



ISSN 0125 - 429 X

MAJALAH ANDROLOGI INDONESIA

The Journal of The Indonesian Society of Andrology

MAI	No. 15-36	Vol. 7	Sept. - Des. 2010	ISSN 0125 - 429 X
-----	-----------	--------	-------------------	-------------------

- *Majalah Ilmiah tentang Andrologi di Indonesia*
- *Media Komunikasi Perkumpulan Andrologi Indonesia (PANDI) dan PERSANDI*
- *Terbit 4 kali setahun, Maret, Juni, September dan Desember*



ISSN 0125 - 429 X

MAJALAH ANDROLOGI INDONESIA

The Journal of The Indonesian Society of Andrology

MAI	No. 35 -36	Th. 7	Sept. - Des. 2010	ISSN 0125 - 429 X
-----	------------	-------	-------------------	-------------------

- Majalah ilmiah tentang Andrologi di Indonesia
- Media Komunikasi Perkumpulan Andrologi Indonesia (PANDi) dan PERSANDI
- Terbit 4 kali setahun, Maret, Juni, September dan Desember

MAJALAH ANDROLOGI INDONESIA,
NO. 35-36, September dan Desember 2010

Pelindung : Ketua PP-PANDI
Dr. Indra G Mansur, DHES., SpAnd

Pimpinan Redaksi.
Prof. Dr. K.M. Arsyad, DABK, SpAnd

Redaksi Ahli/ Mitra Bestari :
Prof. Dr. MK Tadjudin, SpAnd
Prof. DR. Dr. FX Arif Adimoelja, MSc., SpAnd
Prof. DR. Dr. Nukman Moeloek, SpAnd
Prof. DR. Dr. J.A. Pangkahila, SpAnd
DR. Oentung Soeradi
Prof. DR. Dr. OS Tendea, SpAnd
Dr. Aucky Hinting, Ph.D., SpAnd
Prof. DR. Dr. Susilo Wibowo, MSc. SpAnd
Prof. DR. Dr. Wahyuning Ramelan, SpAnd

Redaksi Pelaksana :
Dr. N. Fauziah, M.Kes
Sri Nita, SSI, MS

Koresponden :
Dr. Kamajaya, MSc.
PANDI Cabang Medan

Dr. H. Abdullah Wali Nasution, DABK, SpAnd,
PANDI Cabang Padang

Dr. Siti Hildani Thaib, MKes
PANDI Cabang Palembang

Dr. Zulkarnain Siri,
PANDI Cabang Bandung

Dr. Indra G Mansur, DHES, PhD, SpAnd,
PANDI Cabang Jakarta

Prof. DR. Dr. Susilo Wibowo, MSc, SpAnd
PANDI Cabang Semarang

Dr. Dicky Moh. Rizal MKes
PANDI Cabang Yogyakarta

Dr. Hudi Winarso, SpAnd,
PANDI Cabang Surabaya

Prof. Dr. I Gusti Aman, SpAnd
PANDI Cabang Denpasar

Dr. Eddy Karundeng, Sp.And,
PANDI Cabang Manado

Dr. Wardihan Sinrang, MSc.
PANDI Cabang Makassar

SK. PP.PANDI

Nomor : SK-01/PP-PANDI/VI/2005
 10 Juni 2005

DAFTAR ISI

1. Daftar Isi	i
2. Dari Redaksi	ii
3. Artikel	
3.1. Abuse of androgens and its impact on reproductive and sexual functions. <i>Wolf-Bernhard Schill, Tilmann Schill and Hans-Christian Schuppe</i>	1367
3.2. Pengaruh Plumbum terhadap histologi tubulus seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>) <i>Nyayu Fanziah Zen</i>	1383
3.3. Densitas Mineral Tulang pada Pria Hipogonad yang mendapat Terapi Sulih Hormon Testosteron Jangka Panjang <i>Rudy Joelijanto dan Nukman Moeloek</i>	1395
3.4. Potensi Restorasi Vitamin C terhadap Kualitas Spermatozoa akibat Paparan Monosodium Glutamat pada Tikus Jantan Galur Wistar, <i>Taufiqurrachman, Eni Widayati</i>	1402
4. Lain-lain	
4.1. Informasi Scientific Gathering	1415
4.2. Pengukuhan Perhimpinan Dokter Spesialis	1416
4.3. Juklak Sertifikasi	1417
4.4. Petunjuk Bagi Penyumbang Artikel	1432
4.5. Laporan Pendanaan Majalah Andrologi Indonesia	1434
4.6. Redaksi Majalah Andrologi yang Baru	1435
4.7. Cover Majalah Andrologi Indonesia	1436

Sekretariat :

- Poniran

Alamat Redaksi / Administrasi

Bagian Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya
Jln. Dr. Muhammad Ali Komplek RSMH Km. 3,5 Palembang 30126.
Telp. 0711-352342 Fax. 0711-373438.

Alamat Rekening PP PERSANDI dan Majalah Andrologi Indonesia

Bank BCA Kantor Cabang Pembantu Kenten
Jl. AKBP Cek Agus, Palembang 30114
Paspur BCA No : 151.0133.095
a/n. Dr. KHM. Arsyad, DABK, SpAnd

Surat izin Terbit : ISSN :0126-429 X

DARI REDAKSI

Para pembaca yang terhormat,

Pada edisi September-Desember 2010 redaksi mendapat kiriman 1 naskah dari Jerman, 2 naskah dari Jakarta, 1 Naskah dari Semarang dan 1 naskah dari Palembang..

Artikel yang disajikan pada edisi ini adalah mini review tentang abuse androgen, hipogonadismo, efek plumbum dan .

Penggabungan edisi September-Desember ini adalah untuk mengakhiri tahun 2010 dengan cover lama Majalah Androlog Indonesia dengan cover dan Sususunan Redaksi yang baru serta perubahan jadwal terbit menjadi Januari, April, Juli dan Oktober. Untuk itu partisipasi seluruh anggota PERSANDI sangat diharapkan melalui pengiriman artikel, pelunasan iuran keanggotaan dan sumbangan dana untuk MAI agar penerbitan untuk tahun 2011 dapat berjalan dengan baik.

Pada kesempatan ini diingatkan kembali bahwa tahun 2011 surat tanda Registrasi anda untuk berpraktik sebagai spesialis Andrologi akan berakhir, karena itu agar semua persyaratan yang diperlukan untuk dilengkapi kembali dan menghubungi Kolegium Andrologi Indonesia.

Redaksi tetap menanti artikel dan berita aktivitas Koordinator Wilayah dan khususnya aktivitas anggota PERSANDI dan PANDI secara personal atau atas nama Institusi .

Terima kasih, Selamat membaca

VIVA Andrologi,

Redaksi MAI

POTENSI RESTORASI VITAMIN C TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA AKIBAT PAPARAN MONOSODIUM GLUTAMAT, pada Tikus Jantan Galur Wistar

Taufiqurrachman, Eni Widayati
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Abstract:

MSG has been consumed by communities as a flavor enhancer. MSG has proved increasing ROS and in the same time decrease sperm quality. Vitamin C (VC) refer to nonenzymatic radical scavengers preventing cells to oxidative stressed. Unfortunately the role of VC to increase sperm quality in MSG exposure still unclear.

Aim: of the present study is to reveal whether treatment of VC will able to enhance sperm quality which is indicated by elevation of TDT, concentration, motility and vitality of sperms.

Method: In the Post Test Only Control Group Design, 25 male of three month-old Wistar rats with ± 200 gram body weight randomly assigned into 5 groups, each group consist of 5 rats. A week after rats acclimatization in the colonies cage, the treatment was given during 30 days successively. At the final of treatment 2 cm ductus deferens from cauda epidemic to ampulla ductus deferens was taken and collected in fisiology's salt. Further more concentration, motility, and vitality were tested according to WHO standard procedure. On the other hand TDT will be tested by tissue testes preparation.

Result: Manova statistical analysis indicate the significantly difference ($p=0.000$) among 5 groups. Univariate statistical analysis show that TDT, motility, and vitality in A group (aquades) were significantly higher ($p=0.000$) compare to B group (MSG) C, D, and E groups (VC+MSG). In C, D, and E group, TDT, motility, and vitality were higher significantly ($p=0.000$) compare to B group, but lower significantly ($p=0.000$) compare to A group. In D group, TDT, motility, and vitality were higher significantly ($p=0.000$) compare to C and B groups, although lower significantly ($p=0.000$) compare to A group. In E group TDT, motility, and vitality were higher significantly ($p=0.000$) compare to B, C, and D groups, eventhough lower significantly ($p=0.000$) compare to A group. In C group, concentration was higher significantly ($p=0.000$) compare to B group, nothing difference ($p=0.616$) compare to A group, lower significantly ($p=0.000$) compare to D and E groups. In D group concentration was higher significantly ($p=0.000$) compare to A and B groups, lower significantly ($p=0.000$) compare to E group. In group E concentration was higher significantly ($p=0.000$) compare to A group. Consistent with discriminant analysis TDT, concentration, and motility were constitute of discriminant variable among four dependant variables. The present result suggest that TDT, concentration, and motility variables have directly correlation result from VC treatment.

Conclusion: Treatment of VC 10 mg., 15 mg, and 20 mg (equal to VC 500 mg, 750 mg, and 1000 mg in human) during 30 days could enhance TDT, concentration, motility, and vitality of sperm were exposed by MSG

Key Words: MSG; Concentration; Motility; Vitality; Sperm quality

Pendahuluan

Masyarakat Indonesia, China, Thailand, Jepang, dan berbagai negara di Afrika Barat telah mengkonsumsi monosodium glutamate (MSG) sebagai penyedap masakan secara massif.^{1,2} Beberapa studi menyebutkan bahwa mengkonsumsi MSG dapat menimbulkan gejala seperti mati rasa, lemah, semburan panas, berkeringat, pusing, dan sakit kepala yang dikenal sebagai Syndrome Restaurant China.³ Sindroma ini timbul dalam 10 menit dan 2 jam setelah mengkonsumsi MSG dan berakhir setelah 4 jam. MSG juga dilaporkan dapat menurunkan daya ingat dan merusak neuron hypothalamus pada mencit.⁴ Selain itu lipid peroksidasi mitokondrial dan status antioksidan pada hemisfer serebral, serebellum, batang otak, dan diencophalon juga dilaporkan berubah akibat MSG.⁵ Di bidang reproduksi studi yang dilakukan oleh Nizmuddin menunjukkan bahwa pemberian MSG dosis tinggi dapat mempengaruhi spermatogenesis dengan akibat penurunan jumlah spermatogonium, spermatosit, dan spermatid.⁶ Vitamin C (VC) adalah salah satu bahan alam yang bersifat antioksidan dan terbukti secara *invivo* mampu bertindak sebagai *non-enzymatic radical scavengers* sehingga mampu menghambat mutagenesis, kerusakan oksidatif, dan perubahan berbagai sel kearah keganasan.^{7,8} Namun masih belum jelas apakah VC mempunyai potensi untuk merestorasi kualitas spermatozoa yang diakibatkan oleh paparan MSG.

Pembuktian potensi restorasi VC terhadap kualitas spermatozoa akibat paparan MSG secara *invivo* menjadi sangat penting, mengingat jumlah pengguna MSG melalui masakan juga semakin massif. Angka pengguna MSG bahkan diperkirakan akan makin meningkat, mengingat promosi MSG untuk meningkatkan nafsu makan dan menambah energy juga meningkat. Studi

yang dilaporkan oleh Bergen dkk bahwa penggunaan MSG dapat menyebabkan hyperphagia dan peningkatan intake energy yang cenderung menyebabkan obesitas.⁹ Konsekuensi dari keadaan tersebut menyebabkan jumlah pria infertile yang disebabkan oleh penurunan kualitas spermatozoa akibat paparan MSG makin meningkat. Di lain pihak bila pembuktian VC sebagai obat yang mampu mencegah dan atau merestorasi kualitas sperma akibat paparan MSG berhasil, maka angka pria infertile akibat konsumsi MSG dapat diperkecil.

VC terbukti mampu berperan sebagai anti oksidan dengan aksi *non-enzymatic radical scavengers* dalam medium air secara *invivo* maupun *invitro*.^{7,8,10} Di bidang reproduksi, studi yang dilaporkan oleh Santos dkk menunjukkan bahwa VC mampu memperpanjang kemampuan motilitas dan menjaga integritas morfologi spermatozoa yang disimpan dalam lemari es akibat penurunan *radical oxygen species* (ROS).¹¹ VC yang merupakan *chain breaker* utama dalam cairan ekstra sel, mampu menetralkan gugus hidroksil, superoksida, radikal hydrogen peroksida, dan mencegah aglutinasi spermatozoa.¹² Mengkonsumsi VC dalam dosis tinggi juga mampu memperbaiki konsentrasi, vitalitas, motilitas, maturitas, dan penurunan persentase spermatozoa abnormal.^{13,14} Selain itu VC dapat menghambat apoptosis spermatosit melalui stimulasi terhadap sintesis *Heat shock Protein* (Hsp) 70 yang berhubungan dengan *synaptonemal complexes* dalam nucleus meiotic spermatosit.⁸ Di sisi lain berbagai penelitian melaporkan bahwa penurunan konsentrasi, motilitas, dan integritas morfologi spermatozoa lebih banyak berhubungan dengan peningkatan kadar ROS atau penurunan cadangan antioksidan

dalam tubuh akibat metabolisme atau leukocytospermia.¹⁵ MSG, seperti yang dilaporkan oleh berbagai peneliti dapat menyebabkan perubahan neuron di serebral, serebellum, batang otak, diencephalon, dan hypothalamus yang berhubungan dengan ROS.⁵ Studi yang dilakukan oleh Farombi dan Onyema membuktikan bahwa pemberian MSG pada tikus galur Sprage Dawley, menyebabkan peningkatan kadar malondialdehyde (MDA) pada liver, ginjal, dan otak tikus.¹⁴ Selain itu MSG juga mampu menimbulkan apoptosis melalui penurunan kadar protein anti apoptosis Bcl-2 dan peningkatan protein pro apoptosis Bax.¹⁶ Mengacu pada berbagai laporan tersebut, maka pemberian MSG pada tikus menyebabkan akumulasi ROS dan MDA pada tubulus seminiferus dan gangguan spermatogenesis, sehingga menyebabkan kelainan pada lumen tubulus seminiferus, konsentrasi, motilitas, vitalitas, dan integritas morfologi spermatozoa. Di lain pihak pemberian VC dengan aksi *non-enzymatic radical scavengers* mampu mencegah dan atau merestorasi kualitas spermatozoa yang menurun akibat paparan MSG.

Metode

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test only Control Group Design* dengan sampel 25 ekor tikus jantan galur Wistar umur 3 bulan dengan berat badan (BB) \pm 200 gram. Sampel dibagi menjadi 5 group secara random masing-masing terdiri dari 5 ekor (ditentukan menurut formula Federer). Group A, diberi aquadest 3 ml sebagai kontrol positif. Group B, diberi larutan sebanyak 3 ml yang mengandung MSG 25 mg sebagai kontrol negatif. Group C, diberi larutan sebanyak 3 ml yang mengandung MSG 25 mg dan VC 10 mg. Group D, diberi larutan sebanyak 3

ml yang mengandung MSG 25 mg dan VC 15 mg. Group E, mendapatkan larutan sebanyak 3 ml yang mengandung MSG 25 mg dan VC 20 mg. Penentuan dosis MSG dilakukan dengan mengkonversi dosis MSG yang dikonsumsi manusia (1.2 gr) kepada dosis tikus dengan berat badan 200 gr menjadi 21.6 mg, kemudian dibulatkan menjadi 25 mg. Penentuan dosis MSG 25 mg karena telah terbukti mampu menurunkan kualitas spermatozoa pada penelitian sebelumnya. Demikian pula dengan dosis VC pada manusia (500 mg, 750 mg, dan 1000 mg) yang dikonversi pada dosis tikus menjadi 9, 13.5, dan 18 mg, yang dibulatkan menjadi 10, 15, dan 20 mg. Tikus kemudian dimasukkan ke dalam kandang secara koloni sesuai dengan group masing-masing selama satu minggu untuk menjalani aklimatisasi. Makanan yang diberikan adalah makanan tikus sehari-hari dan air berasai dari Perusahaan Dacrah Air minum yang disediakan untuk air minum tikus secara *ad libitum*. Setelah satu minggu aklimatisasi tikus diberi perlakuan selama 30 hari berturut-turut. Pemberian perlakuan dilakukan secara oral dengan menggunakan *acufirm (blunt type needle)* setiap hari pada pukul 7 pagi. Di akhir penelitian pada setiap tikus untuk pemeriksaan konsentrasi, motilitas, dan vitalitas dilakukan pengambilan ductus deferens sepanjang 2 cm dimulsi cauda epididimis sampai ampulla vas deferens kemudian diplitir sebanyak 3 kali. Hasilnya ditampung dalam gelas ukur yang berisi garam fisiologis dengan perbandingan 1 : 1 sambil diaduk, kemudian dilakukan pemeriksaan konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa sesuai standar WHO. Untuk pemeriksaan tebal dinding tubulus seminiferus (TDT) dilakukan pengambilan testis kanan dan kiri, kemudian dibuat sediaan.

Untuk membedakan apakah terdapat perbedaan TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa secara bermakna di antara group dilakukan analisis statistik manova, kemudian dilanjutkan dengan uji *posthoc* HSD Tukey, dan diskriminan. Semua analisis dilakukan dengan metode SPSS 13 dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil Penelitian

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar umur 3 bulan yang dibiakkan secara *inbreed*, sehingga variabilitas umur dan genetik dapat diabaikan. Tikus tersebut kemudian dibuat group secara *random* menjadi 5 group masing-masing terdiri dari 5 ekor. Seluruh tikus yang terlibat dalam penelitian dapat diamati hingga selesai, tidak ada yang sakit menurut pengamatan luar atau mati. Setelah pemberian perlakuan selama 30 hari didapatkan hasil rerata TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa seperti tertera pada tabel 1.

Hasil yang tertera pada tabel 1 tersebut memperlihatkan bahwa rerata TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas pada masing-masing kelompok adalah berbeda. Hasil analisis manova dengan prosedur Wilk Lambda pada empat kelompok menunjukkan $F_{hitung} = 0.000$ yang berarti sangat bermakna. Hal ini menggambarkan bahwa rerata TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas di antara group terdapat perbedaan yang sangat bermakna. Empat variabel tersebut secara univariat juga menunjukkan perbedaan yang bermakna seperti yang diuraikan di bawah ini.

Perbedaan TDT

Hasil pemeriksaan terhadap TDT tikus seperti tertera pada tabel 1 memperlihatkan bahwa rerata TDT tertinggi adalah group A yang diikuti oleh group group E, group D, group C, dan terendah adalah group B. Untuk mengetahui tingkat kemaknaan perbedaan konsentrasi spermatozoa tersebut digunakan uji statistik *Post Hoc* Tukey HSD.

Hasil uji statistik *Posthoc* Tukey

Tabel 1. Rerata TDT, Konsentrasi, Motilitas, dan Vitalitas spermatozoa tiap Group

Variabel yang diukur	Rerata (SD) tiap Group				
	A	B	C	D	E
TDT (± 0.78930)	60.6400 (± 0.48990)	41.7000 (± 1.6750)	44.9800 (± 1.16705)	45.6200 (± 0.43818)	53.0200
Konsent	4.9000 (± 0.22361)	3.4000 (± 0.22361)	4.6000 (± 0.22361)	11.3000 (± 0.27385)	16.7000 (± 0.57009)
Motilitas	68.5000 (± 0.93113)	14.2600 (± 1.01390)	31.7200 (± 1.16276)	53.7800 (± 1.31034)	62.5800 (± 1.55628)
Vitalitas	90.8000 (± 1.64317)	71.4000 (± 2.34164)	77.2000 (± 1.30384)	80.4000 (± 1.51658)	85.2000 (± 2.48998)

HSD menunjukkan bahwa TDT pada group A lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B, C, D, dan E. Hal ini menggambarkan bahwa group A (aquadest) benar dan dapat dipakai sebagai standar baku emas (kontrol positif). TDT group B lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group C, D, dan E. Hasil ini menunjukkan bahwa group B (MSG 25 mg) benar dan dapat digunakan sebagai kontrol negatif. TDT group C (VC 10 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B. TDT group D (VC 15 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B. TDT group E (VC 20 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B. TDT group D lebih rendah bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$ dan 0.038) dibanding group B dan C. TDT group E lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B, C, dan D. Keseluruhan hasil ini menggambarkan bahwa pemberian VC pada tikus jantan galur Wistar dengan dosis 10 mg, 15 mg, dan 20 mg mampu meningkatkan TDT setelah pemberian MSG 25 mg secara bermakna, namun belum mampu mengembalikan TDT sesuai kondisi semula (standar baku emas).

Perbedaan Konsentrasi Spermatozoa

Hasil pemeriksaan terhadap konsentrasi spermatozoa tikus seperti tertera pada tabel 1 memperlihatkan bahwa rerata konsentrasi tertinggi terjadi pada group A

yang diikuti oleh group E, group D, group C, dan terendah adalah group B.

Hasil uji statistik Poshoc Tukey HSD menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa pada group A lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B, D, dan E, namun dibanding group C meskipun lebih tinggi tetapi tidak bermakna ($p = 0.616$). Hal ini menggambarkan bahwa group A (aquadest) benar dan dapat dipakai sebagai standar baku emas (kontrol positif). Konsentrasi spermatozoa group B lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group C, D, dan E. Hasil ini menunjukkan bahwa group B (MSG 25 mg) benar dan dapat digunakan sebagai kontrol negatif. Konsentrasi spermatozoa group C (VC 10 mg) lebih rendah tidak bermakna ($p = 0.616$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B. Hal ini menggambarkan bahwa VC dosis 10 mg telah mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa setara dengan group A. Konsentrasi spermatozoa group D (VC 15 mg) lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, B, dan C, namun dibanding group E lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$). Konsentrasi group E (VC 20 mg) lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, B, C, dan D. Keseluruhan hasil ini menggambarkan bahwa pemberian VC pada tikus jantan galur Wistar dengan dosis 10 mg, 15 mg, dan 20 mg mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa setelah pemberian MSG 25 mg secara bermakna, bahkan mampu memperbaiki konsentrasi spermatozoa melebihi kondisi semula (standar baku emas).

Perbedaan Motilitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan terhadap motilitas spermatozoa tikus seperti tertera

pada tabel 1 memperlihatkan bahwa rerata motilitas tertinggi terjadi pada group A yang diikuti oleh group E, group D, group C, dan terendah adalah group B.

Hasil uji statistik Poshoc Tukey HSD menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada group A lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B, C, D, dan E. Hal ini menggambarkan bahwa group A (aquadest) benar dan dapat dipakai sebagai standar baku emas (kontrol positif). Motilitas spermatozoa group B lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group C, D, dan E. Hasil ini menunjukkan bahwa group B (MSG 25 mg) benar dan dapat digunakan sebagai kontrol negatif. Motilitas spermatozoa group C (VC 10 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B. Motilitas spermatozoa group D (VC 15 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun dibanding group B dan C lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$). Motilitas group E (VC 20 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun dibanding group B, C, dan D lebih tinggi secara bermakna dengan nilai p masing-masing = 0.000. Keseluruhan hasil analisis ini menggambarkan bahwa pemberian VC pada tikus jantan galur Wistar dengan dosis 10 mg, 15 mg, dan 20 mg mampu meningkatkan motilitas spermatozoa setelah pemberian MSG 25 mg secara bermakna, namun belum mampu memperbaiki motilitas spermatozoa seperti kondisi semula (standar baku emas).

Perbedaan Vitalitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan terhadap vitalitas spermatozoa tikus seperti tertera pada tabel 1 memperlihatkan bahwa rerata vitalitas

tertinggi terjadi pada group A yang diikuti oleh group E, group D, group C, dan terendah adalah group B.

Hasil uji statistik Poshoc Tukey HSD menunjukkan bahwa vitalitas spermatozoa pada group A lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B, C, D, dan E. Hal ini menggambarkan bahwa group A (aquadest) benar dan dapat dipakai sebagai standar baku emas (kontrol positif). Vitalitas spermatozoa group B lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group C, D, dan E. Hasil ini menunjukkan bahwa group B (MSG 25 mg) benar dan dapat digunakan sebagai kontrol negatif. Vitalitas spermatozoa group C (VC 10 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B. Vitalitas spermatozoa group D (VC 15 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group B, dan tidak bermakna ($p = 0.054$) dibanding group C. Vitalitas group E (VC 20 mg) lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) dibanding group A, namun dibanding group B, C, dan D lebih tinggi secara bermakna dengan nilai p masing-masing = 0.000 dan 0.002. Keseluruhan hasil analisis ini menggambarkan bahwa pemberian VC pada tikus jantan galur Wistar dengan dosis 10 mg, 15 mg, dan 20 mg mampu meningkatkan vitalitas spermatozoa setelah pemberian MSG 25 mg secara bermakna, namun belum mampu mengembalikan spermatozoa seperti kondisi semula (standar baku emas).

Faktor Pembeda

Mengacu pada hasil analisis statistik manova sebagaimana disebutkan di atas, menunjukkan bahwa terjadi perbedaan TDT,

konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa yang sangat bermakna di antara 5 group. Untuk menentukan variabel mana yang menjadi faktor diskriminan di antara group perlu dilakukan analisis diskriminan.

Hasil diskriminan (data lengkap tidak ditunjukkan) menunjukkan bahwa variabel yang dimasukkan pertama kali adalah motilitas yang mempunyai angka wilk's λ paling tinggi 0.002, yang diikuti oleh variabel konsentrasi (000), dan variabel TDT (0.000). Hal ini menggambarkan bahwa varians yang tidak dapat dijelaskan oleh perbedaan antar group makin kecil sesuai dengan prinsip model diskriminan. Selain itu secara statistik terbukti mempunyai tingkat kebermaknaan yang sangat tinggi ($p = 0.000$). Hasil ini menggambarkan bahwa ketiga variabel (motilitas, konsentrasi, TDT) tersebut berbeda pada tiap group. Mengacu pada hasil tersebut maka dapat disusun model regresi fisher linier seperti tertera pada tabel 2.

Tabel tersebut memperlihatkan bahwa di antara empat variabel tergantung dalam penelitian ini, yang menjadi faktor diskriminan atau menjadi pembeda di antara group adalah motilitas, konsentrasi, dan

TDT, sedangkan variabel vitalitas bukan merupakan faktor diskriminan. Penetapan ini menjadi lebih kuat dan pasti setelah dilakukan uji Kelayakan Fungsi Diskriminan. Jumlah group yang telah ditetapkan adalah 5 group, setiap group terdiri dari 5 anggota group. Hasil analisis tersebut memperlihatkan bahwa 100% dari 25 data yang diolah telah sesuai dengan group pada awal penetapan group. Validasi silang dari analisis tersebut juga menunjukkan angka 100%, jauh di atas 50% sebagai batas (standar). Hasil ini memberi gambaran bahwa 100% dari 25 data yang terdistribusi dalam tiap group telah tervalidasi. Berdasarkan pada hasil analisis tersebut, maka penentuan fungsi diskriminan yang dipakai untuk membedakan kelima group adalah tepat dan layak.

Hal lain yang perlu diketahui adalah bagaimana pola hubungan antara ketiga variabel yang menjadi faktor pembeda tersebut pada tiap group. Merujuk pada analisis diskriminan sebagaimana tersebut di atas, maka pola hubungan antara ketiga variabel tersebut dapat disusun berdasarkan perkalian antara rerata motilitas, konsentrasi, dan TDT dengan model fisher

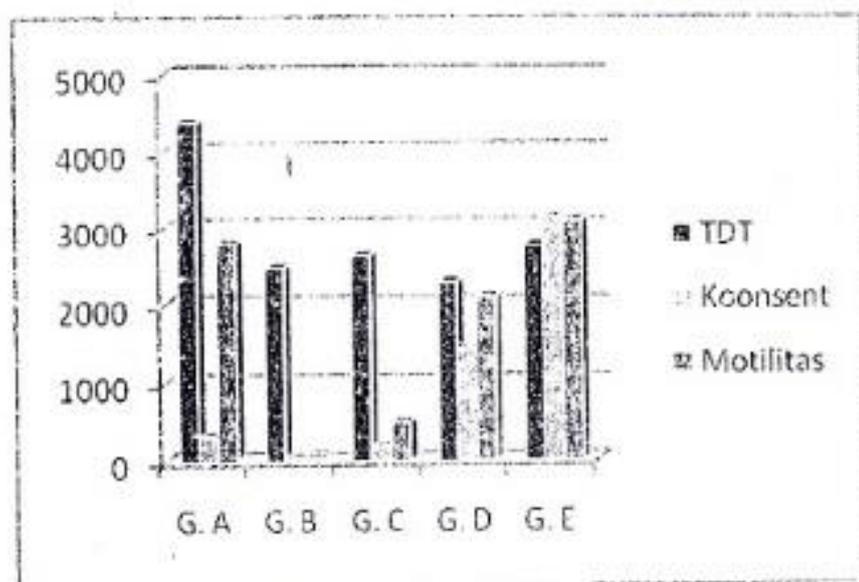
Tabel 2. Persamaan Fungsi Fsher's Linier Discriminant

Variabel	Group				
	A	B	C	D	E
TDT	72.390	59.460	58.529	49.138	52.076
Konsentrasi	63.102	13.424	39.148	126.370	186.820
Motilitas	40.903	2.145	16.089	39.123	49.353
{Constanta}	-3753.638	-1278.752	-1662.193	-2905.953	4495.690

linier (data tidak ditunjukkan) dengan hasil seperti terlihat pada gambar 1 di bawah ini.

TDT pada group A, C, D, dan E yang tinggi diikuti oleh peningkatan konsentrasi dan motilitas. Sementara group B memperlihatkan kondisi yang berbeda, penurunan TDT diikuti oleh penurunan konsentrasi dan motilitas spermatozoa. Berdasarkan pada hasil pola tersebut maka dapat dinyatakan bahwa pemberian VC dengan dosis 10 mg, 15 mg, dan 20 mg pada tikus jantan galur Wistar dapat meningkatkan kualitas spermatozoa melalui peningkatan TDT yang diikuti oleh peningkatan konsentrasi dan motilitas akibat paparan MSG. Sementara vitalitas tidak termasuk sebagai faktor diskriminan sehingga tidak mempunyai korelasi

langsung dengan TDT, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa. Namun demikian vitalitas tetap mempunyai peran penting sebagai parameter kualitas spermatozoa, mengingat secara univariat maupun multivariat menunjukkan hasil yang lebih tinggi secara bermakna. Mengacu pada uraian tersebut maka vitalitas spermatozoa tetap merupakan parameter kualitas spermatozoa, meskipun diperlukan pada saat motilitas tidak menunjukkan korelasi secara langsung dengan TDT dan konsentrasi. Seharusnya TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas mempunyai korelasi langsung, namun penelitian ini memberikan gambaran yang berbeda. Sesuai dengan prinsip metode statistik ini apabila tidak terjadi korelasi langsung terhadap variabel yang secara biologis seharusnya berkorelasi



Gambar 1. Pola hubungan TDT, Konsentrasi, dan Motilitas di antara Group

maka untuk menimbulkan korelasi tersebut diperlukan unsur lain yang berperan sebagai perantara. Unsur lain yang berperan sebagai perantara perlu didiskusikan lebih lanjut.

Pembahasan

Hasil penelitian ini memberikan gambaran bahwa pemberian VC 10 mg, 15 mg, dan 20 mg selama 30 hari mampu meningkatkan TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa pada tikus jantan

galur Wistar yang dipapar MSG 25 mg. TDT, konsentrasi, dan motilitas mempunyai korelasi langsung, yang berarti peningkatan TDT diikuti oleh peningkatan konsentrasi, dan motilitas spermatozoa. Sedangkan peningkatan vitalitas tidak mempunyai korelasi langsung, sehingga tidak selalu mengikuti peningkatan TDT, konsentrasi, maupun motilitas. Hal ini memberi gambaran bahwa ada unsur lain yang ikut berperan dalam peningkatan vitalitas spermatozoa. Atau sudah tidak perlu lagi memeriksa vitalitas spermatozoa, ketika sudah diketahui TDT, konsentrasi, dan motilitas yang bermakna. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Behre HM et al bahwa penggunaan tes vitalitas dapat dilakukan apabila motilitas spermatozoa rendah secara bermakna. Alasan yang dikemukakan adalah bahwa motilitas spermatozoa sangat ditentukan oleh keutuhan flagella pada spermatozoa yang vital. Oleh karena itu bila terjadi kerusakan flagella yang disebabkan oleh gangguan metabolisme atau defek axonemal, dan bahkan mati (necrozoospermia), maka vitalitas akan rendah juga.¹⁷ Mengacu pada uraian tersebut maka spermatozoa yang utuh bila diberi cairan hiposmotik, cairan akan masuk ke dalam sel secara osmotik. Spermatozoa yang utuh menjadi bengkak karena banyak mengandung cairan, sedangkan spermatozoa mati tidak menjadi bengkak, disebabkan oleh kebocoran membran sel.¹⁷ MSG adalah garam asam glutamat yang merupakan salah satu asam amino yang berlimpah. Asam glutamat meskipun secara alami ditemukan, namun banyak diproduksi secara komersial melalui fermentasi gula bit, molases, dan gula cane.² MSG sering ditambahkan dalam masakan sebagai penyedap dan penambah selera makan, khususnya pada restoran China. Menurut riset yang dilakukan oleh

pemerintah Australia dan New Zealand th 2003, makanan dari restoran China mengandung MSG berkisar antara 10 dan 1500 mg/100 gr.¹⁸ Sedangkan makanan di restoran barat mengandung MSG lebih rendah. Penggunaan MSG di restoran Indonesia bahkan di masyarakat diduga kuat tidak jauh berbeda dengan China, mengingat produk MSG dalam berbagai merk begitu banyak dipasarkan. Apakah penggunaan MSG dapat berdampak pada fertilitas pria? Hasil riset ini memberikan gambaran bahwa pemberian MSG 25 mg perhari selama 30 hari pada tikus jantan galur Wistar mampu menurunkan kualitas spermatozoa secara bermakna. Studi dari Nizamuddin juga menunjukkan hasil yang sama.⁶ Penyebab penurunan kualitas spermatozoa akibat pemberian MSG dimediasi oleh ROS. Berbagai studi menunjukkan bahwa MSG dapat menyebabkan perubahan neuron di serebral, serebellum, batang otak, diencephalon, dan hypothalamus dan organ lain yang berhubungan dengan ROS dan peningkatan kadar malondialdehyde (MDA).^{3,4,5,10} Studi pada pria infertil dengan gambaran semen abnormal juga menunjukkan bahwa kadar ROS pria infertil tersebut lebih tinggi dan potensial membran mitokhondria (PMM) lebih rendah secara bermakna dibanding donor.¹⁹ Akibat peningkatan ROS keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan dalam traktus reproduksi bergeser ke arah prooksidan. Konsekuensi dari pergeseran ini, sel mengalami stress oksidatif dan kerusakan yang menurunkan kualitas spermatozoa. Mekanisme yang mendasari antara lain adalah reaksi antara ROS dengan lipid tidak jenuh membran sel yang dikenal dengan peroksidasi lipid, reaksi ROS dengan gugus sulfhidril (SH) sehingga mengganggu sintesis protein intraseluler, dan reaksi ROS dengan residu asam amino histidin dalam

DNA yang dapat mengakibatkan mutasi DNA.²⁰ Ketiga reaksi tersebut menyebabkan berbagai sel peritubuler, sel spermatogonia, sel Leydig, dan sel Sertoli mengalami disfungsi bahkan apoptosis, sehingga menurunkan TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas.²¹

Kerusakan sel akibat sters oksidatif sebagian besar dapat diperbaiki oleh mekanisme reparasi sel itu sendiri, sejauh tersedia energy (ATP), kecuali kerusakan DNA mitokondria.²² Mitokondria adalah suatu organel dalam sel yang mempunyai peran penting dalam membentuk energi (ATP) melalui reaksi fosforilasi oksidatif pada rantai pernafasan. Dalam reaksi fosforilasi oksidatif ini diperlukan polipeptida yang berperan sebagai enzim. Paling tidak ada 67 polipeptida yang berperan dalam reaksi ini, 13 polipeptida dikode oleh DNA mitokondria sedangkan sisanya dikode oleh DNA inti sel.²³ Kerusakan DNA mitokondria berarti ada 13 polipeptida yang gagal dikode. Kegagalan pembentukan kode ini mengakibatkan sintesis polipeptida tidak berlangsung sehingga pembentukan ATP dalam mitokondria juga tidak berlangsung, akibatnya sel akan mengalami defisiensi ATP. Hal ini mengganggu proses reparasi sel dan menyebabkan produksi oksidan internal meningkat. Peningkatan ini disebabkan oleh blokade pada komplek III yang menyebabkan Coenzim Q menyerahkan satu elektron ke O_2 membentuk O_2^{\cdot} sehingga kerusakan sel juga akan meningkat. Lingkaran proses ini terus berlangsung sehingga menjadi lingkaran setan sampai sel itu menjalani apoptosis.

Antioksidan didefinisikan sebagai bahan yang mampu melindungi sel dari kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS dengan cara menekan sintesis, mengeliminasi, dan melawan aksinya.

Dikenal dua macam antioksidan yaitu antioksidan preventif dan antioksidan pemecah rangkaian reaksi (*chain breaking reaction*) yang bersifat alami.^{24,25} Antioksidan preventif adalah antioksidan alami yang mampu menekan atau menghambat pembentukan ROS pada fase inisiasi seperti enzim catalase, peroksidase, dan glutathion peroksidase.²⁴ Meskipun demikian aksi antioksidan preventif, tetap menyisakan ROS dalam jumlah sedikit. Jumlah ROS yang tersisa akan bertambah besar apabila ditambah oleh ROS yang ditimbulkan oleh MSG. Oleh karena itu diperlukan *Chain breaking* antioksidan yang berguna untuk memecah rangkaian reaksi ROS pada fase propagasi. Antioksidan alami yang termasuk golongan *Chain breaker* terbagi menjadi dua bagian. Bagian yang pertama adalah antioksidan yang larut dalam air seperti superoksida desmutase (SOD), asam urat, bilirubin, albumin, thiols, dan VC. Sedangkan vitamin E, carotenoid, ubiquinol, polifenol (flavonoid), dan asam caffeat phenetyl ester (CAPE) yang merupakan senyawa komponen propolis,²⁶ adalah antioksidan yang larut dalam lemak. Aktivitas antioksidan sangat ditentukan tidak saja oleh sifat kimiawi dan konsentrasi, tetapi juga oleh mobilitas dan lokasi antioksidan dalam lingkungan mikro.²⁴ Mengacu pada sifat kimiawi dan kondisi lingkungan mikro tersebut, maka VC adalah antioksidan yang sangat tepat sebagai *chain breaker* ROS akibat paparan MSG. VC adalah antioksidan kuat yang larut air sehingga dapat bereaksi secara langsung dengan oksidan atau ROS dalam darah. Selain itu VC juga mampu bereaksi secara tidak langsung dengan radikal bebas dalam media lipid melalui kemampuannya bereaksi dengan Vit.E.⁶ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian VC 10 mg, 15 mg, dan 20 mg perhari selama 30 hari

mampu merestorasi kualitas spermatozoa melalui peningkatan TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa akibat paparan MSG.

Potensi VC untuk memperbaiki kualitas spermatozoa selain dilakukan melalui kemampuannya sebagai *chain breaker propagation* pada reaksi radikal bebas, juga diduga kuat sebagai penghambat apoptosis secara langsung. Hasil penelitian Yazama dkk pada mencit mutan Gulo* yang mengalami defisiensi VC menunjukkan bahwa pachyten spermatosit pada mencit tersebut mengalami apoptosis sehingga secara tidak langsung menurunkan kualitas spermatozoa. Apoptosis berhubungan dengan Heat shock protein (Hsp) 70 dan 60 yang banyak terdapat pada spermatosit.⁸ Pemeriksaan secara immunohistochemical pada mencit yang mengandung cukup VC menunjukkan bahwa spermatosit banyak terekspresi oleh Hsp 70 dan 60, sementara pada mencit yang defisiensi VC tidak. Pemberian label pada bahan yang padat elektron dengan Hsp 70 pada mencit yang cukup VC menunjukkan bahwa Hsp 70 berperan sebagai synaptonemal complexes dalam fase pachyten spermatosit. Hsp 70 disintesis oleh sel-sel spermatogenic selama miosis, dan Hsp 70 berhubungan dengan synaptonemal complexes dalam nucleus meiotic spermatosit. Mencit yang tidak mengandung Hsp 70 terbukti mempunyai synaptonemal complexes pada spermatosit yang tidak normal dan kejadian apoptosis yang masif.²⁷ Mengacu pada bukti tersebut maka para ahli menyatakan bahwa Hsp 70 berperan dalam fungsi synaptonemal complexes dan apabila terjadi defisiensi Hsp 70 menyebabkan kegagalan miosis, apoptosis spermatosit, dan penurunan kualitas spermatozoa. Studi yang dilakukan oleh Eddy pada mencit Hsp 70 knock-out juga menunjukkan bahwa perkembangan sel

spermatogenic tertahan apabila tahap prophase miosis pada fase transisi G2/M dan late pachyten spermatosit mengalami apoptosis sehingga tidak menghasilkan spermatid.²⁸ Secara keseluruhan hasil penelitian ini dan bukti tersebut dalam pembahasan memberi gambaran bahwa VC mampu menghambat apoptosis berbagai sel spermatogenik (spermatosit) sehingga mampu merestorasi kualitas spermatozoa. Sayangnya penelitian ini tidak memeriksa integritas morfologi spermatozoa, sehingga posisi pola hubungan di antara variabel TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas dengan integritas morfologi tidak dapat dibangun.

Simpulan:

Berdasar pada hasil penelitian dan pembahasan tersebut di atas maka dapat disimpulkan bahwa pemberian VC dengan dosis 10 mg, 15 mg, dan 20 mg perhari (setara dengan dosis VC 500 mg, 750 mg, dan 1000 mg pada manusia) selama 30 hari mampu merestorasi kualitas spermatozoa melalui peningkatan TDT, konsentrasi, motilitas, dan vitalitas spermatozoa yang menurun akibat paparan MSG 25 mg perhari selama 30 hari. Namun tingkat perbaikan kualitas spermatozoa tersebut belum setara dengan group normal tanpa MSG. Faktor yang menjadi pembeda di antara group adalah TDT, konsentrasi, dan motilitas, sedangkan vitalitas tidak. Hal ini mengganbarkan bahwa peningkatan TDT akan diikuti oleh peningkatan konsentrasi dan motilitas, sedangkan vitalitas tidak. Vitalitas tetap mempunyai arti penting, mengingat analisis multivariat maupun univariat menunjukkan hasil yang sangat bermakna.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Kusumaningrat S, Drajat F, Bintu A, dan Pravita TA yang telah mengizinkan datanya untuk dianalisis kembali sehingga tulisan ini dapat diselesaikan. Semoga amal dan budi baik mereka diterima oleh Allah Tuhan Yang Maha Esa.

Kepustakaan

1. Kwok RHM. Chinese-restaurant syndrome. *New England Journal of Medicine*, 1968, 278, p. 796.
2. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: A literature review. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, 18, 2006, p. 482 - 86
3. Geha RS, Beiser A, Patterson R, Grammar LC et al. Review of allergic reaction to monosodium glutamat and outcome of multicenter double blind placebo controlled study. *J nutr*, 2000, 130, p. 1032 - 38
4. Park CH, Choi SH, Piao Y, Kim S, Lee YJ, Kim HS et al. Glutamate and aspartate impair memory retention and damage hypothalamic neurons in adult mice. *Toxicol Lett*, 115, 2000, p. 117 - 25
5. Singh K, Ahluwalia P, Studies on the effect of monosodium glutamate administration on some antioxidant enzyme in the arterial tissue of adult male mice. *J Nutr Sci Vitaminol*, 49, 2003, p. 145 - 48
6. Nizumddin. Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamat Per Oral terhadap Spermatogenesis dan Jumlah Anak Tikus Putih Jantan Dewasa. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 8, 2006, p. 135 - 40
7. Hayatsu H, Arimoto S, Negishi T. Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res*, 302, p. 429 - 46
8. Yazama F, Furuta K, Fujimoto M, Sonoda T, Shigetomi H et al. Abnormal spermatogenesis in mice unable to synthesize ascorbic acid. *Anatomical science International*, 87, 2006, p. 115 - 25
9. Bergen HT, Mizuno TM, Taylor J. Hyperphagia and weight gain after gold thioglucose and monosodium glutamate: relation to hypothalamic neuropeptide Y. *Endocrinology*, 139, 1998, p. 4483 - 88
10. Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatry role of vitamin C, vitamin E, and quercetine.
11. Santos MRF, Rebolledo AED, Estes MC, Garde JJ, Pastor FM. Refrigerated Storage of Red Deer Epididymal Spermatozoa in the Epididymis, Diluted and with Vitamin C Supplementation. *Reprod Dom Anim*, 44, 2009, p. 212 - 20
12. Agrawal A, Nallele KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online*, 2004, p. 616 - 27
13. Dawson EB, Harris WA, Teter MC, Powel LC. Effect of ascorbic acid supplementation on the sperm quality of smokers. *Fertil Steril*, 1992, 58, p. 1034 - 39
14. Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal

- plasma in fertile men. *Fertil Steril*, 67, 1997, p. 142 – 47
15. Piomboni P, Gambera L, Serafini F, Campanella G, Morgante G. Sperm quality improvement after natural antioxidant treatment of asthenoteratospermic men with leukocytospermia. *Asian J Androl* 10, 2: 2008, p. 201 – 06
 16. Pavlovic V, Cekic S, Kocic G, Sokolovic D, Zivkovic V. Effect of monosodium glutamate on apoptosis and Bcl-2/Bax protein level in rat thymocyte culture. *Physiol. Res*, 56, 2007, 619 – 26
 17. Behre HM, Yeung CH, Niesclagh E. Diagnosis of male infertility and hypogonadism. In: Niesclagh E, Behre HM eds. *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction*. Springer, 1997, p. 105
 18. Food Standards Australia New Zealand. Monosodium glutamate: a safety assessment Technical report series No. 20. Canberra ACT, Australia. Cited from ref no. 2
 19. Wang X, Sharma RK, Gupta A et al. Alteration in Mitochondria membrane potential and Oxidatif Stress in Infertile men: A prospective Observation Study. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 1 (7). 2009. P. 29 – 34.
 20. Kumar V, Cotrain RS, Robbins SL. Blood Vessels in Diseases of Organ System. In: *Basic Pathology*. Ed. 6th. WB. Saunders Company, Philadelphia. 1997. P. 282 – 83
 21. Agarawal A, Alamaneni SSR. Role of Free Radical in Female Reproductive Disease and Asisted Reproduction. *Reproductive BioMedicine Online*; www.rbmonline.com. 9; (3). 2004. P. 338 – 3347
 22. Graner MD, Well PA. DNA Organization, Replication, and Repair. In: eds Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 27th edition. 2006. P. 343 - 345
 23. Fuller GM, Shield D. Molecular basis of Medical Cell Biology. 1st ed. Stamford Connecticut: Appleton & Lange; 1998.p.112-14.
 24. Niki E. Antioxidant Defens in Eukariotic Cells: an Overview. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU. *Free Radical: From Basic Science to Medicine*. Birkhauser Verlag, Switzerland. Th 1993. P. 365 -71
 25. Botham KM, Mayes PA. Biologic Oxidation. In: Murray K, Graner DK, Rodwel VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Eds 27th. 2006. P. 94 – 99
 26. Koyu A, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Cesur G, Ozcelik N. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on oxidative stress in rat liver exposed to the 900 MHz electromagnetic field. *Toxicology and Industrial Health*. 25. 2009. P. 429 - 34
 27. Dix DJ, Allen JW, Collin BW et al. Targeted gene disruption of Hsp70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 1996, p. 3264 – 8
 28. Eddy EM. Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis. *Rev Reprod*, 4, 1999, p. 3 - 30