



Medical Technology and Public Health Journal

KETERKAITAN ANTARA SANITASI PONDOK PESANTREN DENGAN KEJADIAN PENYAKIT YANG DIALAMI SANTRI DI PONDOK PESANTREN SUNAN DRAJAT
Agus Aan Adriansyah

ANALISA KESADAHAN TOTAL DAN KADAR KLOORIDA AIR DI KECAMATAN TANGGULANGIN SIDOARJO
Devyana Dyah Wulandari

PENGARUH KEBUTUHAN GIZI TERHADAP PERUBAHAN BERAT BADAN IBU HAMIL DI DESA PETIS RT 02 RW 02 KECAMATAN DUDUK SAMPEYAN KABUPATEN GRESIK
Eppy Setiyowati dan Desi Emilyati

PENGARUH KEMAMPUAN IBU HAMIL DALAM MELAKUKAN DETEKSI DINI RISIKO PREEKLAMPSIA TERHADAP PARITAS, PENGETAHUAN DAN KETERPAPARAN INFORMASI
Rr. Galuh Ajeng Indu Dewi

PENGARUH UMUR KEHAMILAN USIA REMAJA, PENGETAHUAN IBU TENTANG ANEMIA, DAN STATUS GIZI TERHADAP KEJADIAN ANEMIA DI KECAMATAN SAWAHAN KOTA SURABAYA
Pratiwi Hariyani Putri

PENGARUH NORMAL FLORA *Streptococcus sp.* KARANG GIGI TERHADAP PEMERIKSAAN DARAH LENGKAP PADA MAHASISWA UNIVERSITAS NAHDLATUL ULAMA SURABAYA 2016
Rahayu Anggraini, Umi Hanik, Gilang Nugraha, dan Dwi Lestari Pertiwi

DETEKSI DELESI GEN DAZ (*Deleted in AZoospermia*) PADA PRIA AZOOSPERMIA DENGAN METODE PCR (*Polymerase Chain Reaction*)
V.A. Ferandra dan Sukarjati

EDITORIAL STAFF MEDICAL TECHNOLOGY AND PUBLIC HEALTH JOURNAL

Editor in Chief

Wiwik Afridah, SKM, M.Kes

Executive Editors

Firdaus, S.Kep. Ns., M.Kes

Board of Editors/ Reviewer

Prof. Dr. Tjipto Suwandi. dr., MOH., Sp.Ok

Prof. Dr. Tri Martiana, dr., MS.

Prof. Dr. Chatarina U. Wahjuni, dr., MS., MPH.

Prof. Dr. Merryana Adriani, SKM., M.Kes.

Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS., Sp.PK(K)

Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K)

Dr. Handayani, dr., M.Kes.

Ir. Yustinus Denny Ardyanto Wahyudiono, MS.

Dr. Sri Adiningsih, dr., MS., MCN.

Dr. Santi Martini, dr., M.Kes.

Dr. Juliana Christyaningsih, M.Kes.

Dr. Siti Nur Husnul Yusmiati, M.Kes.

Dr.Med. Hartian Pansori, M.Kes., Path.

Dr. Rahayu Anggraini, SKM., M.Si

Dr. M. Yusuf Alamudi, S.Si., M.Kes.

Dr. Miswar Fattah, M.Si.

Manuscript Editor

Agus Aan Adriansyah, S.KM., M.Kes.

Andreas Putro Ragil Santoso, SST., M.Si

Pratiwi Hariyani Putri, S.Gz., M.Kes.

Web Editor

Permadina Kanah A, S.Si., M.Si

Contact Address

Kampus B Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

Jl. Raya Jemursari 51-57 Surabaya Telp : 031-8479070, 8472040; Fax : 031-8433670

Email : journal.fkes@unusa.ac.id

Web: <http://journal.unusa.ac.id>

Contact Person

Agus Aan Adriansyah, S.KM., M.Kes.

Mobile: 081335770075



DETEKSI DELESI GEN DAZ (*Deleted in AZoospermia*) PADA PRIA AZOOSPERMIA DENGAN METODE PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

V.A. Ferandra¹ dan Sukarjati²

¹Mahasiswa Prodi Biologi FMIPA Universitas Adi Buana Surabaya

²Staf pengajar Prodi Biologi FMIPA Universitas Adi Buana Surabaya

Abstract

At this time the case of azoospermia is quite common in infertile men. Azoospermia is a condition where the semen does not contain sperm. Many causes azoospermia, including the deletion of a gene at the locus that is located on the Y chromosome long arm (Yq) known as AZF gene (Azoospermia Factor). One of the genes in the AZF region are genes that AZFc DAZ (Deleted in Azoospermia). The purpose of this study was to detect the presence of the DAZ gene deletions in men with azoospermia cases using PCR (Polymerase Chain Reaction). The study design was descriptive. Venous blood samples with EDTA anticoagulant taken from 10 men azoospermia then extracted to obtain DNA. DNA samples were then carried out PCR with primers DAZ. The PCR products were separated by electrophoresis in 2% agarose gel and visualized using UV transilluminator. Of the 10 samples, four patients including DAZ gene deletion was detected experience while the other six do not experience DAZ gene deletions. It concluded that found their DAZ gene deletions in men with azoospermia using the PCR method.

Keywords: *Azoospermia, DAZ (Deleted in Azoospermia), Deletions*

Abstrak

Pada saat ini kasus azoospermia cukup banyak terjadi pada pria infertil. Azoospermia adalah keadaan dimana cairan semen tidak mengandung spermatozoa. Banyak penyebab terjadinya azoospermia, diantaranya adalah delesi gen pada lokus yang terletak pada kromosom Y lengan panjang (Yq) yang dikenal sebagai gen AZF (*Azoospermia Factor*). Salah satu gen pada region AZF yaitu AZFc adalah gen DAZ (*Deleted in Azoospermia*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi adanya delesi gen DAZ pada pria dengan kasus azoospermia dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Desain penelitian adalah deskriptif. Sampel darah vena dengan antikoagulan EDTA diambil dari 10 pria azoospermia kemudian diekstraksi untuk mendapatkan DNA. DNA sampel kemudian dilakukan PCR dengan primer DAZ. Produk PCR dipisahkan secara elektroforesis dalam gel *agarose* 2% dan divisualisasikan menggunakan UV transilluminator. Dari 10 sampel, 4 pasien diantaranya terdeteksi mengalami delesi gen DAZ sedangkan 6 lainnya tidak mengalami delesi gen DAZ. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ditemukan adanya delesi gen DAZ pada pria azoospermia dengan menggunakan metode PCR.

Kata kunci: *Azoospermia, DAZ (Deleted in Azoospermia), Delesi.*

PENDAHULUAN

Infertilitas adalah suatu keadaan dimana pasangan suami-istri yang telah menikah selama satu tahun atau lebih telah melakukan hubungan seksual secara teratur dan adekuat tanpa memakai alat kontrasepsi tetapi tidak memperoleh kehamilan atau keturunan (Dohle *et al.*, 2010).

Faktor infertilitas pada pria adalah satu-satunya penyebab infertilitas pada sekitar 20% pasangan infertil, dengan tambahan 30% sampai 40% faktor sekunder yang diakibatkan oleh pria dan wanita. Berarti saat evaluasi infertilitas pada pria dengan analisis semen rutin termasuk volume, pH, konsentrasi sperma, motilitas, dan morfologi. (WHO, 1999) Namun sekitar 15% pasien dengan infertilitas pria memiliki analisis sperma yang normal (Agarwal *et al.*, 2005). Dikarenakan banyaknya faktor penyebab infertilitas, maka perlu dilakukan pemeriksaan untuk mengetahui penyebab infertilitas yang terjadi pada penderita. Kualitas sperma pria dan cara bersenggama dirasa sangat berpengaruh pada pasangan infertil. Pemeriksaan sperma biasa dilakukan untuk mengetahui kualitas sperma. Parameter dalam pemeriksaan sperma meliputi volume sperma, konsentrasi sperma, jumlah total sperma, motilitas, serta morfologi sperma.

Kasus *azoospermia* cukup banyak terjadi pada pria infertil. *Azoospermia* adalah keadaan dimana cairan semen tidak mengandung spermatozoa. *Azoospermia* (ketiadaan sperma)

dapat disebabkan karena adanya gangguan saat spermatogenesis, disfungsi ejakulasi ataupun karena adanya obstruksi. Kehadiran spermatozoa langka (<500.000/ml) dalam cairan mani setelah sentrifugasi disebut *cryptozoospermia*. Laboratorium WHO menetapkan batas toleransi jumlah sperma terendah yang masih dikatakan normal adalah ≥ 20 juta spermatozoa/ml atau jumlah sperma total ≥ 39 juta/ejakulasi (WHO, 2010). Secara molekuler, kasus infertilitas pada pria berkaitan dengan adanya delesi gen pada lokusnya terletak pada kromosom Y lengan panjang (Yq) yang dikenal sebagai gen AZF (*Azoospermia Factor*). Pada penelitian terdahulu telah membuktikan adanya korelasi positif antara kasus mutasi gen AZF dengan infertilitas. Gen AZF mensintesis protein untuk mengatur proses perkembangan sistem reproduksi khususnya dalam perkembangan gonad sehingga delesi pada gen ini dapat berakibat pada azoospermia maupun oligospermia. Gen AZF memiliki tiga subregion yaitu AZFa, AZFb, dan AZFc yang masing-masing mutasinya berpengaruh terhadap kegagalan produksi sperma.

Saat ini terdapat peningkatan data yang mengajukan hubungan antara kerusakan DNA sperma dan infertilitas. Untuk mengetahui fragmentasi DNA pada sperma perlu dilakukan uji fragmentasi. Uji fragmentasi DNA merupakan pemeriksaan untuk menilai integritas nukleus NA spermatozoa dan kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur. Integritas DNA yang abnormal dapat juga

menyebabkan gangguan pada perkembangan embrio namun tidak terlihat berhubungan dengan angka fertilisasi yang buruk (Agarwal *et al.*, 2008). Kerusakan DNA sangat mungkin terjadi pada kasus *azoospermia*. Kerusakan DNA tersebut akan dianalisis dengan cara ekstraksi bahan darah EDTA dari penderita *azoospermia* dengan menggunakan KIT untuk mendapatkan DNA nya kemudia dilakukan proses PCR (Polymerase Chain Reaction) dengan menggunakan primer (penanda) dari gen DAZ. Setelah proses tersebut kemudian dilanjutkan dengan elektrophoresis untuk mengetahui *band* atau pita yang terbentuk.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan penelitian *Cross sectional* yaitu rancangan penelitian dengan melakukan pengukuran atau pengamatan pada saat bersamaan atau sekali waktu (Hidayat, 2007). Sampel penelitian yang digunakan adalah darah EDTA yang diambil dari pria dengan *azoospermia*. Darah pria fertil digunakan sebagai kontrol positif dan darah wanita fertil digunakan sebagai kontrol negatif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

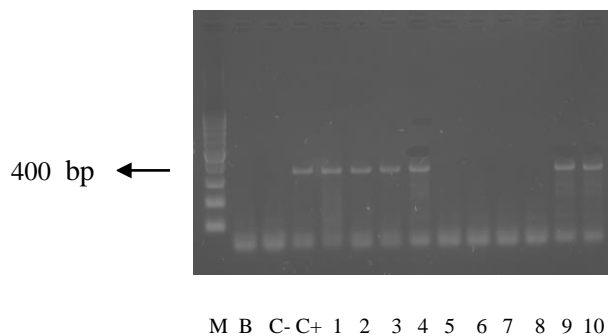
PCR menggunakan satu pasang primer forward 5'GGG TGT TAC CAG AAG GCA AA 3' dan primer revers 5' GAA CCG TAT CTA CCA AAG CAG C 3' dengan band target PCR 400 bp (Winarso *et al.*, 2011). Isolasi DNA menggunakan reagen DNA ekstraksi dari Qiagen

(*Blood and Tissue kit*). Reaksi PCR dengan 12,5 µl 2x Master Mix(Intron); 0,5 Destillated Water; 1 µl primer DAZ-1 (forward) 10 pmol; 1 µl primer DAZ-2 (revers) 10 pmol; dan 5 µl DNA sampel, sehingga total reaksi menjadi 20 µl; pre-denaturasi 94⁰C selama 5 menit, denaturasi 94⁰C selama 1 menit, annealing 63⁰C selama 1 menit, extension 72⁰C selama 1 menit, dan final extension 72⁰C selama 5 menit dengan 35 siklus. Produk PCR di elektroforesis dengan 2 % gel agarose selama 30 menit kemudian di amati pada UV Transullinator (Winarso *et al.*, 2011).

Penelitian ini menggunakan analisa kualitatif deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui frekuensi gen DAZ yang mengalami delesi pada pria *azoospermia*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang diperoleh dijumpai pria *azoospermia* dengan rentang umur 28 tahun hingga 35 tahun dengan 4 pria mengalami delesi gen DAZ. Hal ini dibuktikan dengan tidak terbentuknya *band* pada target 400 bp yang merupakan *band* target dari gen DAZ. Tidak ditemukan adanya delesi gen DAZ pada pria *normozoospermia* sebagai kontrol positif yang ditandai dengan terbentuknya band (pita) spesifik pada target 400 bp. Demikian pula pada sampel wanita fertil sebagai kontrol negatif tidak terbentuk band (pita) spesifik pada target.



Gambar 1.

Hasil elektroforesis produk PCR gen DAZ pada wanita fertil sebagai kontrol negatif, pria normozoospermia sebagai kontrol positif, blanko, dan sampel pria azoospermia serta marker DNA 100 bp.

Berdasarkan gambar tersebut didapatkan data sebagai berikut :

Kode Sampel	Umur	Lama Menikah	Jumlah Spermatozoa (juta/ejakulat)	Hasil PCR Gen DAZ	Keterangan
DAZ 1	35	5	0	Positif	Tidak delesi
DAZ 2	28	2	0	Positif	Tidak delesi
DAZ 3	30	4	0	Positif	Tidak delesi
DAZ 4	33	4	0	Positif	Tidak delesi
DAZ 5	32	3	0	Negatif	Delesi
DAZ 6	30	4	0	Negatif	Delesi
DAZ 7	28	2	0	Negatif	Delesi
DAZ 8	34	5	0	Negatif	Delesi
DAZ 9	33	5	0	Positif	Tidak delesi
DAZ 10	30	3	0	Positif	Tidak delesi

Gen DAZ merupakan gen terkait dengan spermatogenesis, terletak pada sub region AZF pada kromosom Y. Karena terletak pada kromosom Y maka kelainan ini bisa diturunkan kepada anak laki-lakinya dengan manifestasi kualitas sperma yang sub normal (Vogt *et al.*, 1996). Pria dengan kualitas sperma kurang bagus karena faktor delesi gen DAZ, prevalensinya akan meningkat karena kelainan gen tersebut akan diturunkan pada generasi berikutnya. Pria azoospermia memiliki gambaran histologis yang

bervariasi yaitu SCOS, *meiosis arrest*, *maturation arrest* pada tahap spermatosit dan spermatid.

Pada penelitian ini terlihat bahwa 40% infertilitas yang terjadi pada sampel pria azoospermia terjadi karena faktor genetik yaitu gangguan gen penyandi spermatogenesis (delesi gen DAZ), maka langkah penggunaan teknik bantu reproduksi (*Assisted Reproductive Techniques – ART*) perlu difikirkan dan diadvikan pada penderita yang mengalami infertilitas selagi jumlah spermatozoa belum semakin jelek. Sedangkan 60% sisanya dideteksi masih memiliki gen DAZ walaupun dinyatakan azoospermia. Hal ini diduga karena pria tersebut tidak mengalami delesi pada gen DAZ yang letaknya adalah pada sub region AZFc melainkan pada gen yang lain dari sub region AZFc maupun sub region yang lain. Mengingat bahwa satu bagian penting dari pengaturan spermatogenesis dimainkan oleh region AZF (AZFa, AZFb, dan AZFc) yang berlokasi di bagian eukromatin lengan panjang kromosom Y dan masing-masing sub region memiliki gen yang bermacam-macam. Namun demikian, secara umum delesi pada sub region AZFc (60%) lebih sering terjadi dibanding sub region AZFb (16%) atau AZFa (5%) (Hoffer *et al.*, 1999; Krausz and McElreavey, 1999; Seifer *et al.*, 1999; Tse *et al.*, 2000; 8).

Pada individu yang mengalami delesi gen subregion AZF seperti gen DAZ, lazimnya akan mengalami penurunan kualitas sperma seiring

dengan berlangsungnya waktu dan gangguan seperti ini tidak dapat diperbaiki dengan pengobatan medikamentosa. Memilih langkah pengobatan ataupun terapi yang tepat akan membantu untuk efisiensi dan efektivitas dalam pencapaian tujuan mengatasi infertilitas.

Mengingat pentingnya pemeriksaan ini, maka perlu dilakukan analisis mikrodeselesi lebih lanjut dengan jumlah sampel dan target gen pada kromosom Y yang lebih banyak. Pemeriksaan delesi kromosom Y pada pria infertil azoospermia memiliki implikasi klinis dan etik yang penting, terutama dengan semakin meningkatnya keberhasilan teknik reproduksi berbantuan pada pasien azoospermia. Analisis mikrodeselesi diharapkan akan membantu ahli andrologi dalam diagnosis dan pemberian terapi.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa terdeteksi adanya delesi gen DAZ pada pria azoospermia dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

REFERENSI

1. Agulnik A, Zharkikh A, Boettger-Tong H, Bourgeron T, McElreavey K, Bishop C. 1998. *Evolution of DAZ Gene Family Suggests that Ylinked DAZ Plays Little, or Role in Spermatogenesis but Underlines A Recent African Origin for Human*
2. Annonimus. 2007. *Agarose Gel Electrophoresis*. Treseder Lab Protocol Molecular Techniques. Rev. 08
3. Arabia M. 2004. *Nicotinic infertility: assessing DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa*. *Andrologia*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Tanggal unduh 12 Desember 2015
4. Depkes. 2015. *Rencana Kesehatan RI 2015*. www.depkes.go.id. Tanggal akses 21 Desember 2015
5. Duyk, G.M., Kim, S., Meyers, R.M., Cox, D.R., 1990. *Exon Trapping: A Genetic Screen To Identify Candidate Transcribed Sequences In Cloned Mammalian Genomic DNA*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 87; hal. 8995–8999.
6. El Awwady MK, El Shater SF, Ragan AE, Atef K, Shaheen IM. 2004. *Molecular Study on Y Chromosome Microdeletion in Egyptian Males With Idiopathic Infertility*. *Asian J Androl*. 6 (1) : hal. 53-57
7. Ferlin A, Andrea Betella, Elena Salata, Bruno Dallapiccola, Carlo Foresta. 2004. *Analysis of the DAZ Gene Family in Cryptorchidism and Idiopathic Male Infertility*. *Science Direct*. April Vol. 81 (4); hal. 1013-1018
8. Foresta C, Ferlin A, Moro E, Marin P, Rossi A, Scandellari C. 2001. *Microdeletion Of Chromosome Y In Male Infertility: Role Of*

- The DAZ Gene*. Ann Ital Med Int. April-Juni 16(2):hal. 82-92.
9. Frenandes JL, Lourdes Muriel, Vicente Goyanes, Rosana V, Juan G.2003. *The Sperm Chromatin Dispersion Test : A Simple For Determination Of Sperm DNA Frragmentation*. American Society of Andrology, Vol. 24 (1); hal. 59-66.
 10. Hanizar E, 2004. *Delesi Region AZF (Azoospermic Factor) dalam Kromosom Y Pria Pasangan Infertil Berdasarkan Etnis Di Indonesia*. Disertasi, Pascasarjana Universitas Airlangga.
 11. Hargreave TB, 1999. *Understanding the Y Chromosome*. Lancet. Nov.20.
 12. Innis MA, Myambo, Gelfand, dan Brow MAD.1990. *DNA Sequencing With Thermus Aquaticus DNA Polymerase And Direct Sequencing Of Polymerase Chain Reaction Amplified DNA*. Proc. Natl. Sci. USA 85; hal. 9436-9440.
 13. Kim, B., Lee, Y., Kim, Y., Lee, K. H., Chun, S., Rhee, K., Seo, J. T., Kim, S. W., and Paick, J. S. 2009. *Polymorphic Expression Of DAZ Proteins In The Human Testis*. Hum. Reprod, 24; hal. 1507–1515.
 14. Kuroda-Kawaguchi, T., Skaletsky, H., Brown, L. G., Minx, P. J., Cordum, H. S., Waterston, R. H., Wilson, R. K., Silber, S., Oates, R., Rozen, S., and Page, D. C.2001. *The Azfc Region Of The Y Chromosome Features Massive Palindromes And Uniform Recurrent Deletions In Infertile Men*. Nat. Genet. 29; hal. 279–286.
 15. Loginova JA, Nagoryana II, Shlikova SA.2003. *Molecular Genetic Analysis Of Y Chromosom Microdeletion In Men With Severe Spermatogenic Deffects*. Molecular Biology. 37 : hal. 67-72.
 16. Ma K, English JD, Sharkey A.1993. *A Y Chromosome Gene Family With RNA-Binding Protein Homology : Candidates For The Azoospermia Factor AZF Controlling Human Spermatogenesis*. Cell, 75; hal. 1287-1295.
 17. Mark S. Fox Renee A. Reijo Pera.2001. *Male Infertility, Genetic Analysis Of The DAZ Genes On The Human Y Chromosome And Genetic Analysis Of DNA Repair*. Molecular and Cellular Endocrinology 184: hal. 41–49.
 18. Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S.2009. *Genetics of human male infertility*. Singapore Medical Journal, 50(4): hal. 336-347.
 19. Qiagen.2006. Blood and Tissue Handbook. www.qiagen.com. Tanggal unduh 19 Desember 2015.
 20. Reijo, R., Lee T., Alagappan, R.1995. *Diverse Spermatogenic Defects In Human Caused By Y Chromosome Deeletions Encompassing A Novel RNA-Binding Protein Gene*. Nature Genet, 10; hal. 383-393.

21. Singh A dan Agarwal A.2011. *The Role Of Sperm Chromatin Integrity And DNA Damage On Male Infertility*. The Open Reproductive Science Journal 3: hal. 65-71.
22. Sunarno, Joko Malis.2009. *Distribusi Gen Azoospermia Factor (AZF) pada Pasien dengan Hipospadia*. Tesis, Pascasarjana Universitas Diponegoro.
23. Suryandari Dwi Anita, Nukman Moeloek, Mila Citrawati, Puji Sari, Yanuardi. 2006. *Analisis Mikrodelesi Kromosom Y pada Pria Azoospermia di Indonesia*. Makara, Kesehatan Vol.10 No.1 : 41-46.
24. Valko.2006. *Genes And Population*. In I.D. Young (Eds), Medical Genetics 1st Edition. New York: Oxford University Press, Inc. Hal. 136-151.
25. Van Gompel and Xu Yujun E.2010. *A Novel Requirement In Mammalian Spermatid Differentiation For The DAZ-Family Protein Boule*. Human Molecular genetic.
26. Vogt P.H, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Kohn F.M, Schill W.B, Farah S, Ramos C, Hartmann M, Hartschuh W, Meschede D, Behre H.M, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Grone H.J, Jung A, Engel W & Haidl G.1996. *Human Y Chromosome Azoospermia Factor (AZF) Mapped To Different Sub-Region In Yg11*. Human Mole. Gen. 5: hal. 933–943.
27. Winarso Hudi *, P.G. Konthen*, F.M. Judajana*. 2011. *Mikrodelesi Gen RBM Dan DAZ Pada Pria Pasangan Infertil Dalam Masyarakat Yang Melakukan Kawin Kerabat*. JBP Vol. 13, No. 1.
28. Woodruff Leigh Ann. 2012. *Fertility Clinic Testing for Sperm DNA Fragmentation*. <https://www.scsadiagnostics.com>. Tanggal 12 Desember 2015.
29. Yen PH, Chai NN, Salido EC.1997. *The Human DAZ Genes, A Putative Male Infertility Factor On The Y Chromosome, Are Highly Polymorphic In The DAZ Repeat Regions*. Mamm Genome. Oktober; 8(10): hal. 756-9.
30. Yoshida K. 1998. *The Mouse Reca-Like Gene Dmcl Is Required For Homologous Chromosome Synapsis During Meiosis*. Mol. Cell 1, hal. 707–718.
31. Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. 2001. *Correlations Between Two Markers Of Sperm DNA Integrity, DNA Denaturation And DNA Fragmentation, In Fertile And Infertile Men*. Fertil Steril, 75: hal. 674–677.

**Medical Technology
and Public Health Journal**

Website : <http://journal.unusa.ac.id>

Email : journal.fkes@unusa.ac.id



Penerbit UNUSA PRESS
Surabaya



9 772549 189003