

DISERTASI

**PERAN ASTAXANTHIN PADA
PENINGKATAN FUNGSI SPERMATOZOA MANUSIA**



**DIAN NURMAWATI
051417097305**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : Dian Nurmawati

N.I.M : 051417097305

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa naskah disertasi yang saya tulis dengan judul:

**Peran Astaxanthin
Pada Peningkatan Fungsi Spermatozoa Manusia**

adalah benar-benar merupakan konsep pemikiran dan hasil karya ilmiah saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi naskah disertasi ini merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 23 Desember 2019

Yang membuat pernyataan,



Dian Nurmawati

**SURAT PERNYATAAN
PERSETUJUAN DIUNGGAH SECARA ELEKTRONIK**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : Dian Nurmawati

N.I.M : 051417097305

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui naskah disertasi yang saya tulis dengan judul:

**Peran Astaxanthin
Pada Peningkatan Fungsi Spermatozoa Manusia**

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet portal Garuda atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 23 Desember 2019

Yang membuat pernyataan,



Dian Nurmawati

**PERAN ASTAXANTHIN PADA
PENINGKATAN FUNGSI SPERMATOZOA MANUSIA**

DISERTASI

**Untuk memperoleh gelar Doktor
dalam Program Studi Doktor Ilmu Farmasi
pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

Oleh:

**DIAN NURMAWATI
NIM. 051417097305**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

LEMBAR PENGESAHAN

**DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
Tanggal 23 Desember 2019**

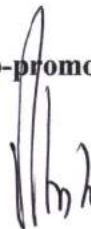
Oleh:

Promotor



**Prof. Dr. Sudjarwo, M.S., Apt
NIP. 1958 0923 198601 001**

Ko-promotor



**Aucky Hinting, dr., Ph.D, Sp.And
NIP.1953 0807 198003 1 004**

Mengetahui,

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Farmasi



**Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt
NIP. 1952 1002 198002 1 001**

**Ujian Disertasi Terbuka
Tanggal 23 Desember 2019**

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua** : **Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt**
- Anggota** : **1. Prof. Dr. Sudjarwo, M.S., Apt**
2. Aucky Hinting, dr., Ph.D, Sp.And
3. Prof. Dr. Suharjono, M.S., Apt
4. Prof. Dr. Wahono Sumaryono, Apt
5. Prof. Dr. Thohir Luth, MA
6. Prof. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D, Apt
7. Dr. Isnaeni, M.S., Apt
8. Siti Rohami, S.Pd.,M. Pd., Ph.D
9. Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Nomor: 172/UN3.1.5/2019
Tanggal: 5 Desember 2019**

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Illahi Robbi karena atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulisan disertasi berjudul “Peran Astaxanthin pada Peningkatan Fungsi Spermatozoa Manusia” dapat diselesaikan dengan baik.

Ijinkan saya menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Prof. Dr. Sudjarwo, MS., Apt selaku Promotor yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah mencurahkan banyak pikiran, waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, arahan, koreksi, saran dan nasehat-nasehat sejak persiapan penelitian, pelaksanaan penelitian, selama penulisan dan penyelesaian disertasi ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan setinggi-tingginya kepada Aucky Hinting, dr., Ph.D., Sp.And selaku Ko-promotor, yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, dukungan, nasehat dan saran selama penelitian, penulisan dan penyelesaian disertasi.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan kepada: Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan saya diterima dan mengikuti pendidikan program doktor di Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Umi Athiyah, M.S., Apt sebagai Dekan Fakultas Farmasi yang telah menginspirasi saya untuk melanjutkan ke jenjang pendidikan program doktor serta memberikan fasilitas yang dapat saya gunakan untuk menyelesaikan Program Doktor.

Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Farmasi dan penasehat akademik, yang telah banyak memberikan banyak sekali kemudahan untuk administrasi mencurahkan perhatian dan motivasi selama mengikuti Program Doktor.

Drs. Imam Fathorrahman, MM., Apt selaku Direktur Utama PT. Kimia Farma Apotek yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Doktor.

Tim penguji yang terdiri dari Prof. Dr. Suharjono, MS., Apt; Prof. Din Safrudin, dr., Ph.D; Prof. Dr. Sutiman Bambang S., S.U., D.Sc; Prof. Dr. Doddy M Soebadi., dr., Sp.B., Sp.U(K) ; Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, M.Si., Apt; Prof. Dr. Bambang Prayogo EW, M.S., Apt dan Dr. Reny I'tishom, M.Si

Para dosen yang telah membagikan ilmunya yang berharga kepada penulis selama menempuh pendidikan S3 di Universitas Airlangga: Prof. Dr. Sudjarwo, MS., Apt; Prof. Dr. Muhammad Zainuddin; Junaidi Khotib, M.Kes, Ph.D; Prof. Dr. Purwanto, Dr. Isneni, M.S.; Prof. Dr. Noor Erma Nasution, M.S.; Prof. Dr. rer.nat Muhammad Yuwono, M.S. dan Prof. Dr. Sukardiman, M.S.

Drs. Syamsul Hadi, Apt yang dengan ikhlas telah memberikan sediaan Astaxanthin untuk penelitian secara cuma-cuma. Para relawan yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang dengan keikhlasannya telah bersedia menjadi subyek penelitian sehingga penelitian ini bisa mendapatkan sampelnya.

Mbak Fefe staf administrasi Program Studi S3 Ilmu Farmasi yang banyak memberikan perhatian dan bantuan kepada penulis selama menempuh pendidikan. Pak Chusaeri, Mbak Wati, Pak Susilo staf Laboratorium Analisis Fakultas Farmasi;

Mbak Nanis, staf Poli Andrologi RSUD. Dr. Soetomo; Pak Yudi dan Bu Dinar staf Laboratorium Lepra serta Pak Ilham Staf Laboratorium Dengue *Tropical Disease Centre* Universitas Airlangga.

Bapak Puspito Setiyadi (alm) dan Ibu Sri Sudarni, kedua orangtua tercinta yang membuat saya ada di dunia, mendidik dan mengukir jiwa raga saya. Tepatnya tahun 1985 atau 34 tahun silam ketika saya masuk SMAN 3 Malang dan harus menuliskan cita-cita, almarhum Bapak-lah yang menuliskan di kolom cita-cita bahwa saya lulus S3. *Subhannallahu, Alhamdulillah, Allahu Akbar* berkat segores coretan doa seorang ayah dan didikan yang luar biasa dari ibunda tercinta, tak terasa mimpi itu menjadi nyata adanya.

Dr. Gagak Ismanoe, Sp.B, suami tercinta dan anak-anakku yang sangat saya cintai: Muhammad Respati Arya Gisandi (Dio), almarhumah Raisya Adelia Gisandi (Adiz) dan Maura Ratih Annisa Gisandi (Diaz) yang memberikan pengorbanan luarbiasa untuk waktu yang terpaksa harus terbagi saat studi. Terima kasih atas semua doa, dukungan moril-materiil dan motivasi yang tiada henti sampai selesainya disertasi.

Kakak-kakakku tercinta yang selalu mendukung dengan doa dan motivasi: Dra. Yennie Listyowati, M.Pd., Ir. Herlin Retnowati, M.Si., Dr. Rini Krisnawati, MARS., serta kakak-kakak iparku: Drs. Basori., M.Pd, Ir. Jamhari Hadi Purwanto, MM dan Prof. Dr. Tohir Luth, MA. Terimakasih juga kepada mertua yang sangat saya hormati, Bapak Soebakti dan Ibu Soeti Harjani.

Semua teman seangkatan pada Program Studi S3 Ilmu Farmasi yang saling mendukung dan menguatkan selama bersama-sama menempuh pendidikan S3 ini: Maximus M. Taek, Joyce Ratnaningsih, Niken Indriyanti, Muhammad Amrun Hidayat, Joharman dan Muhajirin Dean

Keluarga besar KFA: UB Sidoarjo, Unit PMS dan UB Gresik yang telah banyak memberikan dukungan moril dan materiil selama penulis menempuh pendidikan S3 di Surabaya ini.

Saya menyadari bahwa disertasi ini masih belum sempurna, karena itu dengan senang hati saya membuka diri untuk menerima berbagai kritik dan saran yang bermanfaat untuk memperbaiki tulisan disertasi ini, sehingga bisa menjadi suatu karya ilmiah yang lengkap, baik dan bermanfaat.

Semoga hasil penelitian disertasi ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan khususnya ilmu farmasi serta menjadi dasar pengembangan obat baru untuk lupus yang dibutuhkan masyarakat Akhir kata semoga disertasi ini berguna bagi dunia kedokteran dan farmasi khususnya serta semua lapisan masyarakat pada umumnya

Surabaya, 23 Desember 2019

Dian Nurmawat

RINGKASAN

PERAN ASTAXANTHIN PADA PENINGKATAN FUNGSI SPERMATOZOA MANUSIA

Dian Nurmawati

Infertilitas menimbulkan permasalahan tidak hanya kepada pasangan suami-istri tetapi secara luas akan berdampak emosional, fisik, keuangan dan sosial budaya. Prevalensi global infertilitas pria semakin hari semakin meningkat mencapai 15%. Penyebab infertilitas bisa dari pihak suami (40%), istri (40%), suami dan istri (10%), serta tidak diketahui penyebabnya atau idiopatik sebesar 10%. Menurut *European Association of Urology* infertilitas idiopatik laki-laki mencapai 31,7%.

Parameter penting infertilitas pria adalah motilitas yang memerlukan energi tinggi yang dihasilkan dari metabolisme Oksidasi Fosforilasi (Oxphos) di mitokondria. Hasil samping Oxphos adalah Reaktif Oksigen Spesies (ROS) yang bersifat oksidator dan dapat mengoksidasi lipid, protein dan DNA. Oksidasi lipid menghasilkan MDA yang dapat ditentukan dengan spektrofotometri sedangkan oksidasi DNA menghasilkan 8-OH-dG yang dapat ditentukan dengan Elisa Kit. Oxphos melibatkan enzim kompleks I, II, III, IV dan V. Aktivitas enzim kompleks III dan IV ditentukan dengan Elisa kit. Mutasi DNA di rantai respirasi yang mempengaruhi infertilitas adalah SNPs A3243G yang dapat dideteksi dengan PCR-RFLP.

Penelitian ini adalah suatu penelitian *experimental study* yang dilakukan di Poli Andrologi RSUD. Dr. Soetomo, Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi dan Tropical Disease Centre Universitas Airlangga. Subyek penelitian sebanyak 25 orang terdiri dari 6 orang kelompok placebo yang diberikan CMC Na dan 19 orang kelompok sampel yang diberikan kapsul Astaxanthin (3,3'-dihydroxy-4,4'-diketo- β,β' -karoten) dari ganggang hijau (*Haematococcus pluvialis*) dengan dosis tunggal 8 mg selama 30 hari. Analisis data menggunakan SPSS dengan uji *Correlation Test (Spearman Rank Correlation)* dan *Comparability test (Mann Whitney U Test & Wilcoxon Sign Rank Test)* dengan significance level 0.05. Analisis *Receiver Operating Characteristic (ROC)* digunakan untuk menentukan nilai *Cut off Point* dari faktor-faktor yang mempunyai korelasi dan uji beda yang bermakna terhadap motilitas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, sebelum diberi perlakuan, kelompok placebo dan kelompok sampel tidak ada perbedaan bermakna ($p>0,05$). Sesudah perlakuan, terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$) pada kedua kelompok. Sebelum dan sesudah pemberian Astaxanthin terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$) pada kadar MDA, 8-OH-dG, aktivitas enzim kompleks III dan IV, kualitas semen: morfologi, konsentrasi dan motilitas. Sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok placebo tidak ada perbedaan ($p>0,05$). Pada subyek penelitian tidak ditemukan SNPs A3243G.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Astaxanthin mempunyai peran pada peningkatan fungsi spermatozoa manusia. Astaxanthin meningkatkan

motilitas spermatozoa melalui penurunan kadar MDA, penurunan kadar 8-OH-dG, peningkatan aktivitas enzim kompleks III, peningkatan aktivitas enzim kompleks IV dan tidak adanya mutasi SNPs A3243 G.

Hasil penelitian ini dapat dijadikan rujukan bahwa pemberian Astaxanthin 8 mg per oral selama 30 hari dapat meningkatkan fungsi spermatozoa yang akan meningkatkan fertilitas pada pria. Disarankan juga untuk penelitian serupa dengan dosis sama dan atau lebih tinggi dengan waktu lebih lama; penelitian lebih lanjut pemberian Astaxanthin terhadap keberhasilan pembuahan juga kombinasi Astaxanthin dengan antioksidan lain.

SUMMARY

THE ROLE OF ASTAXANTHIN IN IMPROVEMENT OF THE HUMAN SPERMATOZOA FUNCTION

Dian Nurmawati

Infertility raises problems not only for married couples but will broadly have an emotional, physical, financial and socio-cultural impact. The prevalence of male infertility throughout the world has increased over time and has reached around 15%. The cause of infertility can be from the husband (40%), wife (40%), husband and wife (10%), and the cause is unknown or idiopathic by 10%. According to the European Association of Urology male idiopathic infertility reaches 31.7%.

An important parameter of male infertility is motility that requires high energy resulting from metabolism of Oxidation of Phosphorylation (Oxphos) in the mitochondria. Another result of Oxphos is Reactive Oxygen Species (ROS) which are oxidizing and can oxidize lipids, proteins and DNA. Lipid oxidation produces MDA which can be determined by spectrophotometry while DNA oxidation produces 8-OH-dG which can be determined by the Elisa Kit. Oxphos reaction involves complex enzymes I, II, III, IV and V. The activity of complex enzymes III and IV is determined by the Elisa kit. DNA mutations in the respiratory chain that affect infertility are SNPs A3243G which can be detected by PCR-RFLP.

This research is an experimental study conducted at Andrology Hospital RSUD. Dr. Soetomo, Laboratory of Analysis Chemistry, Faculty of Pharmacy and Tropical Disease Center, Airlangga University. The study subjects total 25 people consisted of 6 people in the placebo group who were given CMC Na and 19 people in the sample group who were given Astaxanthin capsules (3,3'-dihydroxy-4,4'-teto- β , β '-carotene) from green algae (*Haematococcus pluvialis*) with a single dose of 8 mg for 30 days. Data analysis using SPSS with the Correlation Test (Spearman Rank Correlation) and Comparability test (Mann Whitney U Test & Wilcoxon Sign Rank Test) with a significance level of 0.05. Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis is used to determine the Cut Off Point value of the factors that have a correlation and a significant difference test on motility.

The results showed that, before being treated, the placebo group and Astaxanthin had no significant difference ($p > 0.05$). After placebo and Astaxanthin administration there were significant differences ($p < 0.05$). At MDA levels, 8-OH-dG, the activity of complex enzymes III and IV there was a significant difference ($p < 0.05$) before and after Astaxanthin administration. There were significant differences ($p > 0.05$) in semen quality: morphology, concentration and concentration. There were no SNPs A3243G found in the research sub-category.

The results showed that, before being treated, the placebo group and the sample group had no significant difference ($p > 0.05$). After treatment, there were significant differences ($p < 0.05$) in the two groups. Before and after administration of Astaxanthin there were significant differences ($p < 0.05$) in MDA levels, 8-OH-dG, complex enzyme III and IV activities, semen quality: morphology, concentration and motility. Before and after treatment in the placebo group there

was no difference ($p > 0.05$). There were no SNPs A3243G found in the research subjects.

The conclusion of the study that Astaxanthin in a single dose of 8 mg per day consumed for 30 days can improve MDA level, 8-OH-dG level, the enhancement of complex enzyme III and IV, and the absence of SNPs A3243 G. Astaxanthine has roles in improvement of the human spermatozoa function

The results of this study can be used as a reference that the administration of Astaxanthin can improve spermatozoa function which will increase fertility in men. It is also recommended for similar studies with the same and or higher dosages for longer periods; further research giving Astaxanthin to the success of fertilization is also a combination of Astaxanthin with other antioxidants.