17x8x5	H9,7 L12,1 T342	25 lbs	25 lbs	H10,7 L11,1 T242	0,0224	0,0909	546	+ 75	20 Nov	Kontrol 4
	1,65	17x8x5							$\Sigma$ 0,75	- 25	16 Jan	Euthanasia
5	1,25	19x9x4	H14,2 L12,4 T218	15 lbs	15 lbs	H12,2 L12,0 T358	0,0698	0,0875	872	+ 70	20 Nov	Kontrol 5
	1,40	18x10x4							$\Sigma$ 0,65	- 30	16 Jan	Euthanasia
6	1,25	11x7x4	H9,9 L11,7 T227	15 lbs	15 lbs	H10,2 L12,7 T317	0,2617	0,3140	568	+ 80	21 Nov	Kontrol 6
	1,35	11x7x4							$\Sigma$ 0,8	- 20	16 Jan	Euthanasia
7	1,25	14x7x5	H10,3 L12,1 T328	20 lbs	15 lbs	H10,9 L12,7 T218	0,3923	0,4947	392	+ 90	21 Nov	Kontrol 7
	1,35	14x7x5							$\Sigma$ 0,70	- 10	16 Jan	Euthanasia
8	1,75	16x11x4	H9,9 L12,1 T382	10 lbs	10 lbs	H12,0 L11,8 T312	0,4726	0,3323	648	+ 95	21 Nov	Kontrol 8
	1,95	16x11x4							$\Sigma$ 0,75	- 5	16 Jan	Euthanasia
9	1,40	18x9x4	H10,6 L12,1 T218	10 lbs	10 lbs	H10,9 L13,1 T308	0,2505	0,2395	314	+ 70	21 Nov	Kontrol 9
	1,65	18x8x4							$\Sigma$ 0,70	- 30	16 Jan	Euthanasia



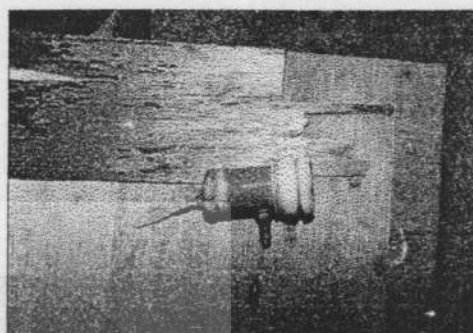
Analisa sperma dalam tabung 2 cc



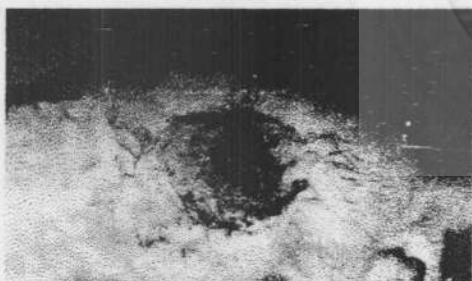
Alat untuk analisa sperma



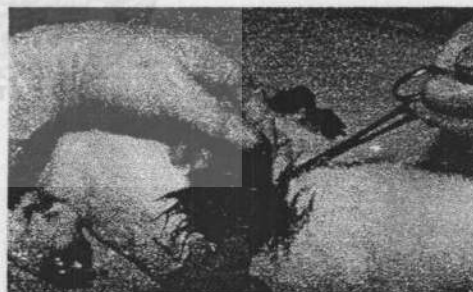
Perkawinan sepasang kelinci



Alat vagina buatan



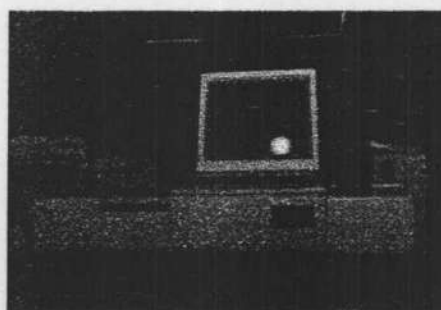
Ekspos ginjal kiri dengan lumbotomi



Ligasi parsial vena renalis kiri



Varikokel artificial yang terjadi dan sepasang testis setelah euthanasia



Alat spektrofotometer