PENGARUH AKTIVITAS FISIK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) SPERMA TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI *TRIMETHYLTIN*

Karya Tulis Ilmiah

untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

Program Studi Kedokteran
Program Sarjana

oleh:

Yoni Aulia Masruroh
17711051

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021

THE EFFECT OF PHYSICAL ACTIVITY ON MALONDIALDEHID (MDA) LEVELS OF SPRAGUE DAWLEY RATS IN *TRIMETHYLTIN* INDUCTION

Scientific Writing

as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine

by:

Yoni Aulia Masruroh
17711051

FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH AKTIVITAS FISIK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) SPERMA TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI *TRIMETHYLTIN*

Disusun dan diajukan oleh:

Yoni Aulia Masruroh
17711051

Telah diseminarkan tanggal : 05 Januari 2021
dan telah disetujui oleh:

Penguji	Pembimbing
dr. Linda Rosita,M.Kes,Sp.PK(K)	dr. Titis Nurmasitoh,M.Sc
NIK 017110102	NIK 057110414

Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana

dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed.,Ph.D
NIK 047110101

Disahkan
Dekan

dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK(K)
NIK 017110102

PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama	:	Yoni Aulia Masruroh
NIM	:	17711051
Judul KTI	:	Pengaruh Aktivitas Fisik Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Sperma Tikus Sprague Dawley yang di Induksi *Trimethyltin*
Dosen Pembimbing	:	dr. Titis Nurmasitoh, M.Sc

Dengan ini menyatakan bahwa :

Memberi Ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII, berupa :

- Laporan KTI (full text)
- ~~Abstrak saja~~

(coret yang tidak diperlukan)

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 05 Januari 2021

Dosen Pembimbing	Yang Menyatakan
dr. Titis Nurmasitoh, M.Sc	Yoni Aulia Masruroh
NIK 157110402	NIM 17711051

DAFTAR ISI

Halaman Judul (Bahasa Indonesia)..... i
Halaman Judul (Bahasa Inggris)..... ii
Halaman Pengesahan..... iii
Halaman Pernyataan Publikasi..... iv
Daftar Isi..... v
Daftar Tabel..... vi
Daftar Gambar..... vii
Halaman Pernyataan..... viii
Kata Pengantar..... ix
Intisari..... x
Abstract..... xi
BAB I PENDAHULUAN..... 1
1.1. Latar Belakang..... 1
1.2. Perumusan Masalah..... 3
1.3. Tujuan Penelitian..... 3
1.4. Manfaat Penelitian..... 3
1.5 Keaslian Penelitian..... 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 5
2.1. Tinjauan Pustaka..... 5
2.2 Kerangka Teori..... 16
2.3 Kerangka Konsep..... 17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN..... 18
3.1 Jenis Penelitian..... 18
3.2 Populasi dan Subjek Penelitian..... 18
3.3 Variabel Penelitian..... 20
3.4 Definisi Operasional..... 20
3.5 Instrumen Penelitian..... 21
3.6 Alur Penelitian..... 22
3.7 Analisis Data..... 24
3.8 Etika Penelitian..... 24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... 25
BAB V SIMPULAN DAN SARAN..... 34
DAFTAR PUSTAKA..... 35
LAMPIRAN..... 38

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian penelitian…….....4
Tabel 2. Rata-rata Kadar Malondialdehyde (MDA)…….. 26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Nilai Referensi Analisis Sperma..... 1
Gambar 2. Efek *Trimethyltin* pada Resproduksi..... 2
Gambar 3. Patogenesis *Trimethyltin*.....6
Gambar 4.Proses Pembentukan Malondialdehyde.....7
Gambar 5. Reaksi MDA-TBA.....8
Gambar 6. Proses Hormonal..... 11
Gambar 7. Proses Spermatogenesis..... 13
Gambar 8. Struktur Epididymis.....14
Gambar 9 Kerangka Teori.....16
Gambar 10. Kerangka Konsep.....17
Gambar 11. Alat *Treadmill* pada Tikus.....22
Gambar 12. Diagram Alur Penelitian.....23
Gambar 13. Kadar MDA pada tiap kelompok.....27
Gambar 14. Peningkatan ROS selama aktivitas Fisik.....29

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 05 Januari 2021

Yoni Adlia Nasruroh

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullah Wabarakaatuh,

Dengan mengucapkan *Alhamdulillahirabbil'alamin,* segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadirat Allah SWT, karena berkat petunjuk, rahmat dan karunia-Nya penyusunan skripsi yang berjudul " Pengaruh Aktivitas Fisik Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Sperma Tikus Sprague Dawley yang di Induksi *Trimethyltin* dapat diselesaikan dengan lancar.

Proses panjang telah penulis lalui dalam rangka menyelesaikan penulisan skripsi ini. Setelah melalui hambatan dan rintangan yang dihadapi dalam penyusunannya, namun berkat kehendak-Nyalah serta dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis berhasil menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, dengan penuh kerendahan hati, pada kesempatan ini patutlah kiranya penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua tercinta, Ayahanda Fariyanto dan Ibunda Suprihatin yang telah berjuang dengan sangat keras dan mendukung Anandamu ini yang sarat akan kelemahan dan kekurangan untuk menggapai mimpi-mimpinya.
2. dr. Titis Nurmasitoh M.Sc. selaku dosen pembimbing. Terimakasih yang luar biasa untuk jasa Ibu yang sangat luar biasa. Dengan kesibukan yang sangat banyak, Ibu tak pernah lelah mendengar keluh kesah dan selalu memberikan solusi dan bimbingan yang luar biasa hingga selesainya penyususnan skripsi ini. Penulis juga memohon maaf atas segala kekuarangan dan kesalahan yang penulis lakukan.
3. dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK.(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia serta selaku dosen penguji karya tulis ilmiah yang telah memberikan banyak masukan, saran, dan ilmu kepada penulis agar mendapatkan hasil penelitian yang baik dan bermanfaat..
4. TIM TMT, terimakasih atas dukungan kalian yang luar biasa, yang telah menemani penelitian ini selama pandemi walaupun kita sedang dirumah saja. Terimakasih banyak kepada Aiya yang telah membantu mengambil data ke PAU ditengah pandemi ini serta Mbk lina yang selalu membantu dalam penulisan naskah proposal ini.
5. Alissa Ana, Yusi Maulina, Farras Intan, dan Enji selaku teman main yang selalu ada waktu untuk mendengarkan keluh kesah kekita jenuh dan lelah dalam menghadapi dunia perkuliahan ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya tulis ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan. Karena itu, penulis memohon saran dan kritik yang sifatnya membangun demi kesempurnaannya dan semoga karya tulis ilmiah ini dapat memberikan manfaat yang baik bagi penulis dan pembaca.

Yogyakarta, 05 Januari 2021

Yoni Aulia Masruroh

PENGARUH AKTIVITAS FISIK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) SPERMA TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG DI INDUKSI *TRIMETHYLTIN*

Yoni Aulia Masruroh[1], Titis Nurmasitoh[2]

[1]Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia
[2]Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

INTISARI

Latar Belakang : *Trimethyltin* yang masuk ke dalam tubuh memberikan efek toksik pada organ testis. TMT dapat meningkatkan jumlah radikal bebas yang memberikan efek terhadap kerusakan jaringan testis. Peningkatan ROS akibat TMT akan menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid sehingga akan menghasilkan produk akhir yaitu Malondialdehid (MDA). Aktivitas fisik intensitas sedang dapat menurunkan kadar MDA serta meningkatkan antioksidan endogen seperti superoxide dismutase secara sistemik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aktivitas fisik sebagai faktor pelindung terhadap kadar MDA sperma yang diinduksi TMT.

Metode: Metode penelitian yang digunakan berupa eksperimental murni dengan metode post test only control group. Terdapat 20 ekor tikus Sprague Dawley jantan yang dibagi dalam 4 kelompok yakni kelompok normal (N), kelompok induksi (I), kelompok olahraga tanpa induksi (O), dan kelompok induksi dan olahraga (IO). Kelompok I dan IO diinduksi TMT dengan dosis 8 mg/kgBB pada hari ke 79 perlakuan. Kelompok O dan IO mendapat intervensi aktivitas treadmill intensitas sedang selama 12 minggu dengan interval 5 kali seminggu. Pengukuran kadar MDA sperma menggunakan metode thiobarbituric acid reacting substances (TBARS).

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar MDA sperma N sebesar 1,92+0,88, I sebesar 3,70+1,06, IO sebesar 3,00+0,06, O sebesar 2,90+0,74. Hasil analisis one-way ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara semua kelompok untuk kadar MDA ($p = 0.03$). Kemudian, dilanjutkan dengan uji post hoc Bonferroni didapatkan nilai $p = 0.024$ antara kelompok N dengan kelompok I.

Kesimpulan : Aktivitas fisik intensitas sedang memiliki efek protektif terhadap peningkatan stres oksidatif dan memiliki potensi untuk mencegah kerusakan akibat induksi TMT.

Kata Kunci : Aktivitas Fisik**,** Malondialdehid , Sperma, *Trimethyltin*

THE EFFECT OF PHYSICAL ACTIVITY ON MALONDIALDEHID (MDA) LEVELS OF SPRAGUE DAWLEY RATS IN TRIMETHYLTIN INDUCTION

Yoni Aulia Masruroh[1], Titis Nurmasitoh[2]

[1] Student of the Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia
[2] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

ABSTRACT

Background: *Trimethyltin which enters the body has a toxic effect on the testicular organs. TMT can increase the number of free radicals which have an effect on testicular tissue damage. The increase in ROS causes an increase in lipid peroxidation so that it will produce the final product, namely Malondialdehyde (MDA). Moderate intensity physical activity can lower MDA levels and increase endogenous antioxidants such as superoxide dismutase. This study aims to determine the effect of physical activity as a protective factor against TMT-induced sperm MDA levels.*

Methods: *The research method used was pure experimental with the method of post test only control group. There were 20 male Sprague Dawley rats divided into 4 groups, namely the normal group (N), the induction group (I), the exercise group without induction (O), and the induction and exercise group (IO). Group I and IO were induced by TMT at a dose of 8 mg / kgBW on the 79th day of treatment. Groups O and IO received moderate intensity treadmill activity intervention for 12 weeks at intervals of 5 times a week. Measurement of sperm MDA levels used the thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) method.*
Results: The results showed that the average MDA level of sperm N was 1.92 + 0.88, I was 3.70 + 1.06, IO was 3.00 + 0.06, O was 2.90 + 0.74. . The results of the one-way ANOVA analysis showed that there were significant differences between all groups for MDA levels (p = 0.03). Then, continued with the Bonferroni post hoc test, the p value = 0.024 was obtained between group N and group I.

Conclusion: *Moderate intensity physical activity has a protective effect against increased oxidative stress and has the potential to prevent TMT-induced damage.*

Keywords*: Physical Activity, Malondialdehyde, Sperm, Trimethyltin*

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infertilitas adalah penyakit sistem reproduksi, yaitu kegagalan untuk mencapai kehamilan setelah 12 bulan atau lebih setelah berhubungan seksual teratur tanpa menggunakan kondom (Malhotra *et al*, 2013). Masalah infertilitas dapat disebabkan oleh beberapa aspek seperti masalah kesuburan laki-laki (20% kasus), masalah kesuburan perempuan (38% kasus), serta faktor yang berasal dari keduanya (27% kasus). Infertilitas pada laki-laki dapat terjadi pada kondisi seperti berkurangnya jumlah sperma atau oligozoospermia, berkurangnya motilitas sperma atau asthenozoospermia, berkurangnya vitalitas sperma atau necrozoospermia, abnormalitas morfologi sperma atau teratozoospermia, atau gabungan dari berbagai kelainan tersebut (Anawalt & Page, 2017). Gangguan pada jumlah, motilitas, dan morfologi sperma yang disebabkan oleh perubahan mekanisme pada bagian *pretesticular*, *testicular*, maupun *post testicular*. Berdasarkan standar WHO, parameter-parameter lain yang dapat digunakan untuk menentukan kondisi sperma tercantum pada (gambar 1) (Cao, Lin, Li, & Yuan, 2011).

Parameter	Lower reference limit
Semen volume (ml)	1.5 (1.4–1.7)
Total sperm number (10^6 per ejaculate)	39 (33–46)
Sperm concentration (10^6 per ml)	15 (12–16)
Total motility (PR+NP, %)	40 (38–42)
Progressive motility (PR, %)	32 (31–34)
Vitality (live spermatozoa, %)	58 (55–63)
Sperm morphology (normal forms, %)	4 (3.0–4.0)
Other consensus threshold values	
pH	≥7.2
Peroxidase-positive leukocytes (10^6 per ml)	<1.0
MAR test (motile spermatozoa with bound particles, %)	<50
Immunobead test (motile spermatozoa with bound beads, %)	<50
Seminal zinc (μmol/ejaculate)	≥2.4
Seminal fructose (μmol/ejaculate)	≥13
Seminal neutral glucosidase (mU/ejaculate)	≥20

Gambar 1. Nilai Referensi Analisis Sperma Manusia

Infertilitas pada pria dapat disebabkan oleh gangguan maturasi sperma dengan prevalensi kasus sebanyak 60%. Sperma terbentuk melalui proses spermatogenesis pada testis dan setelah terbentuk akan berjalan menuju tubulus panjang yang disebut sebagai epididymis. Spermatozoa akan transit di epididymis dan mengalami pematangan menjadi sperma yang mampu membuahi sel telur. Pematangan spermatozoa bergantung pada lingkungan dari epitel epididymis dalam berinteraksi dengan protein yang disintesis melalui peristiwa molekuler dan biokimia. Epididymis dijadikan bahan penelitian karena merupakan struktur organ pada testis yang penting sebagai tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa sebelum diejakulasikan (Cornwall, 2009). Salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi dan menyebabkan infertilitas dapat berasal dari bahan kimia alkytins seperti TMT. *Trimethyltin* merupakan zat yang terdapat pada polivinil klorida (PVC) dan produk silikon seperti peralatan dapur, kemasan makanan, dan fungisida. Senyawa TMT berfungsi sebagai produk sampingan dari stabilisator plastik. Toksisitas TMT menyebabkan kerusakan pada sistem limbik, korteks serebral dan batang otak serta paparan TMT dalam jangka panjang menyebabkan TMT terakumulasi dalam tubuh (Kim et al, 2019).

Trimethyltin yang masuk ke dalam tubuh memberikan efek toksik, terutama pada sel saraf menyebabkan kondisi neurotoksisitas. Selain berefek pada sistem saraf, TMT juga dapat mengganggu saluran reproduksi, terutama saluran reproduksi laki-laki. *Trimethyltin* dapat menghambat produksi testosteron pada sel Leydig sehingga meregulasi penurunan ekspresi gen sel Leydig, mengurangi protein kinase (PKA), serta mengurangi jumlah sel Leydig yang mengakibatkan produksi spermatozoa akan terganggu. *Trimethyltin* menyebabkan kerusakan pada sel, termasuk sel Leydig dan sperma melalui mekanisme stres oksidasi (Ma et al, 2019). Selain itu, senyawa TMT juga dapat berefek pada proses maturasi sperma dalam epididymis. Proses maturasi sperma di dalam epididymis dipengaruhi beberapa protein yang disekresikan oleh epithelium seperti carbonyl reductase P34H, CD52, and GPR64. Epididymis yang terpapar oleh TMT dapat menyebabkan terjadinya stres oksidasi sehingga mempengaruhi jumlah dan produksi protein pengatur pematangan spermatozoa (Guerriero et al, 2014).

Malondialdehid (MDA) adalah suatu marker radikal bebas di dalam tubuh. Konsentrasi MDA yang tinggi di dalam tubuh, baik di darah maupun jaringan Malondialdehid (MDA) adalah suatu marker radikal bebas di dalam tubuh. Konsentrasi MDA yang tinggi di dalam tubuh, baik di darah maupun jaringan

Aktivitas fisik yang teratur, terukur, dan terprogram dapat meningkatkan antioksidan endogen serta mencegah terjadinya stres oksidasi di dalam tubuh. Peningkatan antioksidan setelah aktivitas fisik terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu peningkatan aktivitas protease dan aktivitas perbaikan enzim DNA serta peningkatan antioksidan enzimatik sel. Kadar dan aktivitas antioksidan endogen yang optimal akibat olahraga yang terprogram diharapkan dapat menangkal produksi ROS yang berlebihan sehingga mencegah stres oksidasi yang dapat merusak sel, termasuk sel-sel pada epididymis dan sperma. Penurunan stres oksidasi tersebut akan dibuktikan dengan memeriksa kadar MDA jaringan (Funk et al., 2011).

Berdasarkan fakta bahwa kasus infertilitas yang semakin meningkat dan banyaknya bukti mengenai manfaat aktivitas fisik, maka peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui efek aktivitas fisik terhadap kadar malondialdehid (MDA) sperma epididymis tikus Sprague Dawley yang di induksi TMT.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah aktivitas fisik memberikan efek pelindung pada kadar MDA epididymis Tikus Sprague Dawley yang di induksi TMT dibandingkan dengan kelempok tanpa aktivitas fisik pada tikus yang di induksi TMT?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh aktivitas fisik sebagai faktor pelindung terhadap sperma tikus putih strain Sprague Dawley yang di induksi TMT dengan mengukur kadar MDA epididymis.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian yang ingin dicapai, maka penelitian ini diharapkan memiliki manfaat untuk:

1. Bagi Peneliti

   Penelitian ini dapat menambah pengetahuan dan menjadi sumber informasi ilmiah terkait pengaruh aktivitas fisik terhadap

malondialdehid (MDA) sperma pada hewan coba yang sebelumnya di induksi dengan TMT.

2. Bagi Masyarakat

   Penelitian ini dapat menambah informasi dan pengetahuan kepada masyarakat umum mengenai pengaruh aktivitas fisik terhadap kadar malondialdehid sperma pasien yang terpapar TMT.

3. Bagi Peneliti lain

   Penelitian ini dapat digunakan untuk menjadi dasar penelitian selanjutnya.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian penelitian

Judul Penelitian	**Persamaan Penelitian**	**Perbedaan Penelitian**
Trimethyltin Reduces Testosterone Production in Adult Leydig Cells in Rats (Ma *et al*, 2019)	Meneliti pada tikus yang di induksi TMT dan mengevaluasi organ reproduksi.	Penelitian sebelumnya mengevaluasi kadar hormon seperti FSH, LH dan testosteron.
Voluntary exercise protects hippocampal neurons from TMT *injury: Possible role of interleukin-6 to modulate tumor necrosis factor receptor-mediated neurotoxicity* (Funk *et al*, 2011)	Meneliti tentang pengaruh aktivitas fisik pada tikus yang di induksi TMT.	Penelitian sebelumnya mengevaluasi efek aktivitas fisik terhadap hippocampus yang mengalami injury
Aerobic exercise improves spermatogenesis of male rats:Results of iTRAQ-based proteomic analysis of the testis tissue (Guo *et al,* 2017)	Meneliti tentang pengaruh aktivitas fisik terhadap peningkatan spermatogenesis.	Penelitian sebelumnya mengevaluasi efek aktivitas fisik terhadap spermatogenesis tanpa di induksi TMT.

BAB II.TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

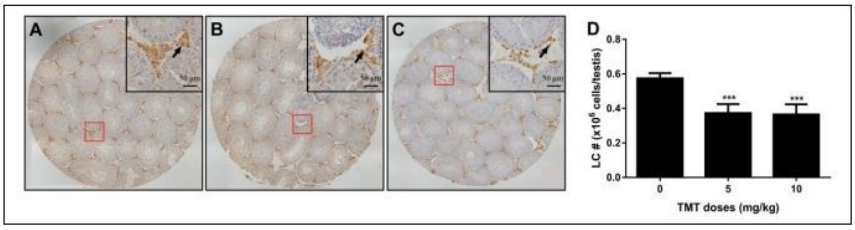
2.1.1 Toksisitas *Trimethyltin*

2.1.1.1 Pengertian *Trimethyltin*

Trimethyltin chloride adalah salah satu senyawa organotin dengan rumus kimia (CH3)3Sn yang paling banyak digunakan dalam bidang industri dan pertanian. *Trimethyltin* tersebar luas di tanah, sistem perairan, bahan makanan, dan barang-barang rumah tangga. *Trimethyltin* memiliki fungsi sebagai penstabil panas plastik yang baik dan fungisida dalam bidang pertanian (Kim et al, 2019). *Trimethyltin* dalam tubuh manusia dapat menyebabkan degenerasi saraf khususnya hippocampus. Intoksikasi TMT dapat menimbulkan defisit perilaku dan kognitif yang berat pada manusia dan hewan coba, seperti kecacatan memori, kebingungan, kejang, tinnitus, insomnia, dan depresi (Tang et al., 2013).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa terdapat TMT beredar di lingkungan seperti pada air laut sebanyak 0.98 hingga 20 ng/L dan pada air muara ditemukan sebanyak 415 ng/L. Ketika pekerja pabrik organ logam mengikuti tes urin untuk mendeteksi konsentrasi TMT ditemukan kadar TMT sebesar 2,23 hingga 7,93 μM. Kasus lain adalah pada pekerja yang terpapar stabilisator TMT. Para pekerja tersebut terdeteksi memiliki konsentrasi TMT sebesar 3,75 – 13,31 μM di dalam urin (Silva et al, 2018). Paparan TMT di dalam tubuh meningkatkan level reaktif oksigen spesies (ROS), protein karbonil, dan malondialdehid. Peningkatan produksi reaktif spesies oksigen (ROS) dan nitric oxide (NO) menyebabkan proses apoptosis sel. Dosis minimal TMT yang dapat menyebabkan toksik di dalam tubuh adalah sekitar 3 mg/kgBB (Ajoa et al, 2018).

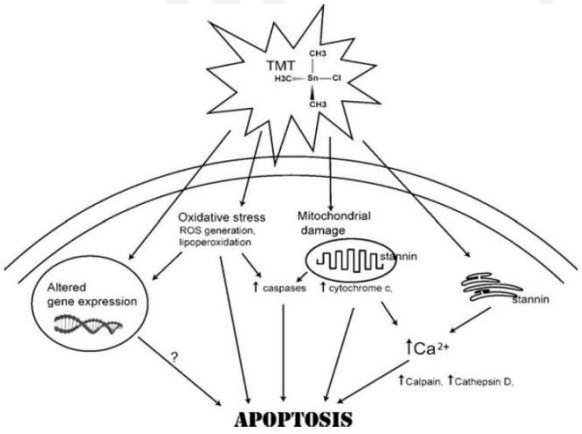
Dosis TMT yang menimbulkan efek toksik pada sperma umumnya harus melebihi 3 mg/kg BB/hari. Dosis tersebut menyebabkan perubahan histologi dalam vesikula seminalis dan epididymis serta mengurangi jumlah sperma. Efek TMT signifikan menurunkan regulasi gen Lhcgr dan Star pada kedua dosis yaitu 5 mg/kgBB dan 10 mg/kgBB serta menurunkan ekspresi gen Cyp17a1 pada dosis 10 mg/kgBB. Hal ini membuktikan bahwa terdapat efek negatif TMT terhadap sel Sertoli dan sel-sel Leydig (Ma et al, 2019).



Gambar 2. Efek *Trimethyltin* pada Reproduksi (Ma *et al*, 2019)

2.1.1.2 Patogenesis *Trimethyltin* di dalam tubuh

Trimethyltin menginduksi kerusakan sel melalui mekanisme peningkatan stres oksidatif, peningkatan kalsium intrasel, dan kerusakan mitokondria. Stres oksidatif meningkatkan produksi reaktif oksigen spesies (ROS) sehingga meningkatkan kadar reaktif spesies nitrogen (RNS) dan lipoperoksida (Funk et al, 2011). Kerusakan mitokondria yang diakibatkan oleh paparan TMT ke protein stanin menyebabkan peningkatan pelepasan sitokrom-c dan aktivasi caspase. Paparan TMT pada retikulum endoplasma menyebabkan terjadinya peningkatan kadar kalsium yang menstimulasi peningkatan calpain dan cathepsin D sehingga menginduksi terjadinya apoptosis sel (Geloso et al, 2011). Efek TMT dalam menyebabkan kerusakan sel dijelaskan dalam gambar 3.



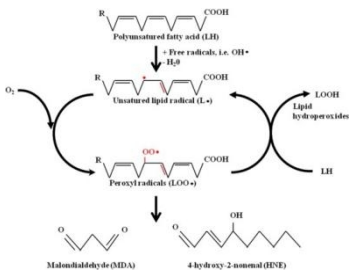
Gambar 3. Patogenesis *Trimethyltin* (Geloso *et al*, 2011)

Trimethyltin yang beredar di dalam tubuh dapat meningkatkan kadar ROS. Sebenarnya, ROS dapat berfungsi positif dalam berbagai proses fisiologis semua sel. ROS berperan pada testis dalam membantu proses proliferasi dan pematangan sel-sel germinal seperti spermatogonia melalui meiosis hingga

terbentuk spermatozoa . Akan tetapi, kadar ROS yang berlebihan di dalam tubuh akan dapat menyebabkan berbagai gangguan, antara lain proses peradangan, peningkatan metabolisme sel, dan oksigenase yang sangat berbahaya karena menyebabkan kerusakan DNA, lipid, dan protein sel (Silva et al, 2018).

Reactive Oxygen Spesies (ROS) adalah senyawa yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok non-radikal. Radikal bebas terdiri atas superoxide anion, hydroxyl radicals (OH) dan peroxyl radical. Kelompok non-radikal berupa hydrogen peroxide (H2O2) dan organic peroxide (ROOH), tidak bersifat radikal namun dapat mengoksidasi berbagai senyawa dalam sel (Ayala et al, 2014). Membran sel memiliki komponen terpenting berupa fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Komponen ini mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap radikal bebas terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lipid.Peroksidasi lipid ini terjadi melalui tiga tahapan, yaitu tahap inisiasi, propagasi, dan terminasi.

Proses inisiasi menghasilkan radikal karbon yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Apabila senyawa ini berikatan dengan oksigen, maka akan dapat menghasilkan senyawa radikal peroksil. Propagasi ditandai dengan semakin banyaknya senyawa peroksil dan akan menghasilkan pembentukan lipid hidroperoksida yang merupakan produk primer peroksidase lipid dan bersifat sitotoksik. Apabila lipid hidroperoksida dikatalisis oleh logam transisi, maka akan menghasilkan radikal lipid alkalosis yang jika mengalami proses pemecahan lebih lanjut akan menjadi senyawa aldehida. Senyawa aldehida ini berupa malondialdehid (MDA), propanal, dan 4-hiroksinoonemal (4-HNE). Tahap terakhir yaitu terminasi, di mana antioksidan berusaha bekerja menghambat proses propagasi untuk tidak menghasilkan senyawa radikal peroksil yang dapat memicu terjadinya ROS secara berlebihan (Gambar. 4) (Barrera et al, 2018).

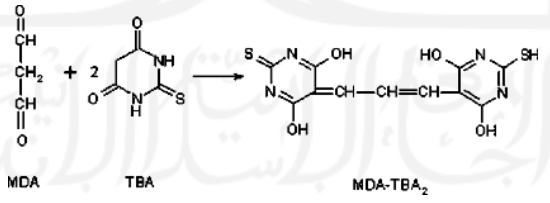


Gambar 4. Proses Pembentukan Malondialdehyde (Barrera *et al*, 2018)

2.1.2 Malondialdehide

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa aldehid yang terbentuk oleh peroksidasi lipid dalam tubuh dan digunakan sebagai indikator adanya reaksi oksidasi. Peroksidasi lipid dihasilkan oleh asam lemak ganda tak jenuh (PUFA) dan stress oksidasi pada membran plasma yang menyebabkan hilangnya integritas membran yang diproduksi dalam kondisi stress. Peningkatan kadar MDA dapat menjadi indikator dari beberapa penyakit degeneratif, seperti penuaan, kanker, diabetes melitus dan penyakit jantung koroner. Senyawa MDA dihasilkan melalui proses enzimatik dan non enzimatik, proses enzimatik MDA dihasilkan melalui sintesis tromboksan A2. Sedangkan pada proses non enzimatik MDA dapat dihasilkan melalui peroksidasi lipid (Ayala et al, 2014).

Malondialdehid dapat diukur melalui beberapa macam metode seperti uji Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) dan uji High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Spirlandeli et al, 2014). Metode HPLC memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas tinggi untuk menentukan kadar MDA namun membutuhkan peralatan khusus dan biaya yang lebih mahal dari metode TBARS. Metode yang paling sering dilakukan adalah uji Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) dengan memanfaatkan adanya 2-thiobarbituric yang bereaksi dengan MDA saat dipanaskan dengan suhu sekitar 95% dalam keadaan asam. TBA-MDA akan dideteksi dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 532-535 nm (Gambar 5.) (Singh et al, 2014).



Gambar 5. Reaksi MDA-TBA (*Grotto et al*, 2009)

Malondialdehid banyak digunakan untuk parameter stres oksidasi karena merupakan produk yang paling mutagenik dari peroksidasi lipid. Malondialdehid efektif karena ketersediaan metode dan sensitivitas nya dalam mengukur peroksidasi lipid serta merupakan parameter yang paling umum dan terpercaya untuk menentukan adanya stres oksidasi (Ayala et al, 2014)

2.1.3 Hubungan *Trimethyltin* dengan MDA sperma

Spermatogenesis dimediasi oleh adenosine monofosfat (cAMP) sebagai jalur pensinyalan intraseluler primer pada sel testis. Sejumlah cAMP menstimulasi protein kinase (PKA) dibantu oleh ROS. Akan tetapi, jika ROS yang tersedia berlebihan, justru dapat mengganggu beberapa jalur pensinyalan. *Trimethyltin* menghambat produksi testosteron pada sel Leydig tikus dewasa karena penurunan ekspresi gen Lhcgr dan STAR. Hal ini menyebabkan sel Leydig tidak mampu menstimulasi hormon LH sehingga mengakibatkan turunnya hormon testosteron yang diproduksi. *Trimethyltin* juga memiliki efek negatif pada sel Sertoli, yaitu menurunkan ekspresi gen Fshr dan Sox9 yang sangat penting untuk fungsi dan perkembangan sel tersebut. *Trimethyltin* juga dapat menyebabkan terjadinya stress oksidasi pada epididymis dengan mempengaruhi jumlah dan produksi protein-protein pengatur regulasi proses pematangan spermatozoa. Protein tersebut adalah protein yang disekresikannya oleh epithelium seperti carbonyl reductase P34H, CD52, and GPR6 sehingga jika protein ini dihambat akan menyebabkan gangguan pada proses maturasi sperma dalam epididymis (Guerriero et al, 2014).

Sperma lebih rentan terpapar stress oksidasi karena terbatasnya sistem enzim antioksidan yang dimiliki serta memiliki tingkat asam lemak tak jenuh ganda yang tinggi. Lipoperoksida dan malondialdehid sangat berbahaya bagi sperma karena merusak membran plasma, protein, dan DNA serta meningkatkan apoptosis sel. Testis sebenarnya mengandung antioksidan yang baik untuk menghambat stress oksidasi agar fungsi spermatogenik dan steroidogenic tetap terjaga. Akan tetapi, apabila terjadi paparan ROS dalam kadar yang berlebihan, antioksidan tersebut tidak akan dapat menangkal stres oksidasi yang terjadi (Vaamonde et al , 2017).

2.1.4 Testis dan Spermatogenesis

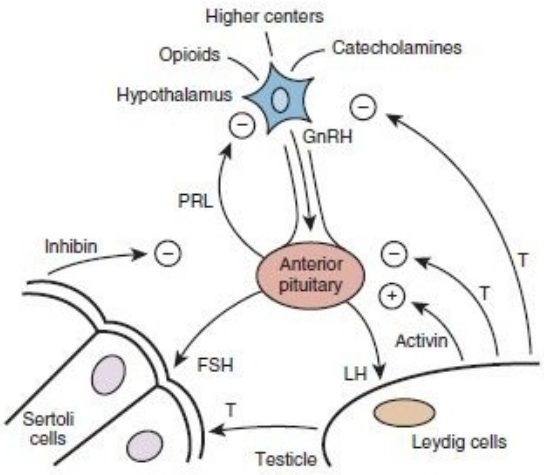
Testis pada mencit memiliki dua fungsi yaitu spermatogenesis yang berhubungan dengan endokrin melalui sel leydig yang akan menghasilkan testosteron dan menghasilkan produk androgen melalui organ eksokrin pada epitelium seminiferus yang membantu dalam proses spermatozoa. Spermatogenesis pada hewan tikus terjadi setelah 50 hari setelah kelahiran yang akan membelah menghasilkan spermatozoid melalui proses mitosis, meiosis dan diferensiasi sel. Proses yang pertama dilakukan adalah mengubah spermatid

menjadi spermatozoa melalui proses spermatogenesis, kemusia spermatozoa akan mengalami spermiasi pada lumen tubulus. Proses selanjutnya adalah spermatogonium yang akan menghasilkan beberapa sel sperma diantaranya sel tipe A, tipe intermediet, dan tipe B . sel tipe A akan berdiferensiasi menjadi sel AO (sel induk) yang terbentuk di membran basal dan akan membelah menjadi 2 sel anak spermatogonium yaitu A1. Pada proses spermatogenesis tikus terdiri dari 14 tahapan siklus dengan waktu 12 hari untuk menyelesaikan satu siklus. Spermatogonium membutuhkan waktu 4 siklus hingga menghasilkan spermatozoa sehingga waktu total yang dibutuhkan adalah 48 hari (Maynard & Doen, 2019).

Sistem reproduksi pada manusia melibatkan beberapa proses hormonal hipotalamus-hipofisis-gonad (HPG), spermatogenesis, dan produksi androgen dalam testis, serta pematangan dan penyaluran sperma. Aksis HPG memiliki peran penting dalam perkembangan proses fisiologi seperti penentuan jenis kelamin selama embriogenesis, pematangan seksual saat pubertas, dan menghasilkan testosteron dalam produksi sperma (Sherwood, 2013). Terdapat dua jenis hormon yang berperan dalam proses reproduksi yaitu peptida dan steroid. Contoh hormon peptide adalah luteinizing hormone (LH) dan follicle stimulating hormone (FSH). Sedangkan contoh hormon steroid yang berfungsi dalam sistem reproduksi adalah testosteron dan estradiol (Turek & Frsm, 2019).

Hormon yang diproduksi dalam hipotalamus berperan penting dalam proses pelepasan gonadotropin (GnRH) atau hormon pelepas hormon luteinizing (LHRH). Senyawa GnRh memiliki fungsi merangsang sekresi LH dan FSH dari hipofisis anterior. Senyawa FSH dan LH hanya dapat di sekresi dalam gonad dengan mengaktifkan adenilat siklase yang menyebabkan peningkatan siklik adenosin monofosfat intra seluler (cAMP) (Tortora & Derrickson, 2014). Senyawa LH menstimulasi steroidogenesis dalam sel Leydig dengan menginduksi perubahan mitokondria dan kolesterol menjadi DHE. Senyawa FSH berikatan dengan sel Sertoli dan membran spermatogonium dalam testis sebagai stimulator utama dalam perkembangan tubulus seminiferus. FSH berperan penting dalam inisiasi spermatogenesis selama proses pubertas. Ketika dewasa, peran fisiologi FSH adalah menstimulasi proses spermatogenesis. Hipofisis anterior juga mengeluarkan hormon glikoprotein seperti hormon adrenocortocotropic (ACTH), hormon pertumbuhan (GH), dan hormon

pertumbuhan (GH), dan hormon perangsang tiroid (TSH). Hormon glikoprotein ini memiliki efek signifikan dalam sistem reproduksi pria (Gambar.6) (Turek & Frsm, 2019).



Gambar 6. Proses Hormonal Hipotalamus-Hipofisis-Gonad (Turek & Frsm, 2019)

Testis pada mencit berbentuk bulat yang memiliki panjang sekitar 20 mm dengan diameter 14 mm. Testis dilapisi oleh tunika albuginea berwarna biru keputihan dengan tebal 20-40 μm pada lapisan luarnya. Lapisan viseral testis terdiri dari tunica vagibalis (bagian dari prosesus vaginalis yang membungkus testis) yang bersentuhan dengan tunika albuginea. Bagian dorsal dari testis terdapat jaringan ikat yaitu mesorchium yang mengandung pembuluh darah dan saluran eferen yang mengarah dari tubulus seminiferus menuju epididimis. Tunika albuginea terletak pada lapisan vaskular yaitu tunika vaskular. Epitel tubulus seminiferus terdiri dari lapisan badal Sertoli, tubulus dikelilingi oleh jaringan ikat yang longgar dan lapisan sel adventitial pipih (Maynard & Doen, 2019).

Testis pada manusia merupakan organ berbentuk ovoid berwarna putih yang memiliki ukuran panjang 4,5 cm hingga 5,1 cm. Testis terdiri atas tunica albuginea yang terdiri dari sel-sel otot polos berfungsi sebagai lapisan pelindung testis dan membantu meningkatkan aliran cairan tubulus seminiferus.Testis dilindungi oleh skrotum lapisan pembungkus yang terdiri dari otot dan kulit, bagian posterolateral skrotum terdiri dari epididymis. Testis tersebut mendapatkan suplai aliran darah berasal dari vena renalis kiri yang mengalirkan darah ke vena testis kiri dan vena cava inferior mengalirkan darah ke vena

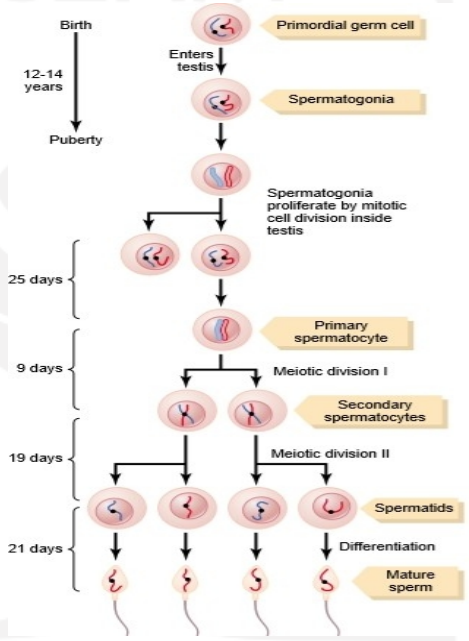
testis kanan (Kretser et al , 2015). Selain itu, terdapat parenkim testis yang terdiri dari beberapa septa membagi tubulus seminiferus menjadi lobus-lobus berisi arteri sentrifugal. Tubulus seminiferus dan testis dihubungkan oleh rate testis dengan membentuk 6 sampai 12 duktus eferen. Duktus eferen tersebut berfungsi sebagai tempat aliran cairan testis dan spermatozoa menuju epididymis. (Tortora & Derrickson, 2014).

Testis memiliki beberapa fungsi seperti menghasilkan sperma dan memproduksi hormon testosteron. Hormon testosteron diproduksi oleh sel Leydig atau sel interstitial yang berada pada tubulus seminiferus. Sekitar 80 % struktur testis terdiri atas tubulus seminiferus sebagai tempat proses spermatogenesis. Tubulus seminiferus dapat memproduksi sperma hingga 2 x 108 /ml setiap hari pada pria dewasa. Sperma tersebut diproduksi melalui proses spermatogenesis yang dipengaruhi hormon gonadotropin hipofisis anterior sejak awal pubertas ketika berumur 13 tahun (Kretser et al , 2015).

Spermatogenesis dipengaruhi oleh beberapa hormon seperti testosteron, Luteinizing hormon (LH), hormon perangsang folikel (FSH), estrogen dan growth hormon. Hormon testosteron berperan dalam pertumbuhan dan pembelahan sel-sel germinal, senyawa LH menstimulasi sel Leydig untuk menghasilkan testosteron, senyawa FSH menstimulasi sel Sertoli untuk mengubah spermatid menjadi sperma, estrogen menstimulasi folikel untuk memulai proses spermatogenesis serta growth hormon yang berfungsi meningkatkan pembelahan awal spermatogonia (Kretser et al, 2015).

Proses spermatogenesis berlangsung ketika spermatogonia memasuki lapisan sel Sertoli untuk mengalami pembelahan menjadi spermatosit primer. Spermatosit akan mengalami proses pembelahan mitosis menjadi sel yang memiliki 46 kromosom (44+xY), diploid, dan memiliki DNA 4N. Proses selanjutnya yaitu mitosis pertama, membentuk dua spermatosit sekunder yang hanya memiliki 23 kromosom (22 + X atau 22 +Y) dan memiliki dua kromatin DNA 2N. Selanjutnya proses pembelahan meiosis kedua yang menghasilkan dua sel haploid berupa spermatid. Tahap akhir proses spermatogenesis adalah spermiogenesis yaitu proses perubahan spermatid menjadi spermatozoa yang berfungsi menyampaikan DNA kepada ovum. Proses spermatogenesis dijelaskan dalam (Gambar 7) (Guyton & Hall, 2014).

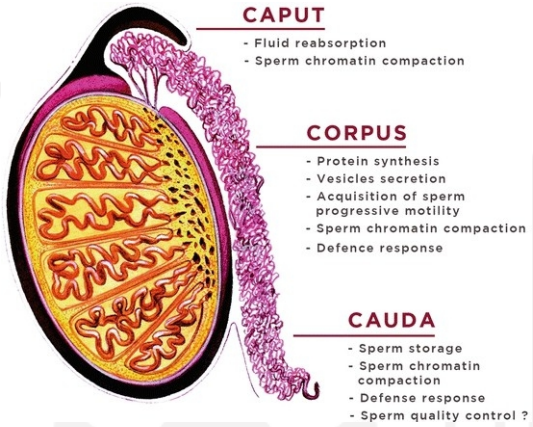
Spermiogenesis merupakan proses pembentukan akrosom, pemanjangan inti sperma, pembentukan flagela dan menghilangnya sebagian besar sitoplasma sperma. Kepala sperma terdiri atas inti sel yang memiliki sedikit sitoplasma, bagian dua pertiga anteriornya terdiri atas akrosom yang dibentuk oleh aparatus Golgi. Bagian akrosom mengandung enzim hialuronidase yang berfungsi menghasilkan filamen proteoglikan jaringan dan enzim proteolitik. Kedua enzim ini sangat penting dalam membantu sperma ketika masuk ke dalam ovum selama fase pembuahan. Ekor sperma terdiri atas flagel yang membantu sperma bergerak maju-mundur (Turek & Frsm, 2019).



Gambar 7. Proses Spermatogenesis (Guyton & Hall, 2014)

Setelah proses spermatogenesis terbentuklah spermatozoa infertil yang akan di transportasi menuju epididymis untuk mengalami pematangan. Epididymis adalah organ yang berfungsi sebagai tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa. Epididymis terdiri dari epitelium yang memiliki lumen duktus berfungsi sebagai tempat pematangan spermatozoa infertil yang berasal dari testicular. Secara histologi epididymis dibagi menjadi 3 bagian yaitu bagian kaput (kepala), bagian korpus (badan), dan bagian kauda (ekor). Bagian kaput dan korpus epididymis berfungsi sebagai tempat pematangan spermatozoa, sedangkan bagian kauda berfungsi sebagai tempat penyimpanan spermatozoa yang telah matang (fertil) (Gambar 8) (Turek & Frsm, 2019). Pematangan

spermatozoa dalam epididymis dipengaruhi oleh sejumlah molekul yang disekresikan oleh epithelium. Beberapa molekul yang berperan dalam meregulasi pematangan spermatozoa seperti CRISP1, SPAG11e dan GPR64, serta gen protease inhibitor yang mengatur regulasi proses pematangan spermatozoa (Bedford, 2015).



Gambar 8. Struktur Epididymis (Turek & Frsm, 2019)

2.1.5 Aktivitas fisik sebagai Antioksidan

Aktivitas fisik merupakan gerakan tubuh dengan mengeluarkan energi secara terstruktur seperti aktivitas sehari-hari seperti berjalan, latihan fisik seperti olahraga yang telah diatur sebelumnya (Simioni et al, 2018). Aktivitas fisik terdiri dari beberapa tingkatan yaitu ringan, sedang, hingga berat. Aktivitas fisik intensitas sedang seperti aerobic memiliki manfaat yang signifikan bagi kesehatan seperti menyeimbangkan reaksi redoks di dalam tubuh, meningkatkan antioksidan enzimatik dan non enzimatik yang berfungsi meningkatkan kapasitas mitokondria menjadi lebih besar untuk menangkap radikal bebas dan mengurangi produksi ROS. (Putri, 2019). Secara fisiologi ROS dalam jumlah normal di dalam tubuh berfungsi membantu menstimulasi pembentukan enzim serta aktivasi gen. ROS juga diperlukan dalam respon imun, detoksifikasi obat, inisiasi apoptosis sel serta proses vasodilatasi dan kontraksi otot yang optimal (Koyama, 2014).

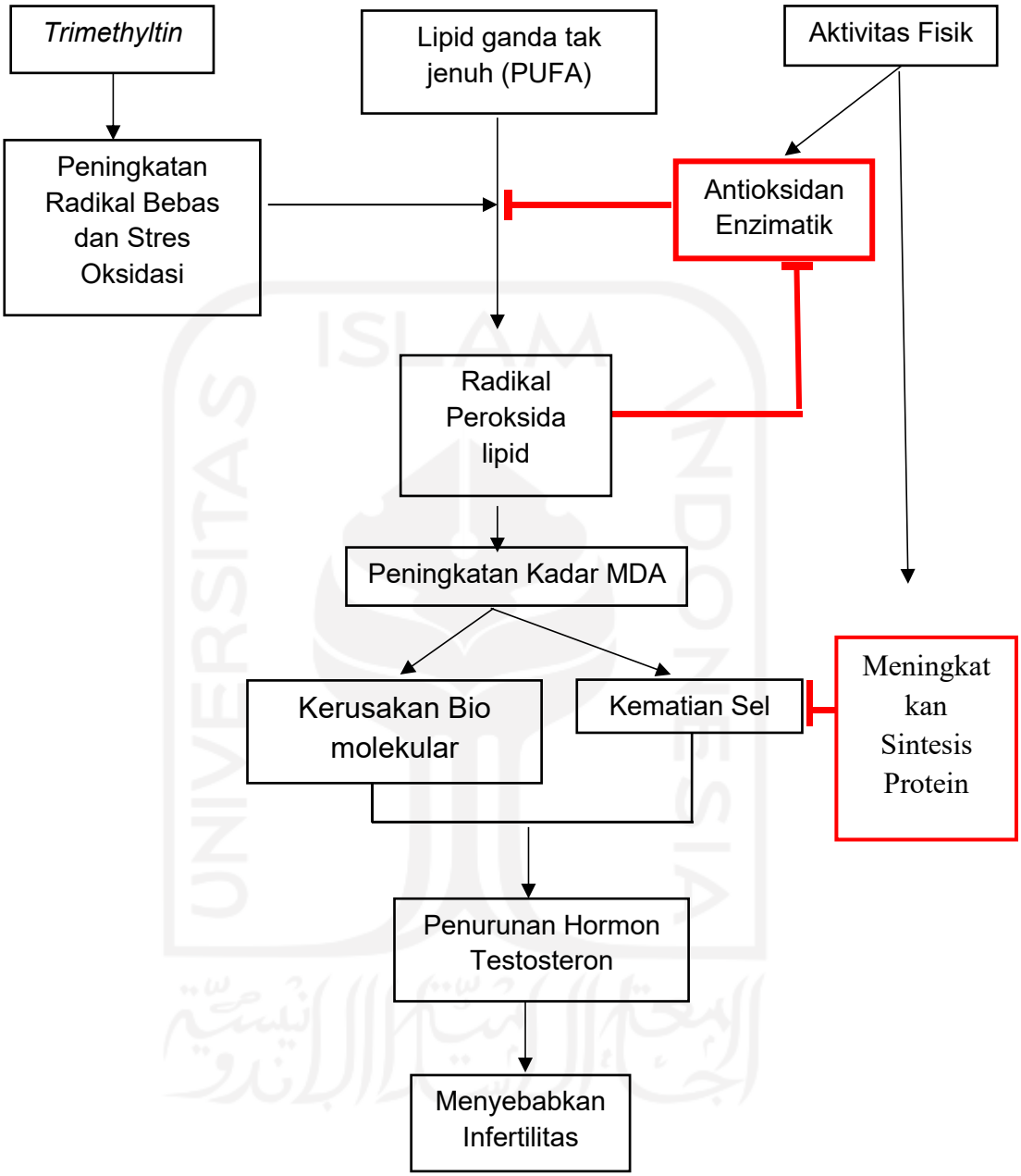
Aktivitas fisik intensitas ringan-sedang dapat meningkatkan ROS dalam jumlah normal. Aktivitas tersebut dapat meningkatkan antioksidan tubuh serta menurunkan tingkat peroksidasi lipid. Aktivitas fisik intensitas sedang juga menstimulasi pelepasan interleukin seperti IL-6 dan peptida yang

berfungsisebagai perlindungan terhadap penyakit seperti atherosclerosis (Simioni et al, 2018). Namun, aktivitas fisik intensitas berat dapat meningkatkan produksi ROS sehingga menyebabkan kelelahan otot akut.

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkap atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan dibutuhkan dalam tubuh untuk mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel yang normal. Antioksidan mampu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas dan menghambat reaksi yang menimbulkan stres oksidasi (Putri, 2019). Antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan enzimatis (antioksidan endogen) dan antioksidan non-enzimatis (antioksidan eksogen). Antioksidan enzimatis terdiri dari glutation peroksidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), dan catalase (CAT). Antioksidan non-enzimatis meliputi tocopherol, karotenoid, kuinon, flavonoid dan ascorbate. Antioksidan endogen mengurangi kerusakan oksidasi dengan mengkatalisis reaksi kimia untuk mengurangi radikal bebas. Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mengubah radikal bebas menjadi bentuk stabil yang disebut chain breaking- antioxidant (Berzosa C et al., 2011).

Aktifitas fisik yang tepat dapat meningkatkan fungsi spermatogenik terutama mengatur ekspresi protein yang berkaitan dengan produksi dan diferensiasi spermatozoa. Aktivitas fisik secara signifikan meningkatkan ekspresi protein seperti Anx A1, GPX3, Rimbd3 serta 17B-HSD yang berkontribusi terhadap peningkatan level testosteron. Beberapa penelitian pada tikus menunjukkan efek aktivitas fisik pada testis seperti meningkatkan jumlah tubulus seminiferous sehingga meningkatkan jumlah sel Sertoli dan meningkatkan proses spermatogenia. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar ROS di dalam testis. (Guo et al, 2017).

2.2 Kerangka teori



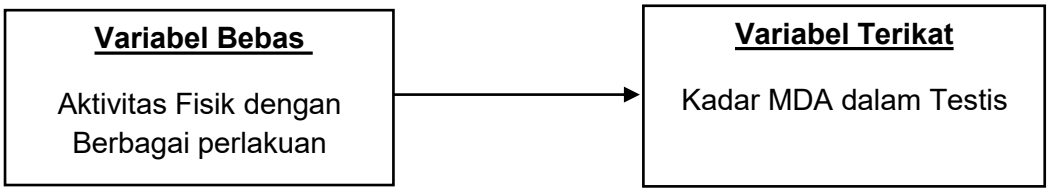
Gambar 9. Kerangka Teori

Keterangan gambar :

: Menginisiasikan/ Menyebabkan

: Menginhibisi / Menghambat

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka Konsep

Keterangan:

⟶ : Mempengaruhi Secara Langsung

2.4 Hipotesis

Kadar MDA epididymis Tikus Sprague Dawley lebih rendah pada kelompok yang diberi perlakuan aktivitas fisik dibandingkan dengan kelompok tanpa aktivitas fisik pada tikus yang di induksi TMT

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni (true eksperimental) dengan metode post test only control group design untuk menilai perbedaan kadar MDA sperma tikus Sprague Dawley antar kelompok. Terdapat empat kelompok, yaitu kelompok Normal, kelompok Induksi, kelompok Induksi dan Olahraga dan kelompok Olahraga.

Penelitian dilaksanakan selama 5 bulan pada bulan Maret hingga Agustus. Penelitian mulai dari penyusunan proposal hingga penyusunan laporan hasil penelitian. Perlakuan hewan coba hingga pengambilan jaringan telah dilaksanakan sebelumnya di Laboratorium Faal FKKMK UGM. Pemeriksaan kadar MDA sperma dilakukan di Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada.

3.2 Populasi dan Subyek Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah bahan biologi tersimpan berupa organ epididymis tikus putih *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley jantan yang berusia kisaran tiga bulan dengan berat badan 200-300 gram yang sebelumnya telah mendapatkan perlakuan dan didapat dari penelitian Nurmasitoh (2019), dengan judul "Pengaruh aktivitas fisik *Intermittent* dengan Intensitas Sedang Mencegah Kelainan Struktur dan Fungsi Hippocampus Tikus Model Degenerasi Saraf dengan Induksi TMT".

3.2.2 Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley jantan yang diperoleh dari Laboratorium BLST IPB Bogor berjumlah 20 ekor. Kriteria inklusi adalah jantan, berumur tiga bulan, berat badan 200-300 gram dan dinyatakan sehat secara fisik. Kriteria eksklusi adalah tikus yang mati disebabkan oleh faktor eksternal dari perlakuan.

Jumlah minimal sampel pada penelitian ini yang didapat menurut *Resource Equation* (Charan *et al*, 2013) didapatkan rumus :

$$E = (n \times t) - t$$

Keterangan:

E: Komponen error, digunakan untuk estimasi varian, yaitu dianggap optimal jika dalam rentang 10-20

N: Jumlah unit eksperimen

T: Jumlah kelompok treatment

Berdasarkan rumus tersebut didapatkan jumlah sampel setiap kelompoknya adalah 4-6 ekor tikus. Sehingga, didapatkan 5 ekor tikus yang akan dilakukan analisis dan 1 ekor sebagai cadangan. Jadi, total keseluruhan sampel yang dibutuhkan sejumlah 20 ekor.

Subjek penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok N yang berjumlah 5 hewan coba, kelompok I dengan jumlah 5 hewan coba, IO dengan jumlah 5 hewan coba dan O dengan jumlah 5 hewan coba. Tiap kelompok mendapat perlakuan berbeda-beda sebagai berikut:

a. Kelompok normal (N), merupakan kelompok hewan coba yang tidak di induksi TMT dan tidak diberi perlakuan aktivitas fisik.
b. Kelompok induksi (I), merupakan kelompok hewan coba yang di induksi TMT dengan dosis 8 mg/kgBB tanpa diberi perlakuan aktivitas fisik.
c. Kelompok olahraga dan induksi (IO), merupakan kelompok hewan coba yang diberi perlakuan aktivitas fisik dan di induksi TMT dengan dosis 8 mg/kgBB.
d. Kelompok olahraga (O), merupakan kelompok hewan coba yang diberi perlakukan aktivitas fisik dan tidak di induksi TMT.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variable Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pengaruh perlakuan aktivitas fisik selama 12 minggu dengan di induksi TMT dosis 8 mg/kgBB yang diberikan pada hewan coba tikus Sprague Dawley jantan.

3.3.2 Variabel Terikat

Variable terikat pada penelitian ini adalah kadar malondialdehid (MDA) epididymis sperma tikus Sprague Dawley jantan.

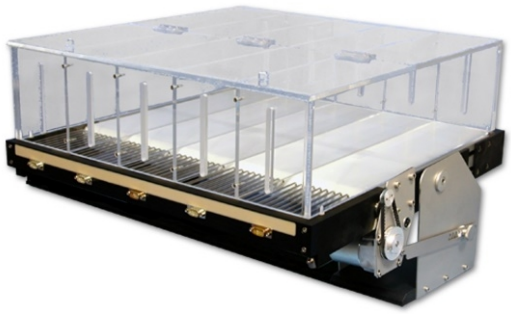
3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Hewan Model Kerusakan Sperma yang di Induksi *Trimethyltin*

Tikus yang digunakan merupakan tikus Sprague Dawley jantan yang di induksi dengan TMT sebanyak 8 mg/kgBB single dose dengan cara pemberian melalui injeksi intra peritoneal pada hewan coba yang diberikan pada minggu kesepuluh perlakuan, TMT dilarutkan dalam NaCl sebanyak 2 cc tiap 200 gram tikus.

3.4.1 Aktivitas Fisik

Aktivitas fisik merupakan perlakuan yang diberikan berupa latihan fisik intermiten dengan intesitas sedang menggunakan *treadmil*l khusus tikus selama 12 minggu dengan frekuensi lima kali dalam seminggu. Durasi tiap latihan diberikan bertahap, dimulai dari 2 interval hingga mencapai durasi optimal 6 interval. Tiap kali interval terdiri atas 3 menit berlari di treadmill dengan intensitas sedang diikuti periode istirahat, yaitu berlari dengan intensitas minimal selama 1 menit.



Gambar 11. Alat *Treadmill* pada Tikus

3.4.2 Kadar Malondialdehid Sperma

Kadar malondialdehid (MDA) sperma merupakan hasil pengukuran kadar MDA pada sperma epididymis tikus kanan Sprague Dawley jantan yang telah diberi perlakuan aktivitas fisik dan induksi TMT. Pengukuran MDA menggunakan metode uji TBARS dengan satuan nmol /gram. Pengukuran dilakukan di Laboratorium PAU UGM. Data yang diperoleh dari pengukuran kadar MDA berupa data numerik.

3.5 Instrumen Penelitian

Alat Penelitian

1. Set alat bedah (Minor set)
2. Meja operasi Steril
3. Perekat
4. Spuit injeksi 1 ml
5. Infus set (peralatan untuk perfusi transkardial)
6. Alat penyimpanan organ (*aluminium foil*, plastik klip, lemari pendingin -80 derajat, *ice box*)
7. Sentrifugal
8. Spektrofotometer
9. Homogenizer

Bahan Penelitian

1. Jaringan epididymis tikus Sprague Dawley jantan berusia 3 bulan dengan berat rata-rata 150-200 gram
2. Penyimpan jaringan epididymis untuk analisis biokimia (dry ice dan ice box)
3. Larutan KCL 1,15%
4. Formalin
5. *Trimethyltin*
6. Ketamine
7. Reagent TBA 0,8%
8. Larutan sodium dodecyl sulfate 8,1%
9. Larutan asam asetat 20%
10. Larutan NaOH dan akuades

11. Larutan n-Butanol dan piridin.

3.6 Alur Penelitian

3.6.1 Terminasi dan Pengambilan Organ Testis

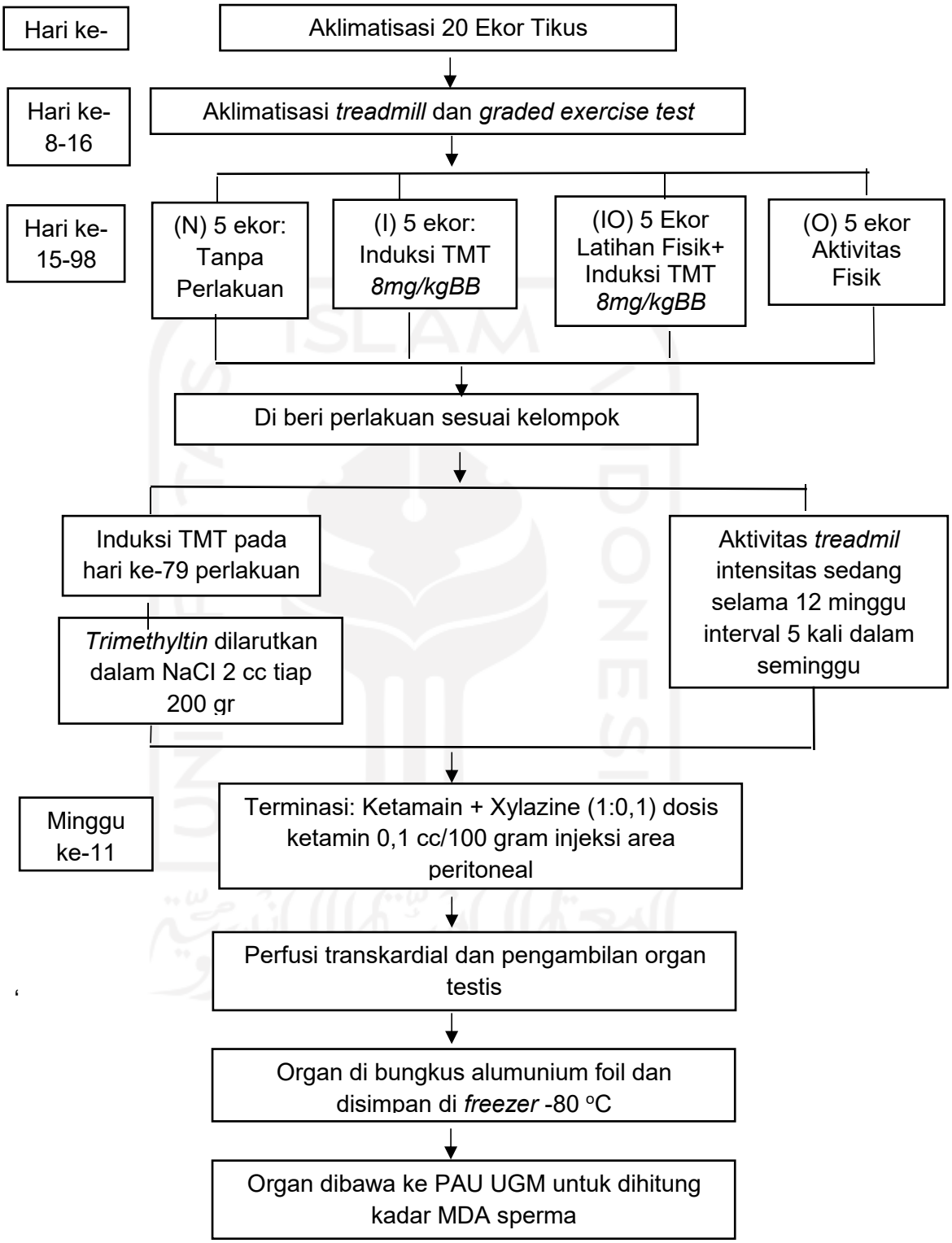
Terminasi hewan coba dilakukan dengan membius hewan coba menggunakan ketamine dan xylazine dengan perbandingan 1:0,1 dengan dosis penggunaan ketamine adalah 0,1 cc/100 gram tikus pada area peritoneal setelah itu didiamkan hingga obat bereaksi, kemudian dilakukan perfusi transkardial menggunakan cairan PBS. Setelah perfusi trandkardial selesai, dilakukan pengambilan organ epididymis. Organ yang sudah diambil kemudian dibersihkan dari lapisan lemak, setelah bersih organ dibungkus dengan alumunium foil dan plastik klip disimpan di dalam freezer dengan suhu -80 ^{o}C. Kemudian organ di bawa ke PAU UGM untuk diperiksa kadar MDA sperma tikus Sprague Dawley**.**

3.6.2 Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA dilakukan pada kauda epididymis, sperma dipisahkan dari protein yang berada di sekitarnya dengan menambahkan 0,5 ml asam trikloroasetat 20%.

1. TBA/ Buffer Reagent dilarutkan dengan 1000mL akuades kemudian ditambah 0,5 sodium hydroxide dan 100 mL asam asetat glasial.
2. Sebanyak 500 µl sperma dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf ditambah 0,5 mL akuades dan tambahkan 0,5 mL TBA *buffer reagent*.
3. Selanjutnya di inkubasi dalam *water bath* dengan suhu 95^{o}C selama 60 menit kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit dan supernatannya diambil kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikro tube.

Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm dengan nmol MDA/gram sperma.



Gambar 12. Diagram Alur Penelitian

Keterangan Gambar :

⟶ : Sudah dilakukan

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis dengan menggunakan software SPSS. Kadar MDA akan disajikan dalam bentuk numerik dalam skala mean ± SD. Data tersebut akan diuji sebarannya terlebih dahulu dengan uji Shapiro Wilk karena jumlah sampel hewan coba adalah <50. Jika distribusi normal (P>0,05), maka dilakukan analisis statistic dengan menggunakan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan analisis post hoc Bonferroni untuk mengetahui perbedaan tiap kelompoknya. Apabila data terdistribusi tidak normal maka dilakukan uji non parametrik Kruskal-Wallis. Perbedaan antar kelompok dinyatakan signifikan apabila nilai p<0,05. Semua uji dilakukan dengan tingkat kepercayaan sebesar 95% (α=0,05).

3.8 Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan mengajukan persetujuan kepada Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 8/Ka.Kom.Et/70/KE/IX/2020. Penelitian ini dilaksanakan dengan jujur dan sesuai prosedur yang baik dalam pengambilan data, pengambilan pustaka, perlakuan hewan coba, analisis data serta kegagalan maupun keberhasilan penelitian.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel bahan biologi tersimpan berupa 20 organ testis kanan dari penelitian Nurmasitoh (2019) dengan judul "Pengaruh aktivitas fisik *Intermittent* dengan Intensitas Sedang Mencegah Kelainan Struktur dan Fungsi Hippocampus Tikus Model Degenerasi Saraf dengan Induksi TMT". Pengajuan kaji etik telah disetujui dengan nomor 8/Ka.Kom.Et/70/KE/IX/2020.

4.1.1 Deskripsi Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang digunakan adalah tikus putih Sprague Dawley dengan kriteria inklusi berusia tiga bulan, berjenis kelamin jantan, dengan berat badan 200-300 gram dan dinyatakan sehat secara fisik. Adapun kriteria ekslusi adalah tikus yang mati disebabkan oleh faktor eksternal dari perlakuan. Berdasarkan besar rumus menurut *Resource Equiation* dan mempertimbangkan risiko drop out, tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 ekor yang di bagi menjadi 4 kelompok kontrol normal (N), induksi (I), kelompok induksi yang diberi perlakuan olahraga (IO) dan kontrol olah raga (O). Setelah dilakukan aklimatisasi pada hari ke 1-7, dilanjutkan dengan aklimatitasi *treadmill* dan *graded exercise test* pada hari ke 8-14. Setelah masa aklimatitasi selama 2 minggu, kelompok N tidak diinduksi TMT maupun intervensi olahraga, kelompok IO dan O mendapat perlakuan aktivitas fisik mengunakan *treadmill* dengan frekuensi 5 kali perminggu, intensitas sedang, durasi 30 menit dibagi dalam 6 interval (1 interval terdiri dari 3 menit aktivitas fisik moderate dan 1 menit aktivitas fisik intensitas ringan/istirahat) selama 12 minggu. Sedangkan kelompok I dan IO diinduksi *trimethyltin* sebanyak 8 mg/kgBB dosis tunggal pada minggu ke-11 perlakuan. Setelah 12 minggu perlakuan, dilakukan terminasi dan pengambilan organ.

4.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Malondialdehyde (MDA) sperma

Hasil pengukuran kadar MDA sperma pada masing-masing kelompok ditampilkan dalam tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Kadar Malondialdehyde (MDA) sperma

Kelompok Perlakuan	Rata-rata ± standar deviasi (nmol/g)	*P-value*
N	1,92±0,88	0,03*)
I	3,70±1,06	
IO	3,00±0,06	
O	2,90±0,74	

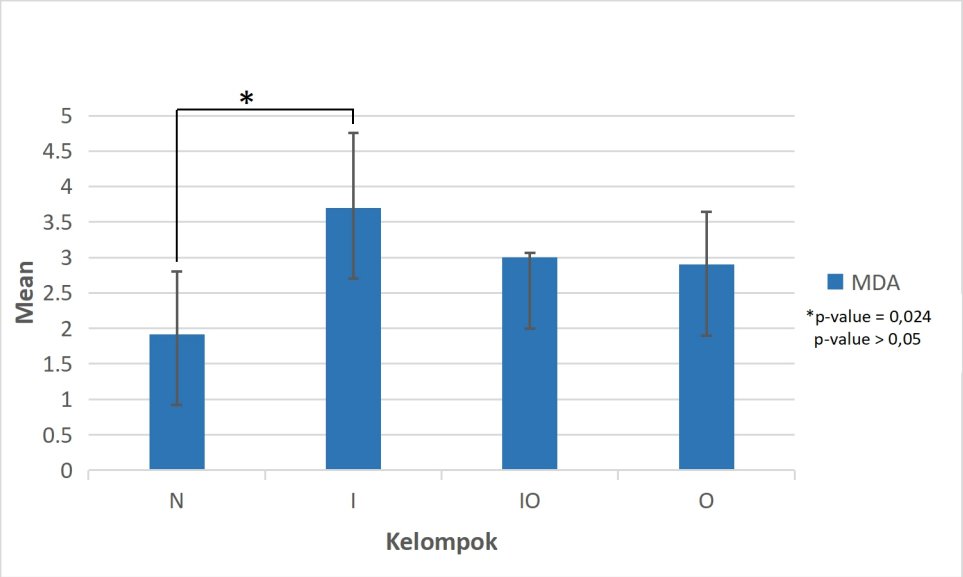
*) Uji one way ANOVA

Berdasarkan tabel 2 tersebut diketahui bahwa kadar MDA tiap kelompok (disajikan dalam bentuk rata-rata + Standar Deviasi (SD)), yaitu kelompok N sebesar 1,92+0,88 nmol/g, kelompok kontrol I sebesar 3,70+1,06 nmol/g, kelompok IO sebesar 3,00+0,067 nmol/g, dan kelompok O sebesar 2,90+0,74 nmol/g. Kadar MDA kelompok I menunjukkan nilai paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Dari hasil yang diperoleh pada kelompok IO (kelompok yang diinduksi TMT dan diberi perlakuan olah raga) terlihat bahwa kadar MDA lebih rendah dibandingkan kelompok I (kelompok yang diinduksi TMT) dan hampir sama atau mendekati kadar MDA pada kelompok O (kelompok olah raga tanpa induksi TMT).

4.1.3 Hasil Analisis Data Pemeriksaan Kadar Malondialdehyde (MDA) sperma

Data yang telah didapatkan kemudian dianalisis menggunakan software statistika dan didapatkan hasil bahwa data terdistribusi dengan normal dibuktikan dengan p>0,05 pada semua kelompok. Analisis Shapiro-Wilk digunakan karena jumlah data <50. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas data menggunakan uji Levene dan didapatkan hasil variansi data sama atau homogen dengan nilai p = 0,72 (p>0,05). Hasil uji normalitas dan uji homogenitas data ditampilkan dalam bentuk tabel di dalam lampiran. Oleh karena diperoleh distribusi yang data normal dan data yang homogen, selanjutnya dilakukan analisis menggunakan uji one way ANOVA. Uji one way ANOVA digunakan untuk mnegetahui perbedaan antar kelompok setelah mendapatkan intervensi penelitian. Berdasarkan hasil uji one way ANOVA didapatkan hasil terdapat perbedaan antar kelompok penelitian

yang dibuktikan dengan nilai p = 0,03 (p<0,05), artinya hasil one way ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan. Selanjutnya dilakukan uji pos hoc bonferoni untuk mengetahui perbedaan kadar MDA tiap kelompok percobaan.



Gambar 13. Kadar MDA pada tiap kelompok. Uji one way ANOVA *) berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok N

Berdasarkan hasil uji *pos hoc* Bonferoni didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok N dengan kelompok I (*p-value* = 0,024).

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan kadar MDA sperma paling tinggi terdapat pada kelompok I (kelompok yang diberikan *trimethyltin* dengan dosis 8 mg/kgBB). Kadar MDA paling rendah ditunjukkan oleh kelompok N, disusul secara berturut-turut oleh kelompok O dan IO. Kadar MDA yang paling tinggi pada kelompok I menunjukkan bahwa induksi hewan coba menggunakan TMT mampu menimbulkan efek yang diharapkan yaitu stress oksidatif pada organ testis.

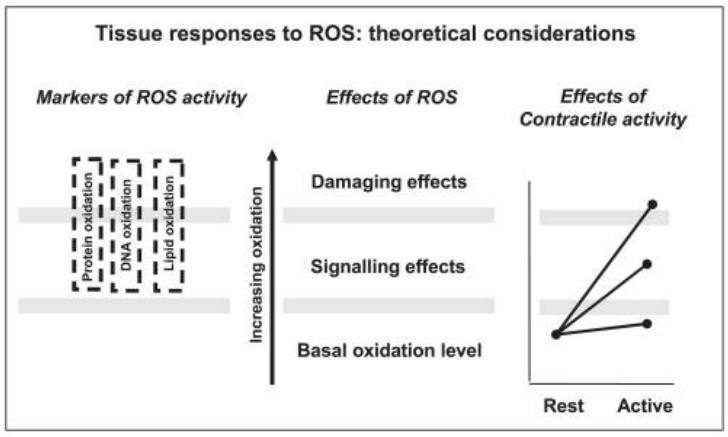
Berdasarkan hasil uji one way ANOVA terlihat adanya perbedaan yang signifikan kadar MDA antar kelompok ($p < 0.05$). Uji post hoc bonferoni menunjukkan bahwa kelompok I memiliki kadar MDA yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok N. Hal ini menunjukkan bahwa TMT terbukti memiliki potensi untuk menginduksi stres oksidatif pada organ epididymis. Sementara itu, kelompok IO meskipun menunjukkan kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan kelompok N, akan tetapi hasil ini tidak signifikan secara statistik. Demikian juga, kelompok IO menunjukkan hasil yang lebih tinggi, meskipun selisih ini sangat sedikit dan tidak signifikan pada analisis post hoc dibandingkan

kelompok O. Kelompok O juga tidak menunjukkan perbedaan signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok N. Meskipun kadar MDA tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok N dan menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan kelompok I, akan tetapi tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok OI dan O dibandingkan kelompok I.

Kelompok IO memiliki kadar MDA medekati kelompok O meskipun masih lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok N. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan respons akut selama olahraga yang secara normal memiliki efek dalam menginduksi radikal bebas dan stress oksidatif dalam jumlah tertentu. Kebutuhan oksigen yang meningkat selama berolahraga menyebabkan stres oksidatif yang berkaitan dengan peningkatan respirasi mitokondia yaitu fosforilasi oksidatif. Kebutuhan oksigen semakin besar selama berolah raga menyebabkan peningkatan pembentukan ROS sebanyak 50 hingga 100 kali lipat. Radikal bebas selama olahraga terbentuk melalui mekanisme cedera iskemia yang menyebakan perubahan ATP menjadi ADP dan AMP (Koyoma,2014).

Terdapat beberapa kategori mengenai tingkatan olahraga dan efek terhadap ROS di dalam tubuh. Olahraga dengan intensitas redah seperti VO2max 20 % hanya memproduksi ROS sesuai dengan level basal saja. Olahraga dengan intensitas sedang atau intermitten dengan VO2max 50% dapat memproduksi ROS lebih tinggi, kemudian intensitas olahraga berat dengan VO2max >70% dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel di dalam tubuh (Gambar.13) (Causo & Huertas, 2018). Secara fisiologi ROS dalam jumlah normal di dalam tubuh berfungsi membantu menstimulasi pembentukan enzim serta aktivasi gen. ROS juga diperlukan dalam respon imun, detoksifikasi obat, inisiasi apoptosis sel serta proses vasodilatasi dan kontraksi otot yang optimal. Dari fakta-fakta ini, keberadaan ROS dalam tubuh manusia tidak selalu bermakna negative karena ROS tetap memiliki andil terhadap fisiologis tubuh, selain juga tubuh manusia memiliki kemampuan untuk memproduksi antioksidan endogen untuk mempertahankan dan mengkompensasi sejumlah ROS yang terbentuk agar selalu berada dalam rentang fisiologis. Dengan demikian, dalam jumlah tertentu, ROS ini tetap diperlukan untuk fungsi normal tubuh manusia meskipun kadarnya harus diatur agar tidak melebihi kadar fisiologis tubuh. Apabila kadar ROS melebihi kadar fisiologis,

dikhawatirkan justru akan merusak sel-sel tubuh manusia stres oksidatif yang tidak terkompensasi dengan antioksidan endogen, dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Koyama, 2014).



Gambar 14. Peningkatan ROS selama aktivitas Fisik (Causo & Huertas, 2018)

Terdapat penelitian yang telah menguji efek aktivitas fisik dalam menurunkan kadar MDA sperma tikus obesitas. Penelitian ini melibatkan 48 ekor mencit jenis C57BL/6 yang dibagi menjadi dua kelompok obesitas, dan nonobesitas yang keduanya diberikan intervensi diet rendah lemak dan aktivitas fisik menggunakan treadmill dengan frekuensi 5 kali perminggu, intensitas 17 m/menit selama 15 menit pada minggu pertama, minggu kedua dan ketiga 17m/menit selama 45 menit, minggu keempat dan kelima 19 m/menit selama 45 menit, minggu keenam dan ketujuh 21 m/menit selama 45 menit dan minggu kedepan dan kesembilan 23 m/menit selama 45 menit. Setelah 21 minggu, intervensi olahraga dan diet rendah lemak pada kedua kelompok tidak menunjukkan adanya perubahan pada karakteristik morfologi sperma dan fragmen DNA pada kelompok obesitas dan nonobesitas ($p>0,05$). Latihan pada kedua kelompok menyebabkan peningkatan persentase peroksidasi lipid ($p<0,05$), tetapi kadar MDA pada intervensi olahraga lebih rendah dibandingkan diet rendah lemak dengan hasil signifikan $p<0,0001$ (Namatollahi *et.al*, 2018). Hasil ini menunjukkan bahwa intevensi olahraga yang dilakukan tetap dapat menimbulkan peningkatan peroksidasi lipid meskipun peningkatan ini tetap lebih kecil apabila dibandingkan induksi.

Pada penelitian ini, meskipun hasil MDA kelompok yang diberi perlakuan OR (kelompok IO dan O) lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok induksi (kelompok I), akan tetapi perbedan ini tidak signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor seperti dosis olahraga yang belum optimal (Nikbin, 2014) , dosis TMT yang terlalu tinggi (Ma et al, 2019), serta pengaruh alat treadmill dimana alat genital sering berkontak dengan bagian treadmil yang mengandung listrik ketika tikus tidak mau berlari. Kondisi alat genital ini dapat menyebabkan terjadinya mekanisme elektroporasi yaitu pembentukan pori pada lapisan lipid yang membentuk membran sel sehingga menyebabkan nekrosis suatu organ (Waldman et.al, 2017). Meskipun demikian, sebenarnya hasil MDA pada kelompok O tetap tidak memiliki perbedaan signifikan dibandingkan kelompok N. Dengan demikian, berdasarkan berbagai bukti penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini olahraga kemungkinan tetap memiliki efek protektif terhadap peningkatan stres oksidasi dan memiliki potensi untuk mencegah kerusakan akibat induksi TMT.

Berdasarakan hasil yang diperoleh pada kelompok IO terlihat bahwa terdapat pengaruh aktifitas fisik intensitas sedang dalam mencegah stress oksidatif epipydidimis pada kelompok yang diinduksi TMT. Penurunan kadar MDA sebagai biomarker stress oksidasi, dapat dikaitkan dengan peningkatan antioksidan seperti SOD pada organ testis setelah pemberian intervensi aktivitas fisik intensitas sedang pada penelitian ini (Torma et al., 2014). Peningkatan SOD terjadi seiring dengan meningkatnya radikal bebas terjadi melalui mekanisme transduksi sinyal yang mengaktifkan faktor transkripsi antioksidan endogen. Selama aktivitas fisik intensitas sedang terjadi keadaan hipoksia dan peningkatan stres oksidatif yang memicu pengaktifan jalur Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK), kemudian MAPK akan mengaktifkan faktor transkripsi NF-KB yang akan bermigrasi ke dalam nukleus hingga meningkatkan ekspresi antioksidan seperti SOD dan GPx (Putri, 2018). Antioksidan tersebut dapat memperbaiki sel-sel sertoli dan sel leydig testis. Pemberian intervensi aktivitas fisik intensitas sedang terbukti dapat menurunkan kadar stress oksidasi sehingga menyebabkan penurunan kadar MDA sperma (Torma et al., 2014). Akan tetapi, dalam penelitian ini kadar antioksidan endogen tidak diperiksa.

Pada kelompok IO, kadar MDA sperma yang mengalami penurunan merupakan penanda bahwa aktivitas fisik intensitas sedang sebagai protektif

pada testis yang di induksi *trimethyltin.* Penurunan kadar MDA ini berkaitan dengan penurunan pembentukan ROS yang berkaitan dengan berkurang jumlah atau kadar PUFA. Hal ini menyebabkan peroksidasi lipid juga menjadi berkurang sehingga stress oksidatif yang dapat menyebabkan respon inflamasi pada jaringan testis juga berkurang. Akibatnya, biosintesis testosteron dan kualitas sperma dapat dipertahankan. Mitokondria dan retikulum endoplasma pada sel Leydig memiliki asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap ROS sehingga dapat menghasilkan produksi MDA dalam jumlah yang besar. Kadar MDA yang meningkat menyebabkan penurunan sintesis kolesterol, serta menghambat sintesis steroid di retikulum endoplasma yang akhirnya menurunkan proses spermatogenesis. Membran sperma dan molekul DNA memiliki banyak asam lemak tak jenuh, apabila berikatan dengan ROS juga akan menghasilkan peroksidasi lipid dalam jumlah besar. Peroksidasi lipid ini akan menyebabkan kerusakan pada integritas membran,permeabilitas serta merusak struktur DNA dan mempercepat apoptosis sel. Keadaan ini akan merusak sperma dan menurunkan motilitas sperma secara signifikan (Nikbin et al., 2020). Hal inilah yang diusahakan dapat dicegah melalui aktivitas olah raga.

Aktivitas fisik intensitas sedang dapat secara efektif mengurangi kerusakan oksidasi pada testis dengan menurunkan regulasi sitokin proinflamasi seperti IL-1β dan TNF-α serta komponen jalur sinyal inflamasi NF-κB. Sitokin proinflamasi menghambat sintesis testosteron dengan cara menggambar ekspresi mRNA dan protein P450scc,17 α-hidroksilase, 3β-hidroksisteroid dehidrogenase dalam sel Leydig tikus. Sebaliknya, aktivitas fisik secara teratur meningkatkan kadar sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dengan cara menghambat sitokin-sitokin proinflamasi (Torma et al., 2014).

Aktivitas fisik juga meningkatkan aktivitas SOD di testis yang dapat menghambat efek merugikan dari stress oksidasi dengan cara meningkatkan antioksidan, anti apoptosis, pro angiogenin dan anti penuaan. Aktivitas fisik tidak hanya meningkatkan aktivitas SOD tetapi juga meningkatkan ekspresi ketiga isofrom SOD yaitu copper-zinc superoxide dismutase (SOD1), manganese superoxide dismutase (SOD2) and extracellular superoxide dismutase (SOD3). aktivitas fisik mampu meningkatkan kapasitas antioksidan pada sperma dan mengurangi jumlah radikal bebas pada sperma sehingga dapat meningkatkan proses spermatogenesis. Antioksidan lain seperti Catalase (CAT) juga meningkat

pada aktivitas fisik intensitas sedang, CAT merupakan antioksidan yang berperan dalam pertahanan tubuh untuk melawan radikal bebas dengan cara menetralkan hidrogen peroksida (H2O2) (Torma et al., 2014)(Nikbin et al., 2020).

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nikbin et.al (2014) untuk melihat efek protektif dari latihan aerobik terhadap disfungsi testis tikus albino jantan yang di induksi klorpirifos (CPF). Hewan coba dibedakan menjadi kelompok yang diberi perlakuan aktivitas fisik sedang dan kelompok hewan yang di induksi klorpirifos dilakukan selama 2 bulan. Kandungan CPF diberikan dengan dosis 1 mg/kgBB pada minggu ke-2, ke-4 dan ke-6 dan kelompok aktivitas fisik selama 5 hari per minggu selama 2 minggu. Perbedaan bermakna pada tikus yang diberikan induksi CPF dengan aktivitas fisik intensitas sedang adalah terjadi peningkatan aktivitas superoksida dismutase (SOD) testis dengan hasil signifikan $p<0,05$. Selain itu tingkat peroksidasi lipid menurun secara signifikan pada testis hewan yang mendapat perlakuan aktifitas fisik yang di induksi CPF. Hal ini menunjukkan bahwa latihan aerobik dapat mengurangi stress oksidasi testis yang disebabkan paparan CPF.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yi et. Al (2020), membuktikan aktivitas fisik intensitas sedang dapat mengurangi stress oksidasi pada testis dengan hasil signifikan $p<0,05$. Penelitian ini melibatkan 50 tikus jenis C57BL/6L berusia 4 minggu yang dibagi menjadi kelompok kontrol obesitas (OC), kelompok obesitas dengan latihan intensitas sedang (OME), dan kelompok obesitas dengan latihan intensitas tinggi (OHE). Kelompok OME dan OHE mendapat perlakuan olahraga renang selama 5 hari per minggu selama 8 minggu, namun intensitas olahraga yang diberikan berbeda. Setelah 8 minggu intervensi terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok OHE dan OME. Kelompok OME terbukti mengurangi stres oksidasi testis serta meningkatkan kadar testosteron dan kualitas sperma. Kelompok OME terbukti mengurangi stres oksidasi testis serta meningkatkan kadar testoteron dan kualitas seperma. Hasil pada jurnal ini mendukung penelitian yang telah dilakukan dengan menunjukkan bahwa olahraga tingkat sedang dapat memberikan efek protektif terhadap kerusakan sel yang diakibatkan oleh ROS.

Samadian et.al (2018) mengemukakan bahwa intensitas sedang pada tikus diabetes dapat menurunkan kadar stress oksidasi. Penelitian ini melibatkan 36 tikus Wistar dewasa yang dibagi menjadi beberapa kelompok (kelompok

kontrol, olahraga, di induksi diabetes (DM) DM, latihan + DM, DM+ insulin (INS), dan DM+INS+Olahraga). intervensi latihan olahraga yang dilakukan adalah selama 6 minggu dengan durasi latihan 30 menit intensitas sedang berlari diatas treadmill sekali dalam sehari selama 5 hari per minggu. Setelah 6 minggu kelompok olahraga dan insulin yang di induksi DM menunjukkan hasil yang signifikan dengan $p<0,05$. Hal ini ditunjukkan dengan indeks perbaikan spermatogenesis dan spermiogenesis, meningkatkan kadar SOD testis, menghambat apoptosis dan meningkatkan hampir semua parameter sperma. Hasil perbaikan beberapa parameter testis ini mendukung penelitain yang telah dilakukan terkait dengan penurunan kadar MDA sperma pada kelompok IO.

Penelitian yang dilakukan oleh Torma et.al (2014), olahraga intensitas rendah hingga sedang terbukti mampu menurunkan kadar ROS. Penelitian ini melibatkan dua puluh empat tikus jantan berumur 13 buala yang terbagi menjadi empat kelompok perlakuan antara lain : LCR terkontrol (low capacity running), LCR terlatih, HCR (high capacity running) kontrol, dan HCR terlatih. Setelah 12 minggu mendapatkan perlakuan, terdapat penurunan tingkat spesies oksigen reaktif yang dapat meningkatkan fungsi spermatogenesis. Perbedaan bermakna penurunan kadar ROS terjadi hanya pada tikus kelompok LCR-T dibandingkan kelompok HCR-T dengan hasil signifikan $p<0,05$. Pada penelitian lainnya, mengemukakan bahwa aktivitas fisik treadmill pada pasien pengguna obat kemoterapi doxorubicin (DOX) pada 24 tikus jantan selama 12 minggu menunjukkan hasil yang signifikan $p<0,05$ dalam memberikan protektif olahraga terhadap kerusakan oksidasi beberapa protein yang terlibat dalam metabolisme obat doxorubicin (Magalhães et al., 2017). Dari beberapa bukti di atas di dapatkan olahraga intensitas sedang dapat menurunkan kadar MDA didalam tubuh seperti pada testis yang ditunjukkan dengan perbaikan-perbaikan parameter sperma dan peningkatan antioksidan endogen pada sperma.

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Kadar MDA epididymis Tikus Sprague Dawley lebih rendah pada kelompok yang diberi perlakuan aktivitas fisik dibandingkan dengan kelompok tanpa aktivitas fisik pada tikus yang di induksi TMT meskipun tidak bermakna secara statistik. Kadar MDA epididymis tikus SD yang diinduksi TMT dan diberikan perlakuan olah raga tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol tanpa induksi TMT. Olah raga dengan intensitas sedang berpotensi mencegah kerusakan epididymis pada tikus yang diinduksi TMT.

5.2 Saran

Beberapa saran yang peneliti ajukan untuk penelitian selanjutnya mengenai efek aktivitas fisik intensitas sedang yang diinduksi *trimethyltin* adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat antioksidan endogen untuk mengatasi radikal bebas yang disebabkan *trimethyltin*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjutan terkait dosis *trimethyltin* terhadap epididmis.
3. Perlukan dilakukan penelitian lebih lanjut terkait variasi dosis olahraga yang berkaitan dengan frekuansi, intensitas, tipe, dan durasi latihan agar mendapatkan hasil yang lebih baik

DAFTAR PUSTAKA

Ajoa,M. S., Akem,O.,Nwadiugwu,M.,2018,Trimethyltin-induced cerebellar damage on adult male Wistar rats . Trimetil estaño induce daño cerebral en ratas machos adultas Wistar , Determination of the Specific Absorptivity Coefficient of the Recombinant Human Epidermal Growth Factor., 3(JUN), 723–728.

Anawalt, B. D., & Page, S. T, 2017, Approach to the male with infertility. UpToDate, (table 1), 1–17.

Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S.,2014, Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Vol. 2014, p. 31. https://doi.org/10.1155/2014/360438

Barrera, G., Pizzimenti, S., Daga, M., Dianzani, C., Arcaro, A., Cetrangolo, G. P., Gentile, F., 2018, Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders, Antioxidants, 7(8). https://doi.org/10.3390/antiox7080102

Bedford, J. M. (2015). The epididymis re-visited: A personal view. Asian Journal of Andrology, 17(5), 693–698. https://doi.org/10.4103/1008-682X.153297

Cao, X. W., Lin, K., Li, C. Y., & Yuan, C. W. (2011). [A review of WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th edition)]. Zhonghua Nan Ke Xue = National Journal of Andrology, 17(12), 1059–1063.

Casuso, R. A. and Huertas, J. R. (2018) 'Antioxidant supplements in obesity and metabolic syndrome: Angels or demons', Obesity: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants, pp. 263–275. doi: 10.1016/B978-0-12-812504-5.00013-1.

Cornwall, G. A. (2009). New insights into epididymal biology and function. Human Reproduction Update, 15(2), 213–227. https:// doi.org/10.1093/ humupd/ dm n055

Funk, J. A., Gohlke, J., Kraft, A. D., McPherson, C. A., Collins, J. B., & Jean Harry, G.,2011, Voluntary exercise protects hippocampal neurons from trimethyltin injury: Possible role of interleukin-6 to modulate tumor necrosis factor receptor-mediated neurotoxicity, Brain, Behavior, and Immunity, 25(6), 1063–1077. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.03.012

Geloso, M. C., Corvino, V., & Michetti, F., 2011, Trimethyltin-induced hippocampal degeneration as a tool to investigate neurodegenerative processes, Neurochemistry International, 58(7), 729–738. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.03.009

Grotto, D., Santa Maria, L., Valentini, J., Paniz, C., Schmitt, G., Garcia, S. C., Farina, M., 2009, Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification, Quimica Nova, 32(1), 169–174. https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032

Guerriero, G., Trocchia, S., Abdel-Gawad, F. K., & Ciarcia, G., 2014, Roles of reactive oxygen species in the spermatogenesis regulation, Frontiers in Endocrinology, 5(APR), 1–5. https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00056

Guo, Y., Li, E., Zhang, Y., Wang, A., 2017, Aerobic exercise improves spermatogenesis of male rats: Results of iTRAQ-based proteomic analysis of the testis tissue, National Journal of Andrology, 23(9):776-781

Guyton, A.C., dan Hall, J.E., 2014, Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.Edisi 12. Elsevier, Singapura, Penterjemah: Ermita I, Ibrahim I

Jafari, M. K., Ansarin, K., & Jouyban, A., 2015, Comments on “use of malondialdehyde as a biomarker for assesing oxidative stress in different disease pathologies: A review.”, Iranian Journal of Public Health, 44(5), 714–715.

Kretser, D. M., Loveland, K., & O’Bryan, M, 2015, Spermatogenesis, In Endocrinology: Adult and Pediatric (Seventh Edition, Vol. 2–2). https://doi.org/10.1016/B978-0-323-18907-1.00136-0

Kim, J., Kim, C., Oh, H., Ryu, B., Kim, U., Lee, J. M., Jung, C., Park, J. H.,2019, Trimethyltin chloride induces reactive oxygen species-mediated apoptosis in retinal cells during zebrafish eye development, Science of the Total Environment, 653, 36–44. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.317

Koyama, K., 2014., Exercise-induced oxidative stress: A tool for “hormesis” and “adaptive response.”, The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine, 3(1), 115–120. https://doi.org/10.7600/jpfsm.3.115

Ma, D., Luo, N., & Xue, G., 2019, Trimethyltin (TMT) Reduces Testosterone Production in Adult Leydig Cells in Rats, International Journal of Toxicology. https://doi.org/10.1177/1091581819870719

Magalhães, J. et al. (2017) ‘Can exercise training counteract doxorubicin-induced oxidative damage of testis proteome?’, Toxicology Letters. Elsevier Ireland Ltd, 280, pp. 57–69. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.08.010.

Malhotra, N., Malhotra, J., & Mahmud, N, 2013, Overview of Infertility, Manual on IUI: What, When and Why, 1–1. https://doi.org/10.5005/jp/books/11963_1

Maynard, R. L., Downes, N, (2019) Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research. doi: 10.1016/b978-0-12-811837-5.00027-7.

Nematollahi, A. et al. (2019) ‘Effect of aerobic exercise, low-fat and high-fat diet on the testis tissue and sperm parameters in obese and nonobese mice model’, Andrologia, 51(6), pp. 1–11. doi: 10.1111/and.13273.

Nikbin, S. et al. (2020) ‘Investigating the protective effect of aerobic exercise on oxidative stress and histological damages of testicular tissue associated with chlorpyrifos in male rats’, Andrologia, 52(2), pp. 1–12. doi: 10.1111/and.13468.

Putri, M. A., 2019,Peningkatan Antioksidan Endogen yang Dipicu Latihan Fisik, YARSI Medical Journal, 26(3), 163. https://doi.org/10.33476/jky.v26i3.760

Samadian, Z. et al. (2019) ‘Moderate-intensity exercise training ameliorates the diabetes-suppressed spermatogenesis and improves sperm parameters: Insole and simultaneous with insulin’, Andrologia, 51(11), pp. 1–11. doi: 10.1111/and.13457.

Sharma, A., 2017, Male Infertility; Evidences, Risk Factors, Causes, Diagnosis and Management in Human, Annals of Clinical and Laboratory Research, 05(03), 1–10. https://doi.org/10.21767/2386-5180.1000188

Sherwood, L.,2014, Fisiologi Manusia, Introduction to Human Physiology , Edisi 8, ECG, Jakarta, 361–403

Silva, I. F., Freitas-Lima, L. C., Graceli, J. B., Rodrigues, L. C. de M., 2018, Organotins in neuronal damage, brain function, and behavior: A short review, Frontiers in Endocrinology, 8(JAN), 6–11. https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00366

Simioni, C., Zauli, G., Martelli, A. M., Vitale, M., Gonelli, A., & Neri, L. M.,2018, Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging, Oncotarget-09-17181.Pdf. 9(24), 17181–17198.

Singh, Z., Karthigesu, I. P., Singh, P., & Kaur, R., 2014, Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: A review, Iranian Journal of Public Health, 43(3), 7–16.

Spirlandeli, A. L., Deminice, R., & Jordao, A. A,. 2014, Personal pdf file for Plasma Malondialdehyde as Biomarker of Lipid Peroxidation : Effects of Acute Exercise Plasma Malondialdehyde as Biomarker of Lipid Peroxidation : E ff ects of Acute Exercise. 14–18. https://doi.org/10.1055/s-0033-1345132

Tang, X., Wu, X., Dubois, A. M., Sui, G., Wu, B., Lai, G., Ren, X., (2013), Toxicity of trimethyltin and dimethyltin in rats and mice, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 90(5), 626–633. https://doi.org/10.1007/s00128-013-0975-x

Tortora, G. J., & Derrickson, B, 2014, Principles of Anatomy & Physiology 14th Edition, In Wiley. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Torma, F. et al. (2014) 'Exercise increases markers of spermatogenesis in rats selectively bred for low running capacity', PLoS ONE, 9(12), pp. 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0114075.

Turek, P. J., & Frsm, F., 2019, 22 - Male Reproductive Physiology, In Campbell-Walsh Urology (Eleventh Edition), https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-7567-5.00022-4

Vaamonde, D., Garcia-Manso, J. M., & Hackney, A. C., 2017, Impacto de la actividad física y el ejercicio sobre el potencial reproductivo masculino: nuevo cuestionario de evaluación, Revista Andaluza de Medicina Del Deporte, 10(2), 79–93. https://doi.org/10.1016/j.ramd.2016.11.017

Yi, X. et al. (2020) 'Effect of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice', Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020. doi: 10.1155/2020/3071658.

Waldmann, V. et al. (2017) 'Electrical injury', BMJ (Clinical research ed.), 357(April), p. j1418. doi: 10.1136/bmj.j1418.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Lolos Kaji Etik

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekiman Wirjosandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext 2007
E. fk@uii.ac.id
W. fk.uii.ac.id

Nomor : 8/Ka.Kom.Et/70/KE/IX/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Pengaruh Aktivitas Fisik terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Sperma Tikus Sprague Dawley yang di Induksi Trimethyltin"

Peneliti Utama : **Yoni Aulia Masruroh**
Principal Investigator

Nama Institusi : **Program Studi Pendidikan Dokter FK UII**
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 17 September 2020
Ketua
Chairman

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN * FAKULTAS KEDOKTERAN *

dr. Rahma Yuantari, M.Sc, Sp.PK

***Ethical Approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan**
****Peneliti berkewajiban**

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
   a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
   b. Penelitian berhenti di tengan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2. Data Hasil Pemeriksaan Kadar MDA sperma

No	Kode	Abs	(nmol/g)
1.	N.1	0,066	2,82
2.	N.2	0,065	2,75
3.	N.3	0,023	1,00
4.	N.4	0,024	1,04
5.	N.5	0,053	2,00
6.	I.1	0,082	3,82
7.	I.2	0,093	4,51
8.	I.3	0,097	4,76
9.	I.4	0,054	2,07
10.	I.4	0,075	3,38
11.	IO.1	0,063	2,63
12.	IO.2	0,063	2,63
13.	IO.3	0,081	3,75
14.	IO.4	0,078	3,57
15.	IO.5	0,06	2,44
16	O.1	0,053	2
17.	O.2	0,068	2,94
18.	O.3	0,058	2,32
19.	O.4	0,08	3,69
20.	O.5	0,078	3,57

Lampiran 3. Hasil Tes Normalitas Data

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA	C-	.241	5	.200*	.842	5	.170
	C+	.179	5	.200*	.933	5	.614
	P1	.331	5	.077	.817	5	.110
	P2	.214	5	.200*	.914	5	.493

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4. Hasil Tes ANOVA

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.096	3	2.699	3.796	.031
Within Groups	11.375	16	.711		
Total	19.471	19			

Lampiran 5. Hasil *test of homogeneity of variances*

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.445	3	16	.724

Lampiran 6. Hasil Tes Pos Hoc Bonferoni

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA

Bonferroni

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
C-	C+	-1.78600*	.53326	.024	-3.3902	-.1818
	P1	-1.08200	.53326	.357	-2.6862	.5222
	P2	-.98200	.53326	.505	-2.5862	.6222
C+	C-	1.78600*	.53326	.024	.1818	3.3902
	P1	.70400	.53326	1.000	-.9002	2.3082
	P2	.80400	.53326	.907	-.8002	2.4082
P1	C-	1.08200	.53326	.357	-.5222	2.6862
	C+	-.70400	.53326	1.000	-2.3082	.9002
	P2	.10000	.53326	1.000	-1.5042	1.7042
P2	C-	.98200	.53326	.505	-.6222	2.5862
	C+	-.80400	.53326	.907	-2.4082	.8002
	P1	-.10000	.53326	1.000	-1.7042	1.5042

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.