



Majalah

ANDROLOGI INDONESIA

The Journal of Andrology Indonesia



DAFTAR ISI

1. Daftar Isi	i
2. Dari Redaksi	ii
3. Artikel Penelitian	
3.1. Ekspresi Caspase-3 Sel Leydig Tikus <i>Sprague Dawley</i> yang Diinduksi Streptozotocin Dosis Rendah Zulkarnain, Dicky Moch Rizal	1727
3.2. Proteksi Spermatozoa dengan Propolis terhadap ROS pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi oleh Monosodium Glutamat (MSG) Taufiqurrachman, Ani Widayati, Anindiya Kusuma W	1735
4. Artikel Tinjauan Pustaka	
4.1. Peran Vitamin dan Mineral pada Infeksi Kelenjar Asesoris Organ Reproduksi Pria K.M. Arsyad, Siti Hildani Thaib	1743
4.2. Tinjauan Seluler dan Molekul Asthenozoosprema Silvia W Lestari	1749
4.3. Peran Kelenjar-Kelenjar Aksesoris Organ Reproduksi Pria Terhadap Kualitas Prima Evelyn Loanda, Indra Gusti Mansur	1756
5. Penyegar/Cuplikan	
5.1. Efficacy and safety of Sildenafil Citrate for Treatment of Erectile in a population with associated organic risk factors Quay, A., T et all	1764
5.2. International estimates of Infertility prevalence and treatment seeking: potential need and demand for Infertility medical care Boivin, J., et all	1769
5.3. A role dihydrotestosterone Treatment in older men? Mara Y Roth, Stephanie T. Page	1776
6. Lain-lain	
6.1. Petunjuk Bagi Penyumbang Artikel	1778
6.2. Laporan Pendanaan Majalah Andrologi Indonesia	1780
6.3. Informasi Kegiatan Ilmiah 2012 - 2013	1781

MAI

NO. 43-44

THN 12

JULI-OKT.

2012

ISSN 0125 - 429 X

Diterbitkan oleh / Published by :
Perkumpulan Andrologi Indonesia (PANDI)
Perhimpunan Dokter Spesialis Andrologi Indonesia (PERSANDI)

Pelindung:

Patron

Ketua PP-PANDI
Ketua PP PERSANDI

**Redaksi Kehormatan
(Honorary Editors)**

Prof. DR. Dr. FX Arif Adimoelja, MSc., SpAnd
Prof. Dr. MK. Tadjudin, SpAnd

**Pimpinan Redaksi
(Chief Editor)**

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

**Sekretaris Redaksi
(Associate Editor)**

Dr. Siti Hildani Thaib, M.Kes

**Dewan Redaksi
(Board of Editors)**

Prof. DR. Dr. Nukman Moeloek, SpAnd
Prof. DR. Dr. Wimpie Pangkahila, SpAnd
Prof. DR. Dr. OS Tendean, SpAnd
Dr. Aueky Hinting, Ph.D., SpAnd
Prof. DR. Dr. Susilo Wibowo, MSc, SpAnd
Prof. DR. Dr. Wahyuning Rarnelan, SpAnd
Prof. Dr. Randanan Bandaso, SpPA(K), SpAnd
Dr. Indra G. Mansur, DHES, PhD, SpAnd,
Dr. Johannes Soejono, M.Kes., SpAnd

Koresponden

(Correspondence)

Dr. Kamajaya, MSc.
Dr. H. Abdullah Wali Nasution, DABK, SpAnd,
Dr. Zulkarnain Siri, SpAnd
dr. Dicky Moch Rizal, MKes, SpAnd
DR. Dr. Taufiqurrachman, M.Biomed. Sp.And
Dr. Hudi Winarso, SpAnd,
Prof. Dr. I Gusti Aman, SpAnd
Dr. Wardihan Sinrang, MSc,
Dr. Eddy Karundeng, Sp.And,

**Administrasi/Sirkulasi
(Administration/Circulation)**

Poniran

SK. P.P.PANDI Nomor : SK-01/PP-PANDI/VII/2010
SK PP PERSANDI Nomor :84/VIII/2010

Alamat Redaksi :
Bagian Biologi Kedokteran dan Andrologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya
Jalan Dr Muhammad Ali Palembang 30126

DAFTAR ISI

1. Daftar Isi	i
2. Dari Redaksi	ii
3. Artikel Penelitian	
3.1. Ekspresi Caspase-3 Sel Leydig Tikus <i>Sprague Dawley</i> yang Diinduksi Streptozotocin Dosis Rendah Zulkarnain, Dicky Moch Rizal	1727
3.2. Proteksi Spermatozoa dengan Propolis terhadap ROS pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi oleh Monosodium Glutamat (MSG) Taufiqurrachman, Eni Widayati, Anindiya Kusuma W	1735
4. Artikel Tinjauan Pustaka	
4.1. Peran Vitamin dan Mineral pada Infeksi Kelenjar Asesoris Organ Reproduksi Pria K.M. Arsyad, Siti Hildani Thaib	1743
4.2. Tinjauan Seluler dan Molekul Asthenozoosprema Silvia W Lestari	1749
4.3. Peran Kelenjar-Kelenjar Aksesori Organ Reproduksi Pria Terhadap Kualitas Prima Evelyn Loanda, Indra Gusti Mansur	1756
5. Penyegar/Cuplikan	
5.1. Efficacy and safety of Sildenafil Citrate for Treatment of Erectile in a population with associated organic risk factors Quay, A., T et al	1764
5.2. International estimates of Infertility prevalence and treatment seeking: potential need and demand for infertility medical care Boivin, J., et al	1769
5.3. A role dihydrotestosterone Treatment in older men? Mara Y Roth, Stephanie T. Page	1776
6. Lain-lain	
6.1. Petunjuk Bagi Penyumbang Artikel	1778
6.2. Laporan Pendanaan Majalah Andrologi Indonesia	1780
6.3. Informasi Kegiatan Ilmiah 2012 - 2013	1781

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

10
1. a. 2). e). 7

PROTEKSI SPERMATOZOA DENGAN PROPOLIS TERHADAP ROS PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI OLEH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

Oleh:

Taufiqurrachman, Eni Widayati, Anindiya Kusuma W

Bagian Andrology dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam
Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

Abstrak

Pendahuluan: Pemberian MSG dapat menurunkan jumlah sel sertoli dan sel leydig. Propolis, bahan yang dikumpulkan oleh lebah madu merupakan antioksidan kuat, mampu bertindak sebagai *non-enzymatic radical scavenger*. Belum jelas apakah propolis dapat memproteksi spermatozoa akibat serangan ROS yang diinduksi oleh MSG.

Metode: *Post Test Control Group Design* dengan sampel 25 tikus jantan galur Wistar umur 90 hari, berat badan \pm 200 gram, dibagi menjadi 5 group secara random. Setelah satu minggu aklimatisasi, treatment diberikan dua kali sehari selama 30 hari. Hari ke 31, cauda epididimis sampai ampula vas deferens dipotong, ditampung dalam gelas ukur yang berisi garam fisiologis. Konsentrasi dan morfologi spermatozoa diperiksa sesuai standard WHO.

Hasil: Hasil analisis anova menunjukkan ada perbedaan bermakna di antara group ($p=0.000$). Analisis Post Hoc menunjukkan, konsentrasi spermatozoa pada propolis 9 dan 18 mg, tidak berbeda bermakna dibanding aquadest ($p=1.000$; 0.780), propolis 27 mg berbeda bermakna dibanding aquadest ($p = 0.006$). Konsentrasi spermatozoa propolis 27 mg berbeda bermakna dibanding propolis 9 mg, tidak ada perbedaan dibanding propolis 18 mg ($p = 0.073$). Morfologi normal spermatozoa pada propolis 9, 18, dan 27 mg, tidak berbeda bermakna dibanding aquadest ($p = 0.079$; 0.551 ; 0.279). Dibanding propolis 9 mg, morfologi normal spermatozoa propolis 18, dan 27 mg berbeda bermakna ($p = 0.014$; 0.004), antara propolis 18 mg dengan propolis 27 mg tidak berbeda bermakna ($p = 0.985$).

Kesimpulan: Pemberian propolis dengan dosis 9, 18, dan 27 mg perhari selama 30 hari mampu meningkatkan konsentrasi dan persentase normal spermatozoa pada tikus yang diinduksi dengan MSG.

Kata Kunci : MSG, propolis, spermatozoa

Pendahuluan

Monosodium glutamate (MSG) adalah garam dari asam glutamate, merupakan salah satu asam amino dengan jumlah paling melimpah. Meskipun asam glutamate banyak terdapat di alam, namun banyak diproduksi secara komersial sebagai penyedap masakan.^{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 (SRC).³ Selain SRC, MSG juga menimbulkan efek toksik lain seperti kerusakan neuron hypothalamus dan penurunan daya ingat.⁴ Efek tersebut lebih

disebabkan oleh reaksi radikal bebas (ROS) yang dihasilkan oleh MSG dengan asam lemak tak jenuh membran sel. Propolis, bahan getah lipofilic yang dikumpulkan oleh lebah madu merupakan antioksidan potential yang mampu bertindak sebagai *non-enzymatic radical scavenger* sehingga dapat mencegah berbagai kerusakan sel akibat stress oksidatif. Namun masih belum jelas apakah antioksidan propolis dapat memproteksi spermatozoa terhadap kerusakan akibat ROS yang diinduksi oleh MSG

Pengungkapan efek proteksi propolis terhadap spermatozoa akibat paparan ROS yang diinduksi oleh MSG secara *in vivo* menjadi sangat penting, mengingat jumlah

pengguna MSG melalui masakan juga semakin meningkat. Angka pengguna MSG bahkan diperkirakan akan terus meningkat sejalan dengan gencarnya promosi MSG. Bergen dkk melaporkan bahwa penggunaan MSG dapat menimbulkan hyperphagia dan peningkatan intake kalori sehingga menyebabkan kegemukan.⁵ Selain itu penggunaan MSG juga dapat meningkatkan peroksidasi lipid pada liver, ginjal, dan otak.⁶ Keadaan tersebut menyebabkan jumlah pria infertile cenderung makin meningkat yang berhubungan dengan penurunan konsentrasi dan morfologi spermatozoa. Mengkaji efek propolis terhadap kualitas sperma akibat paparan MSG diharapkan mampu memperkecil angka infertilitas pria akibat konsumsi MSG.

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 Wistar, menyebabkan peningkatan kadar malondialdehyde (MDA) pada liver, ginjal, dan otak tikus yang mengandung banyak asam lemak tidak jenuh.⁶ MDA adalah senyawa hasil reaksi dari radikal OH dengan asam lemak tidak jenuh membrane sel.⁷ Oleh karena itu peningkatan kadar MDA menggambarkan peningkatan kadar ROS dan reaksinya terhadap ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh membran sel. Membran spermatozoa sangat kaya akan asam lemak tidak jenuh, sehingga sangat rentan terhadap serangan ROS.⁸ Selain itu MSG juga mampu menimbulkan apoptosis melalui penurunan kadar protein anti apoptosis Bcl-2 dan peningkatan protein pro apoptosis Bax.⁹ Mengacu pada berbagai laporan tersebut, maka pemberian MSG pada tikus dapat menyebabkan akumulasi ROS dan MDA pada tubulus seminiferus. Konsekuensi dari

akumulasi ROS dan MDA tersebut dapat menginduksi apoptosis, penurunan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa.

Propolis merupakan senyawa yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai tanaman sebagai salah satu bahan untuk membuat sarang. Propolis telah lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat, terutama sebagai antibiotic, anti-cancer, dan untuk penyembuhan luka. Analisis kimia menunjukkan bahwa, propolis mengandung 149 macam senyawa dan 22 mineral, di mana flavonoid, asam cafeat (3,4-hydroxycinnamic acid), sesquiterpen, dan coumarin merupakan senyawa utama.¹⁰ Studi farmakologik memberi gambaran bahwa, propolis adalah senyawa yang berperan sebagai anti inflamasi, imunomodulator, anti-oxidative, anti-aksi complement, menghambat fungsi granulosit dan sintesis eicosanoid. Selain itu propolis juga mampu menghambat sintesis DNA dan produksi sitokin anti inflamasi Th1 dan Th2 dari sel T.¹¹ Di sisi lain propolis mampu meningkatkan produksi TGF β 1 sebagai mediator penghambat aksi immunosupresive pada sel efektor.¹² Sebagai anti-oxidative, propolis terbukti mampu menurunkan kadar malondialdehid (MDA) secara signifikan pada liver, ginjal, dan otak,⁶ yang mempunyai cukup banyak asam lemak tidak jenuh mirip dengan spermatozoa.^{7,8} Berbagai efek tersebut dimanifestasikan oleh 20 flavonoid dan derivat asam cafeat yang terkandung dalam propolis.¹¹

Metode

Di dalam rancangan penelitian *Post Test only Control Group Design*, digunakan 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 yaitu: aquades, mendapat 3 ml aquadest.

MSG, diberi 3 ml larutan yang mengandung MSG 25 mg. Propolis 9, mendapat 3 ml larutan yang mengandung MSG 25 mg dan propolis 9 mg. Propolis 18, diberi 3 ml larutan yang mengandung MSG 25 mg dan propolis 18 mg. Propolis 27, mendapat 3 ml larutan yang mengandung MSG 25 mg dan propolis 27 mg. Penentuan dosis MSG dilakukan dengan mengkonversi dosis MSG yang dikonsumsi manusia (1.2 gr/hari) kepada dosis tikus dengan berat badan 200 gr menjadi 21.6 mg, kemudian dibulatkan menjadi 25 mg perhari. Dosis MSG 25 mg juga telah terbukti mampu menurunkan kualitas spermatozoa pada penelitian sebelumnya.¹³ Demikian pula dengan dosis propolis pada manusia (500 - 1500 mg/hari) yang dikonversi pada dosis tikus menjadi 9 mg, 18 mg, dan 27 mg perhari. Tikus kemudian dimasukkan ke dalam kandang secara koloni sesuai dengan groupnya selama satu minggu untuk menjalani aklimatisasi. Makanan yang diberikan adalah makanan tikus sehari-hari dan air berasal dari Perusahaan Daerah 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 setiap hari pada pukul 7 pagi dan 6 sore. Di akhir penelitian pada setiap tikus untuk pemeriksaan konsentrasi dan morfologi dilakukan pengambilan ductus deferens sepanjang 2 cm dimulai dari cauda epididimis

sampai ampula vas deferens kemudian diurut sebanyak 3 kali. Hasilnya ditampung dalam gelas ukur yang berisi garam fisiologis dengan perbandingan 1 : 1 sambil diaduk, kemudian dilakukan pemeriksaan konsentrasi dan morfologi spermatozoa sesuai standart WHO.

Untuk membedakan apakah terdapat perbedaan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa secara bermakna di antara group dilakukan analisis statistik *one way analysis of variance* (anova), kemudian dilanjutkan dengan uji poshoct HSD Tukey. 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 dengan BB \pm 200 gr yang dibiakkan secara *inbred*, 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 konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa seperti tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Proteksi Spermatozoa dengan Propolis terhadap ROS yang diinduksi oleh *Monosodium Glutamat* (MSG)

Variabel	Aquadest (Rerata-SD)	MSG (Rerata-SD)	Propolis 9 (Rerata-SD)	Propolis 18 (Rerata-SD)	Propolis 27 (Rerata-SD)	P
Konsentrasi (10 ⁶ /ml)	5.300 \pm 0.640	3.320 \pm 1.064	5.320 \pm 0.334	5.840 \pm 0.536	7.160 \pm 0.909	0.000
Morfologi (%)	98.40 \pm 0.894	92.60 \pm 1.949	96.80 \pm 1.643	99.60 \pm 0.547	100 \pm 0.000	0.000
BB (gr)	165,90 \pm 0.547	166.32 \pm 0.875	166.30 \pm 1.007	166.96 \pm 0.559	167.16 \pm 0.882	0.116

Hasil penelitian multicenter WHO pada tahun 1982 – 1985 menyebutkan bahwa 20% kasus infertilitas berasal dari faktor pria, 38% berasal dari faktor wanita, 27% merupakan faktor yang berasal dari keduanya, sedangkan 15% sisanya belum tentu berasal dari salah satu anggota partner.¹⁶ Menurut Muratori dkk pada th 2008, bahwa infertilitas faktor pria murni atau kombinasi dengan faktor wanita mempunyai sumbangan terhadap infertilitas sampai 50%.¹⁷ Angka infertilitas tersebut kemungkinan semakin meningkat, akibat penurunan fungsi sperma yang disebabkan oleh reactive oxygen species (ROS).^{7,18,19} Bukti menunjukkan bahwa, saat ini 30% sampai 80% dari kasus infertilitas pria disebabkan oleh stress oxidative spermatozoa yang berhubungan dengan berbagai faktor predisposisi. Faktor predisposisi yang dimaksud adalah: spermatozoa immature, kapasitas antioxidant yang rendah pada seminal plasma dan spermatozoa, inflamasi pada saluran reproduksi, serta berbagai senyawa kimia yang dapat menginduksi produksi ROS pada saluran reproduksi termasuk MSG.^{7,8,20} Untuk melindungi sel akibat serangan ROS, tubuh menyediakan system pertahanan biokimiawi guna menangkal efek ROS dengan cara membatasi produksi ROS. Namun kapasitas pembentukan antioksidan dalam plasma dan spermatozoa sangat rendah, sehingga memerlukan input dari luar untuk menjaga keseimbangan prooksidan dan antioksidan.^{7,8} Dikenal dua macam antioksidan yaitu antioksidan preventif dan *chain breaking reaction*.²¹ Antioksidan preventif adalah antioksidan yang mampu menghambat pembentukan ROS pada fase inisiasi seperti enzim catalase, peroksidase, dan glutathion peroksidase.⁸ Antioksidan preventif, tetap menyisakan ROS meskipun dalam jumlah sedikit. Jumlah ROS yang tersisa akan bertambah besar apabila ditambah oleh ROS

yang yang diinduksi oleh MSG dari luar (bumbu masak). Oleh karena itu diperlukan *Chain breaking* antioksidan yang berguna untuk memecah rangkaian reaksi ROS pada fase propagasi.

Antioksidan yang termasuk golongan *Chain breaker* terbagi menjadi dua bagian. Bagian yang pertama adalah antioksidan yang larut dalam air seperti: asam urat, bilirubin, albumin, thiols, dan vitamin C. Bagian yang kedua adalah antioksidan yang larut dalam lemak meliputi: vitamin E, carotenoid, ubiquinol, polifenol (flavonoid), asam caffeat phenetyl ester (CAPE), dan propolis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa propolis terbukti dapat memproteksi spermatozoa dari kerusakan akibat serangan ROS yang diinduksi oleh MSG. Hasil studi Koyu dkk tentang CAPE yang merupakan komponen propolis juga terbukti mampu memproteksi liver dari stress oksidatif yang diinduksi oleh radiasi medan electromagnetic 900 MHz.¹⁵ El-Sayed dari Azhar University Mesir juga melaporkan bahwa propolis dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu menurunkan kadar MDA pancreas dan NO ke kadar normal serta dapat meningkatkan aktivitas glutathion tereduksi dan catalase pada tikus diabetes yang diinduksi dengan streptozotocin.²² Berbagai data dari hasil penelitian tersebut, selanjutnya dapat dideduksikan bahwa propolis dapat memproteksi sel akibat stress oksidatif baik pada spermatozoa atau sel somatic lain akibat serangan radikal bebas (ROS).

Peningkatan kadar MDA yang diinduksi oleh MSG ternyata juga dapat diturunkan secara bermakna dengan pemberian secara tunggal atau kombinasi antara vitamin C, vitamin E, dan quercetin.^{6,13} Oleh karena itu untuk memproteksi kerusakan spermatozoa akibat serangan ROS oleh sebab apapun dapat dilakukan dengan terapi tunggal atau kombinasi vitamin C, vitamin E,

quercetin, melatonin, dan propolis, namun pemberian antioksidan kombinasi lebih disukai. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Mengacu pada hasil penelitian ini dan pembahasannya, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian propolis dengan dosis 9, 18, dan 27 mg dua kali sehari selama 30 hari mampu meningkatkan konsentrasi dan persentase morfologi normal spermatozoa pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi dengan MSG.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Dra. Aditya Marianti, M.Si sebagai kepala Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dan seluruh staf yang membantu dalam penelitian ini. Semoga amal dan budi baik beliau diterima oleh Allah Tuhan Yang Maha Esa.

Daftar Pustaka

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.
5. Park CH, Choi SH, Piao Y, Kim S, et al. Glutamate and aspartate impair memory retention and damage hypothalamic neurons in adult mice. *Toxicol Lett* 2000; 115: 117 – 25.
6. 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.
8. Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatry role of vitamin C, vitamin E, and quercetine.
9. Kefer JC, Agrawal A, Sabanegh E. role of antioxidant in the treatment of male infertility. *International journal of Urology* 2009; 16, 449 – 57.
10. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress and male infertility. *Indian J Med Res* 2009; 129, 357 – 67.
11. Pavlovic V, Cekik 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.
12. Walker P, Crane E. Constituents of Propolis. *Apidologie* 1987; 18, 4, 327 - 34.
13. Burdock GA. Review of the biological property and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem. Toxicol* 1998; 36, 347 – 63.
14. Ansorge S, Reinhold D, Lendeckel U. Propolis and Some of its constituens Down-Regulate DNA Synthesis and Inflammatory Cytokine Production but induce TGF- α 1 Production of Human Immune Cells. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen* 2003; 580 - 89
15. Taufiqurrachman, Widayati E. Potensi restorasi vitamin c terhadap kualitas spermatozoa akibat paparan monosodium glutamat (Studi Experimental pada Tikus Jantan Galur Wistar). *MAI* September 2010; 35-36, 1402 - 14.

16. Agrawal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online* 2004; 616 – 27.
17. 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* 2009; 25, 429 – 34.
18. World Health Organization. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of infertile couples. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2000.
19. Muratori M, Luconi M, Marchiani S, et al. Molecular markers of human sperm functions. *International Journal of Andrology* 2008; 32: 25–45.
20. Auger J, Eustache F, Andersen AG *et al.* Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities. *Hum. Reprod.* 2001; 16: 2710–7.
21. Kenkel S, Rolf C, Nieschlag E. Occupational risks for male fertility: An analysis of patients attending a tertiary referral centre. *Int. J. Androl.* 2001; 24: 318–26.
22. Aitken J. Oxidative stress in the male germ line and its role in the etiology of male infertility & genetic disease. *RBM online* 2003; 7, (1): 2003; 65 - 70.
23. 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 1993; 365 -71.
24. El-sayed EM, Abo-Salaem OM, Aly HA, Mansour AM. Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Pak. J. Pharm. Sci* 2009; 2 (22), 168 - 74