

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman sampul depan .....	i
Halaman sampul dalam .....	ii
Surat pernyataan bebas plagiat .....	iii
Surat pernyataan persetujuan diunggah secara elektronik .....	iv
Prasyarat gelar .....	v
Lembar pengesahan .....	vi
Penetapan panitia penguji .....	vii
Ucapan terima kasih .....	viii
Ringkasan .....	x
<i>Summary</i> .....	xii
Abstrak .....	xiv
<i>Abstract</i> .....	xv
DAFTAR ISI .....	xvi
DAFTAR TABEL .....	xx
DAFTAR GAMBAR .....	xxi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....	xxiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	6
1.3 Tujuan penelitian .....	7
1.4 Manfaat penelitian .....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1 Astaxanthin.....	9
2.1.1 Definisi Astaxanthin.....	9
2.1.2 Struktur Molekul Astaxanthin.....	10
2.1.3 Aktivitas Astaxanthin sebagai Antioksidan .....	11
2.1.4 Dosis Astaxanthin.....	14
2.2 Oksidan dan Radikal Bebas.....	15
2.2.1 Definisi Oksidan dan Radikal Bebas.....	15
2.2.2 Reaksi Pembentukan Radikal Bebas.....	16
2.3. Antioksidan.....	20
2.3.1 Definisi Antioksidan.....	20
2.3.2 Fungsi Antioksidan.....	21
2.4 Sistem Reproduksi Pria .....	22
2.4.1 Anatomi dan Fungsi Reproduksi Pria.....	22
2.4.2 Semen dan Spermatozoa.....	23
2.4.3 Kriteria Spermatozoa .....	25
2.4.4 Plasma Semen .....	26
2.4.5 Spermatozoa .....	27
2.4.5.1 Morfologi Spermatozoa.....	27

2.4.5.2 Spermatogenesis .....	29
2.4.5.3 Motilitas Spermatozoa .....	32
2.4.6 Analisis Semen .....	32
2.4.6.1 Analisis Semen secara Makroskopis .....	33
2.4.6.2 Analisis Semen secara Mikroskopis.....	34
2.5 Laju Endap Darah (LED).....	36
2.5.1 Definisi LED.....	36
2.5.2 Hubungan LED dengan Inflamasi.....	37
2.5.3 Fase LED.....	38
2.6 Infertilitas.....	38
2.6.1 Definisi Infertilitas.....	38
2.6.2 Faktor yang Mempengaruhi Infertilitas.....	39
2.6.3 Infertilitas pada Pria.....	40
2.7 Mitokondria .....	42
2.7.1 Struktur Mitokondria .....	42
2.7.2 Fungsi Fosforilasi Oksidasi Mitokondria.....	43
2.7.3 Genom Mitokondria.....	44
2.8 SNPs mt DNA A3243G.....	46
2.8.1 Definisi SNPs.....	46
2.8.2 Mutasi SNPs mt A3243G.....	46
2.9 ELISA.....	47
2.9.1 Definisi ELISA.....	47
2.9.2 Prinsip Dasar ELISA.....	47
2.9.3 Komponen ELISA.....	48
2.9.4 Teknik ELISA.....	51
2.9.5 Keuntungan dan Kerugian ELISA.....	53
2.10 Polymerase Chain Reaction (PCR).....	54
2.10.1 Design Primer.....	55
2.10.2 Tahapan PCR.....	55
2.10.3 Komponen Utama PCR.....	57
2.10.4 Elektroforesis.....	59
2.11 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).....	60
2.11.1 Enzim Restriksi.....	60
2.11.2 Kelebihan dan Kekurangan RFLP.....	61
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	<b>63</b>
3.1 Kerangka konseptual .....	65
3.2 Hipotesis Penelitian.....	66
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b> .....	<b>67</b>
4.1 Jenis Penelitian .....	67
4.2 Design Penelitian .....	67
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	67
4.4 Uji Komite Etik.....	68
4.5 Variabel Penelitian .....	68
4.5.1 Klasifikasi Variabel.....	68
4.5.2 Definisi Operasional.....	68

4.6 Materi Penelitian .....	69
4.6.1 Subyek Penelitian.....	69
4.6.2 Penentuan Jumlah Subyek Penelitian.....	69
4.6.3 Metode Sampling.....	70
4.7 Bahan.....	71
4.8 Alat.....	71
4.9 Prosedur Kerja Penelitian.....	71
4.9.1 Cara Pengambilan Semen.....	72
4.9.2 Analisis Kualitas Semen.....	72
4.9.2.1 Warna dan Bau Semen.....	72
4.9.2.2 pH Semen.....	72
4.9.2.3 Volume Semen.....	73
4.9.2.4 Viskositas Semen.....	73
4.9.2.5 Konsentrasi Spermatozoa.....	73
4.9.2.6 Motilitas Spermatozoa.....	75
4.9.2.7 Viabilitas Spermatozoa.....	76
4.9.3 Cara Penyimpanan Sampel.....	77
4.9.4 Penentuan Kadar Malondialdehyden (MDA).....	77
4.9.5 Penentuan Kadar 8-Hydroxy deoxyguanosine (8-OH-dG)....	78
4.9.5.1 Kurva Standar 8-OH-dG.....	78
4.9.5.2 Prosedur Uji.....	79
4.9.6 Aktivitas Enzim Kompleks III (Sitokrom C Reductase).....	80
4.9.7 Aktivitas Enzim Kompleks IV (Sitokrom C Oksidase).....	82
4.9.8 Isolasi Mitokondria.....	83
4.9.9 SNPs mt DNA A3243G.....	83
4.10 Penentuan Laju Endap Darah.....	84
4.11 Kerangka Operasional.....	85
4.12 Pengumpulan Sampel Ejakulat.....	86
4.13 Analisis Data.....	86
4.13.1 Analisis Deskriptif.....	87
4.13.2 Uji Korelasi.....	87
4.13.3 Uji Beda.....	87
4.13.4 Analisis ROC.....	88
<b>BAB 5 DATA DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>89</b>
5.1 Subyek Penelitian.....	90
5.2 Analisis Kualitas Semen Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	91
5.2.1 Warna dan Bau Semen .....	91
5.2.2 pH Semen.....	91
5.2.3 Volume Semen.....	91
5.2.4 Viskositas Semen.....	92
5.2.5 Konsentrasi Semen.....	93
5.2.6 Morfologi Spermatozoa.....	94
5.2.7 Motilitas Spermatozoa.....	95
5.3 Penentuan MDA.....	96
5.4 Penentuan 8-OH-dG .....	98
5.5 Aktivitas Enzim Kompleks III (Sitokrom C Reduktase).....	101
5.6 Aktivitas Enzim Kompleks IV (Sitokrom C Oksidase).....	104

5.7 SNPs mt DNA A3243G.....	106
5.8 Laju Endap Darah.....	111
<b>BAB 6. PEMBAHASAN .....</b>	<b>113</b>
6.1 Kualitas Semen.....	114
6.1.1 Warna dan Bau Semen.....	115
6.1.2 pH Semen.....	116
6.1.3 Volume Semen.....	116
6.1.4 Viskositas Semen.....	117
6.1.5 Konsentrasi Semen.....	118
6.1.6 Morfologi Spermatozoa.....	119
6.1.7 Motilitas Spermatozoa.....	120
6.2 MDA.....	122
6.3 8-OH-dG.....	125
6.4 Aktivitas Enzim Kompleks III (Sitokrom C Reduktase).....	127
6.5 Aktivitas Enzim Kompleks IV (Sitokrom C Oksidase).....	129
6.6 SNPs mt DNA A3243G.....	130
6.7 Laju Endap Darah .....	132
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>138</b>
7.1 Kesimpulan .....	138
7.2 Saran .....	138
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>139</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN .....</b>	<b>156</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Semen Manusia.....	24
Tabel 2.2 Nilai Normal untuk Analisa Semen menurut WHO (2010)	33
Tabel 2.3 Klasifikasi Morfologi Spermatozoa.....	35
Tabel 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian.....	90

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Struktur Molekul Astaxanthin..... 10
Gambar 2.2	Keunggulan unik molekul Astaxanthin..... 12
Gambar 2.3	Manfaat Astaxanthin untuk kesehatan..... 14
Gambar 2.4	Contoh reaksi pembentukan radikal bebas..... 16
Gambar 2.5	Faktor penyebab Stres Oksidatif yang mengakibatkan infertilitas pada pria..... 19
Gambar 2.6	Organ Reproduksi Pria..... 22
Gambar 2.7	Morfologi Spermatozoa ..... 28
Gambar 2.8	Kelainan Morfologi Spermatozoa..... 28
Gambar 2.9	Spermatogenesis..... 31
Gambar 2.10	Pola gerak Spermatozoa Motilitas Progresif..... 32
Gambar 2.11	Penyebab Infertilitas pada Pria..... 42
Gambar 2.12	Struktur mitokondria..... 43
Gambar 2.13	Fosforilasi Oksidasi..... 44
Gambar 2.14	Penyakit karena Mutasi Mitokondria DNA..... 45
Gambar 2.15	Mutagenesis A3243G..... 47
Gambar 2.16	ELISA Reader..... 50
Gambar 2.17	Teknik ELISA..... 53
Gambar 2.18	Tahapan PCR..... 57
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual..... 65
Gambar 4.1	Design Penelitian..... 67
Gambar 4.2	Kotak pada Hemositometer..... 75
Gambar 4.3	Pengenceran kurva standart 8-OH-dG..... 79
Gambar 4.4	Prosedur Penetapan Kadar 8-OH-dG..... 80
Gambar 4.5	Kerangka Operasional..... 85
Gambar 4.6	Pengumpulan sampel..... 86
Gambar 5.1	Volume semen sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel..... 92
Gambar 5.2	Viskositas semen sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel..... 93
Gambar 5.3	Konsentrasi spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> & sampel..... 94
Gambar 5.4	Morfologi spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> & sampel..... 95
Gambar 5.5	Motilitas spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> & sampel..... 96
Gambar 5.6	Kurva Standar MDA..... 96
Gambar 5.7	Kadar MDA sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel..... 97
Gambar 5.8	Nilai <i>cut off</i> MDA (nmol/10 <sup>6</sup> sp/ml) terhadap motilitas spermatozoa..... 98
Gambar 5.9	Kurva Standar 8-OH-dG..... 99
Gambar 5.10	Kadar 8-OH-dG sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel..... 100

Gambar 5.11	Nilai <i>cut off</i> 8-OH-dG (ng/mL) terhadap motilitas spermatozoa.....	101
Gambar 5.12	Kurva Standar Enzim Kompleks III.....	102
Gambar 5.13	Kadar Enzim Kompleks III sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel.....	102
Gambar 5.14	Nilai <i>cut off</i> Kompleks III sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel.....	104
Gambar 5.15	Kurva Standar Enzim Kompleks IV.....	104
Gambar 5.16	Kadar Enzim IV sebelum dan sesudah perlakuan pada <i>placebo</i> dan sampel.....	105
Gambar 5.17	Nilai <i>cut off</i> Enzim Kompleks IV terhadap motilitas spermatozoa.....	106
Gambar 5.18	Hasil elektroforesis PCR Product kelompok Placebo dan Sampel sebelum perlakuan (D1).....	107
Gambar 5.19	Hasil elektroforesis PCR Product kelompok Placebo dan Sampel sebelum perlakuan (D2).....	107
Gambar 5.20	Hasil elektroforesis PCR Product kelompok Placebo dan Sampel sesudah perlakuan (B1).....	108
Gambar 5.21	Hasil elektroforesis PCR Product kelompok Placebo dan Sampel sesudah perlakuan (B2).....	108
Gambar 5.22	Hasil Elektroforesis RFLP kelompok Placebo dan Sampel sebelum perlakuan (D1).....	109
Gambar 5.23	Hasil Elektroforesis RFLP kelompok Placebo dan Sampel sebelum perlakuan (D2).....	109
Gambar 5.24	Hasil elektroforesis RFLP kelompok Placebo dan Sampel sesudah perlakuan (B1).....	110
Gambar 5.25	Hasil elektroforesis RFLP kelompok Placebo dan Sampel sesudah perlakuan (B2).....	110
Gambar 5.26	LED spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan pada placebo & sampel.....	111
Gambar 5.27	Nilai <i>cut off</i> LED spermatozoa terhadap motilitas spermatozoa.....	112

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 Keterangan Kelaikan Etik.....	155
Lampiran 2 Penjelasan Kesediaan Menjadi Subyek Penelitian.....	156
Lampiran 3 Surat Pernyataan Kesediaan Menjadi Subyek Penelitian.....	159
Lampiran 4 Uji Korelasi.....	160
Lampiran 5 Uji Beda.....	161
Lampiran 6 <i>ROC Analysis</i> .....	164



**DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN DAN LAMBANG**

A	: Adenine
ADP	: Adenosine diphosphate
ATP	: Adenosine triphosphate
C	: Cytosine
CAS <sub>no</sub>	: Chemical Abstract Serial Number
CoQ <sub>10</sub>	: Ubiquinone
DNA	: Deoxyribonucleic acid
Dntp	: Deoxynucleotide triphosphate
DTT	: Dithiothreitol
EDTA	: Ethylenediamine tetraacetate
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ETC	: Electrone Transport Chain
ESR	: Erythrocyte Sedimentation Rate
FSH	: Follicle-stimulating hormone
g	: gram
G	: Guanine
GC	: Gas Chromatography
GnRH	: Gonadotropin releasing hormon
GRAS	: Generally Recognized A Safe
HP	: Hewlett Packard
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HV	: Hypervariable
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hydrogen peroxide
H-strand	: Heavy-strand
L•	: Radikal lipid
LDH-x	: Lactate dehydrogenase
LED	: Laju Endap Darah
LOO•	: Radikal perosilipid
LO•	: Radikal alkoksil
LOOH	: Lipid hydroperoxida
LH	: Luteinizing Hormon
LHON	: Leber's Hereditary Optic Neuropathy
L-strand	: Light-strand origin of replication
MDA	: Malondialdehyde
MELAS	: Mitochondrial Myopathy Encephalopathy Lactic Acidocis and Stroke-like Episodes
MnSOD	: Manganese Superoxide Dismutase
mtDNA	: Mitochondrial Deoxyribonucleic Acid
nt	: Nucleotide
nDNA	: Nuclear Deoxyribonucleic Acid
NADPH	: Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate
O <sub>2</sub> <sup>-•</sup>	: Radikal superoksid anion
OD	: Optical Density
OLS	: Ordinary Least Square
OQ	: Operation Qualification

OH <sup>-•</sup>	: Radikal hidroksil
8-OH-dG	: 8- Hidroksi deoxyguanosin
OXPPOS	: Oxidative Phosphorylation
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity
PBS	: Phosphate Buffer Solution
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PR	: Progresif Motilitas
Primer L	: Oligonukleotida sintetik arah forward
Primer H	: Oligonukleotida sintetik arah reverse
ROS	: Reactive Oxygen Species
rRNA	: Ribosomal ribonucleic acid
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	: Ribonucleic Acid
ROC	: Receiver Operating Curve
SD	: Standart Deviation
ROS	: Reactive Oxygen Species
T	: Tymine
TBA	: Thiobarbituric acid
TAC	: Total Antioxidant Capacity
tRNA	: Transfer Ribonucleic Acid
UQ-cyt.b	: Ubiquinone-cytochrome b complex



