



## Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kualitas Sperma Tikus yang Terpapar Asap Rokok

Herdiatmaja Nugroho Dewanto<sup>✉</sup>, Lisdiana, Wiwi Isnaeni

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

### Info Artikel

Diterima: 1 September 2017  
Disetujui: 1 September 2017  
Dipublikasikan: 1 Oktober 2017

#### Keywords:

Asap rokok, ekstrak kulit buah rambutan, kualitas sperma.

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah rambutan (per oral) terhadap kualitas sperma tikus yang dipapar asap rokok (inhalasi). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Subyek penelitian sebanyak 25 ekor tikus putih jantan galur wistar usia 2-3 bulan, dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yaitu K-I sampai dengan K-5. K-I adalah kelompok kontrol, K-II kelompok dengan perlakuan rokok 3 batang/hari, sedangkan K-III, K-IV dan K-V diperlakukan dengan rokok dan ekstrak kulit buah rambutan dosis 15mg/kg BB/hari, 30mg/kg BB/hari dan 45mg/kg BB/hari. Kulit rambutan yang diekstrak adalah rambutan kultivar lokal (*Nephelium Lappaceum*). Perlakuan diberikan selama 30 hari. Data yang diamati adalah jumlah sperma, jumlah sperma motil, viabilitas sperma (jumlah sperma yang bertahan hidup), dan jumlah sperma abnormal. Analisis data menggunakan ANAVA satu jalan dan uji BNT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah rambutan berpengaruh dalam meningkatkan kualitas sperma yang telah dipapar asap rokok. Dosis ekstrak kulit buah rambutan yang paling berpengaruh adalah 45 mg/kg BB/hari.

### Abstract

*This research aimed to know more about the influence of rambutan peel extract (per oral) on mice sperm quality exposed by cigarette smoke (inhalation). The research was a completely randomized experimental design. The research subject as many as 25 male mice (wistar strain) who were randomly divided into 5 groups K-I to K-5. K-I was control group, K-II was given exposure to smoke from 3 bar cigarette/day group, when K-III, K-IV and K-V were given cigarette and rambutan peels extract of 15, 30, 45mg/kg dose of body weight/day group. The rambutan peel which were extracted was local cultivar (*Nephelium Lappaceum*). The treatment was given for 30 days. The parameter observed were the number of sperms, motility, viability (the number of life sperms), and abnormality. Data analyzed by one way ANAVA and BNT test. The results showed that rambutan peel extract could increase the sperms quality exposed by cigarette smoke. The most optimum rambutan peel extract dose was 45mg/kg of body weight/day*

## PENDAHULUAN

Asap rokok mengandung komponen-komponen yang beraneka ragam dan kebanyakan bersifat toksik bagi tubuh. Komponen yang dihisap dari asap rokok dapat berupa radikal bebas, nikotin, mutagen atau karsinogen dan konstituen lainnya (Ishlahiyah & Juniarto 2006). Ada tiga komponen toksik utama yang terdapat dalam asap rokok yaitu karbon monoksida, nikotin dan tar (Batubara *et al.* 2013). Dengan adanya kandungan zat kimia tersebut, maka dapat dipastikan efek rokok sangat merugikan kesehatan. Hal ini bukan saja bagi perokok tapi juga berakibat bagi orang-orang yang tidak merokok namun terkena asapnya (perokok pasif).

Asap rokok dapat menimbulkan gangguan hormonal, spermatogenesis, merusak viabilitas spermatozoa dan menyebabkan adanya bahan toksik pada spermatozoa. Gangguan terhadap sel spermatozoa menyebabkan penurunan kualitas semen dan terjadinya kemandulan. Kemampuan spermatozoa membuahi sel telur dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas spermatozoa (konsentrasi, motilitas, dan morfologi spermatozoa). Spermatozoa yang kualitasnya rendah tidak dapat membuahi sel telur (Amarudin 2009). Nugraheni *et al.* (2003) juga menyatakan bahwa kandungan tembakau yang ada di dalam asap rokok juga dapat menurunkan kualitas spermatogenesis mencit (*Mus musculus* L.) yang meliputi jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid dan lapisan sel serta menurunkan kualitas spermatozoa yang meliputi viabilitas dan kecepatan gerak.

Bidang kesehatan reproduksi mulai memfokuskan perhatian terhadap penelitian tentang Reactive Oxygen Species (ROS) yang menjadi salah satu mediator terjadinya infertilitas. Produksi ROS akan meningkat dengan adanya pengaruh dari lingkungan dan faktor gaya hidup seperti polusi udara dan merokok. *Polynuclear Aromatic Hydrogen* (PAH) yang terkandung dalam asap rokok dapat menyebabkan atrofi testis, menghambat spermatogenesis, dan merusak morfologi spermatozoa, sedangkan paparan nikotin menyebabkan penurunan kadar hormon testosteron melalui mekanisme penghambatan fungsi sel Leydig yang berfungsi sebagai sekretor hormon testosteron. Nikotin juga dapat mempengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan cara menghambat kerja *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), sehingga pembentukan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan Luteinizing hormone (LH) terhambat. Terhambatnya pembentukan FSH dan LH akan mengakibatkan spermatogenesis berjalan tidak normal (Musfiroh *et al.* 2012).

Berdasarkan hasil penelitian Batubara *et al.* (2013) menyatakan bahwa semakin banyak jumlah paparan yang diberikan maka semakin menurunkan kualitas spermatozoa mencit yang meliputi konsentrasi, motilitas, dan morfologi. Efek negatif atau penurunan kualitas spermatozoa ini diduga disebabkan oleh kandungan zat kimia yang terdapat dalam asap rokok yang dapat menimbulkan peningkatan produksi radikal bebas sehingga mencetuskan keadaan yang disebut stres oksidatif. Perlawanan utama terhadap stres oksidatif ini dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan. Antioksidan adalah suatu senyawa yang mampu melindungi jaringan dari kerusakan akibat oksidasi.

Rambutan sangat banyak macam kultivar. Salah satunya adalah *Nephelium Lappaceum* merupakan kultivar lokal di Sekaran Gunungpati Semarang. Kulit buah rambutan diketahui mengandung beberapa senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan dalam buah dan kulit buah rambutan lebih banyak dalam bentuk senyawa steroid, terpenoid, tannin, saponin, fenolik dan flavonoid, dengan kandungan tertinggi adalah senyawa golongan fenolik (Thitilertdech *et al.* 2008). Fenolik yang terkandung dalam kulit buah rambutan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Menurut Thitilertdech *et al.* (2010), kulit buah rambutan mengandung senyawa fenolik dalam bentuk polifenol dengan komponen utama asam ellagat, geraniin dan coraligin.

Kandungan kulit buah rambutan yang berperan sebagai antioksidan yaitu flavonoid dan tanin. Flavonoid yang terdapat pada ekstrak kulit buah rambutan diduga dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid pada tahap inisiasi, sehingga radikal bebas tidak dapat berkembang menjadi radikal bebas yang baru (Murray 2009). Flavonoid ini diduga berpotensi mengendalikan dan mengurangi peroksidase lipid melalui mekanisme antioksidan pemutus rantai dengan menangkap radikal  $ROO\cdot$ . Flavonoid dapat memberikan donor  $H^+$  dan berikatan dengan radikal  $ROO\cdot$  sehingga radikal ini dapat bersifat stabil.

Penelitian secara ilmiah mengenai aktivitas antioksidan dari kulit buah rambutan yang tumbuh di Indonesia hingga saat ini belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah rambutan terhadap kualitas sperma tikus yang terpapar asap rokok.

## METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan bulan Desember 2015 di Laboratorium Biologi FMIPA UNNES Sekaran Gunungpati Semarang. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Kelompok perlakuan (K-II sampai dengan K-5) diberi ekstrak kulit buah rambutan per oral dengan dosis bertingkat (15 mg/Kg BB, 30 mg/Kg BB, 45 mg/Kg BB).

Kulit buah rambutan kultivar lokal (*Nephelium Lappaceum*) diperoleh sebanyak 3 kg dicuci bersih dan diiris kecil-kecil kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Kulit buah rambutan yang sudah kering direndam dalam methanol di dalam beker glass yang ditutup dengan kertas aluminium foil selama 3 hari. Setelah proses ekstraksi, larutan ekstrak dipisahkan dengan kertas saring dan selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan rotary evaporator untuk menguapkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak yang kering sebanyak 1,5 kg berupa serbuk. Ekstrak kulit buah rambutan yang berbentuk serbuk kemudian ditimbang dan dilarutkan dalam aquades.

Subyek penelitian adalah 25 ekor tikus galur *wistar* jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 180-200 gram, sehat dan tidak cacat yang diperoleh dari Laboratorium Biologi FMIPA UNNES yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus. K-I (kontrol) hanya diberi pakan dan minum saja, K-II hanya diberi rokok, K-III, K-IV dan K-V diberi perlakuan rokok dan ekstrak kulit buah rambutan. Pengasapan dilakukan menggunakan 3 batang rokok kretek masing-masing diberikan selama 15 menit pada jam 08.00, jam 12.00 dan jam 14.00 WIB selama 30 hari. Sedangkan pemberian ekstrak kulit buah rambutan dengan dosis 15, 30 dan 45 mg/kg BB pada jam 10.00 selama 30 hari, 1x sehari. Pada hari ke-31 semua tikus akan di nekropsi.

Kualitas spermatozoa yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah sperma, jumlah sperma motil, viabilitas sperma, dan jumlah sperma abnormal. Analisis data menggunakan ANAVA satu jalan dan jika data signifikan dilakukan uji lanjut BNT.

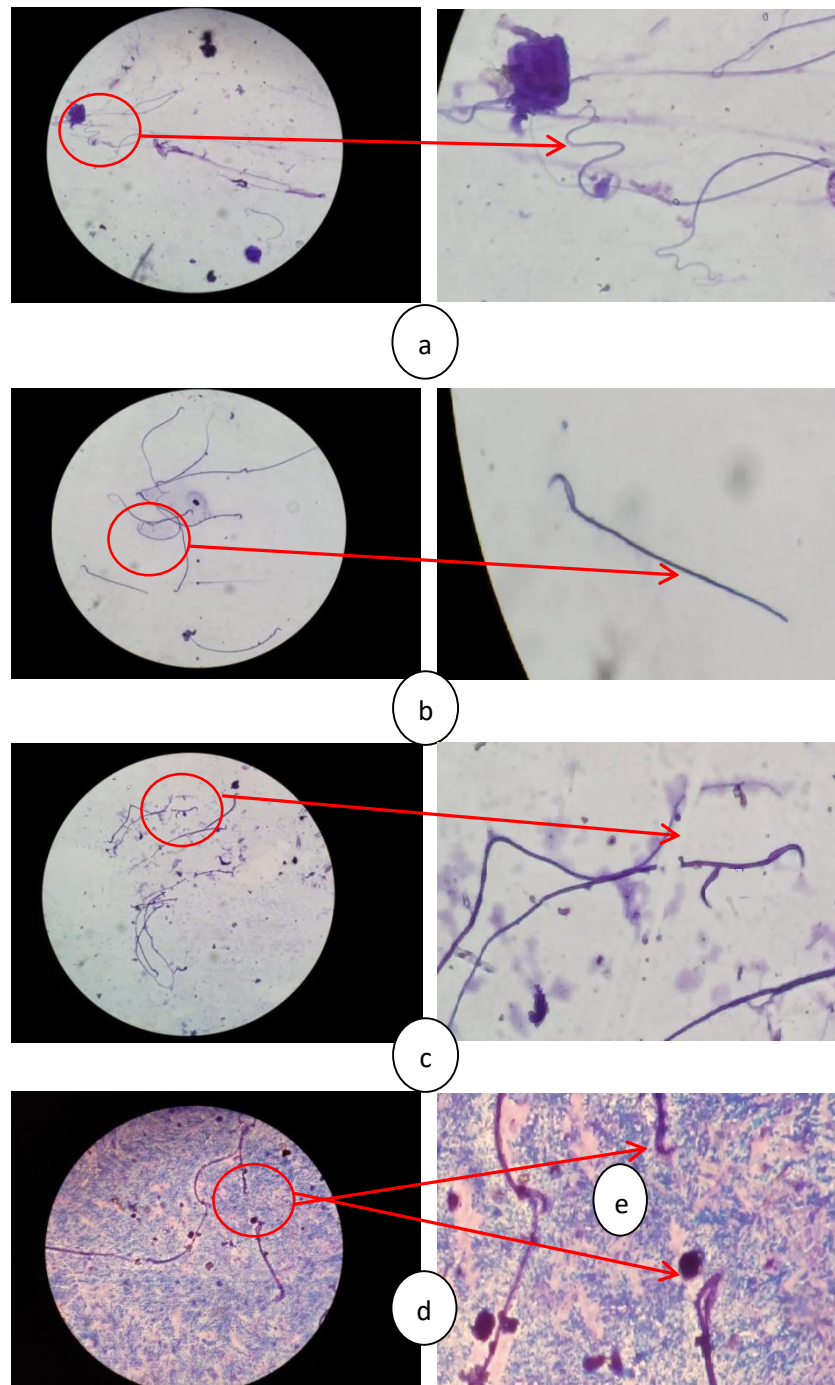
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pengaruh ekstrak kulit buah rambutan terhadap kualitas sperma pada parameter jumlah sperma, jumlah sperma motil, viabilitas sperma, dan jumlah sperma abnormal disajikan pada Tabel 1. Jumlah sperma abnormal dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.

**Tabel 1.** Hasil penelitian pengaruh ekstrak kulit buah rambutan terhadap keempat parameter kualitas sperma selama 30 hari

Kelompok	Rerata Jumlah Sperma	Rerata Jumlah Sperma Motil	Rerata Viabilitas	Rerata Jumlah Sperma Abnormal
I	90,4 <sup>a</sup>	79,6 <sup>a</sup>	68,2 <sup>a</sup>	9,6 <sup>a</sup>
II	23 <sup>b</sup>	9,4 <sup>b</sup>	30,6 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>
III	45,4 <sup>bc</sup>	53,4 <sup>c</sup>	37,8 <sup>b</sup>	22,6 <sup>b</sup>
IV	61,6 <sup>cd</sup>	63,4 <sup>d</sup>	51 <sup>c</sup>	16,2 <sup>c</sup>
V	76,6 <sup>ad</sup>	73,4 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	12,6 <sup>ac</sup>

Data diperoleh dari rata-rata lima ulangan



**Gambar 1.** Hasil pengamatan bentuk-bentuk jumlah sperma abnormal: (a) sperma dengan ekor keriting, (b) sperma dengan ekor pendek, (c) sperma dengan kepala 2, (d) sperma dengan kepala besar, dan (e) sperma dengan kepala normal.

Sperma merupakan sel yang dihasilkan oleh fungsi reproduksi pria. Sel tersebut mempunyai bentuk khas yaitu mempunyai kepala, leher dan ekor. Spermatozoa merupakan sel hasil maturasi dari sel epitel germinal yang disebut spermatogonia. Spermatogonia terletak dalam dua sampai tiga lapisan sepanjang batas luar epitel tubulus. Proses perkembangan spermatogonia menjadi sperma disebut spermatogenesis. Terhambatnya pembentukan FSH dan LH akan mengakibatkan spermatogenesis berjalan tidak normal

(Musfiroh *et al.* 2012). Jika proses spermatogenesis terganggu, maka hasil dari spermatogenesis juga akan terganggu.

Kelainan spermatogenesis dipengaruhi oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen meliputi hormonal, psikologis, dan genetik. Faktor eksogen dapat berupa bahan kimia, obat-obatan, logam berat, suhu, radiasi sinar X, getaran ultrasonik, vitamin, gizi, trauma dan peradangan (Gupta *et al.* 2005).

Penyebab kerusakan sel ataupun jaringan salah satunya adalah akibat pembentukan radikal bebas. Radikal bebas merupakan salah satu bentuk Reactive Oxygen Species (ROS). ROS juga mampu secara langsung merusak DNA sperma dengan menyerang basa purin dan pirimidin. ROS juga dapat menginisiasi terjadinya apoptosis dalam sperma, menyebabkan aktifnya enzim-enzim caspase untuk mendegradasi DNA sperma (Hayati *et al.* 2006).

Kandungan dalam asap rokok dapat meningkatkan ROS dan menurunkan antioksidan di cairan semen (Saleh *et al.* 2003) sehingga lebih rentan mengalami infertilitas karena meningkatnya produksi radikal bebas di dalam sperma, menyebabkan kerusakan DNA dan apoptosis sel sperma (Vine *et al.* 1996). Radikal bebas yang berasal dari partikel gas rokok juga menyebabkan terjadinya aglutinasi sperma sehingga berakibat terhadap menurunnya motilitas sperma (Argawal *et al.* 2003).

Asap rokok dapat menginduksi terjadinya oksidasi lipid, terutama pada rantai asam lemak tidak jenuh. Lipid yang mengalami oksidasi ini akan menjalani reaksi lanjutan secara berantai membentuk produk radikal seperti radikal bebas peroksil, radikal bebas PUFA, dan radikal bebas superoksida. Peningkatan jumlah radikal ini akan mengakibatkan terjadinya dekomposisi asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida yang sangat tidak stabil. Peroksidasi lipid akan menyebabkan kerusakan struktur dan terganggunya metabolisme spermatozoa yang berakibat spermatozoa mati.

Saat terdapat radikal bebas, lipid peroksida meningkat karena adanya reaksi antara lipid dengan radikal bebas. Pada tahap awal reaksi terjadi pelepasan hidrogen dari asam lemak tidak jenuh secara homolitik sehingga terbentuk radikal alkil yang terjadi karena adanya inisiator (panas, oksigen aktif, logam atau cahaya). Pada keadaan normal radikal alkil cepat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi dimana radikal peroksi ini bereaksi lebih lanjut dengan asam lemak tidak jenuh membentuk hidroperoksida dengan radikal alkil, kemudian radikal alkil yang terbentuk ini bereaksi dengan oksigen. Dengan demikian reaksi otoksidasi adalah reaksi berantai radikal bebas. Oleh karena membran sel mitokondria kaya akan lipid yang peka terhadap serangan radikal bebas (Lyn 2006).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak dengan cara menyumbangkan elektron hidrogen kepada radikal bebas untuk menjadi radikal bebas stabil yang sifatnya tidak merusak. Salah satu antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit buah rambutan.

Ekstrak kulit buah rambutan dengan kadar 15 mg/kgBB telah mampu menekan kadar MDA sebesar 90 ng/ml (Dewi *et al.* 2013). Hal ini berarti dengan pemberian ekstrak kulit buah rambutan dengan kadar 15 mg/kgBB sudah dapat menekan terjadinya peroksidasi lipid pada tikus. Kandungan kulit buah rambutan yang berperan sebagai antioksidan yaitu flavonoid dan tanin. Flavonoid inilah yang dapat mencegah terjadinya stress oksidatif. Flavonoid yang terdapat pada ekstrak kulit buah rambutan diduga dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid pada tahap inisiasi, sehingga radikal bebas tidak dapat berkembang menjadi radikal bebas yang baru (Murray 2009).

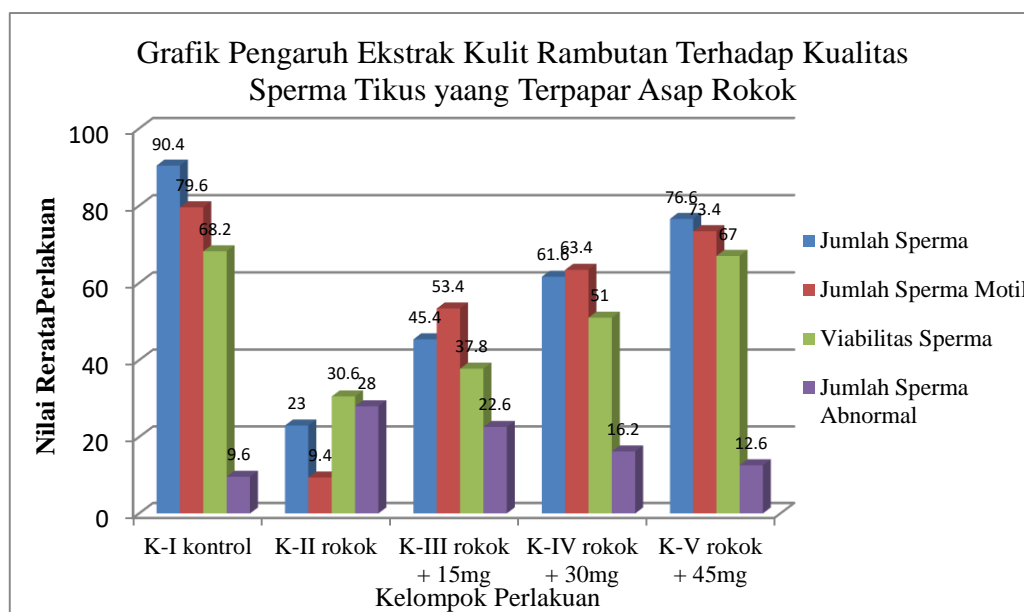
Flavonoid dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Turunan radikal antioksidan ( $A^*$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Radikal-radikal antioksidan ( $A^*$ ) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon 1990).

Flavonoid ini diduga berpotensi mengendalikan dan mengurangi peroksidase lipid melalui mekanisme antioksidan pemutus rantai dengan menangkap radikal ROO<sup>-</sup>. Flavonoid dapat memberikan donor H<sup>+</sup> dan berikatan dengan radikal ROO<sup>-</sup> sehingga radikal ini dapat bersifat stabil. Kestabilan ini menyebabkan terhentinya reaksi berantai peroksidase lipid. Reaksi penghambatan tertera sebagai berikut:



Pada penelitian ini, tikus yang diberi ekstrak kulit buah rambutan dengan dosis 45 mg/kg BB memiliki nilai rerata yang tinggi untuk semua variabel penelitian dibandingkan dengan dosis 15 mg/kg BB dan 30 mg/kg BB dan nilai rerata ini mendekati nilai kelompok kontrol (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian dosis ekstrak kulit buah rambutan 45 mg/kg BB sperma tikus yang terpapar asap rokok memiliki kualitas yang hampir sama dengan kualitas sperma yang normal

**Gambar 2.** Grafik pengaruh ekstrak kulit buah rambutan terhadap kualitas sperma tikus yang terpapar asap rokok.



Paparan asap rokok per oral selama 30 hari dapat menyebabkan berkurangnya kualitas sperma, dalam hal ini jumlah sperma, jumlah sperma motil, viabilitas sperma, dan jumlah sperma abnormal. Untuk mempertahankan jumlah sperma, jumlah sperma motil, viabilitas sperma, dan jumlah sperma abnormal, pemberian ekstrak kulit buah rambutan 15 mg/hari pada K-III mampu menangkai radikal bebas tetapi belum menunjukkan hasil yang signifikan. Pemberian ekstrak kulit buah rambutan 30 mg/hari pada K-IV lebih efektif untuk menangkai radikal bebas daripada K-III untuk meningkatkan kualitas sperma. Dan dosis yang paling optimal adalah 45mg/hari. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah rambutan dengan dosis bertingkat menunjukkan hasil lebih baik untuk mencegah radikal bebas dari asap rokok karena senyawa antioksidan dalam ekstrak kulit buah rambutan memiliki kemampuan menghentikan lipid peroksida dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksil yang bersifat radikal sehingga menjadi lipid peroksida yang kurang reaktif dan tidak merusak.

## SIMPULAN

Dosis ekstrak kulit buah rambutan yang paling optimal dalam meningkatkan kualitas sperma tikus yang telah dipapar asap rokok adalah 45 mg/kg BB/hari.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amarudin. 2009. Hubungan Antara Infertilitas dengan Kualitas Spermatozoa pada Pria di Jakrta. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Respati Indonesia.
- Argawal A, Saleh RA & Bedaiwy MA. 2003. Role of Reactive Oxygen Species in The Pathophysiology of Human Reproduction. *J. Fertil Steril* 79: 829-843.
- Batubara IVD, Wantouw B & Tendean L. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)* 1(1): 330-337.
- Dewi AK, Umie L & Sri RL. 2013. The Effect of Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) Peel Extract on Lipid Peroxidation in Liver of Obese Rats. *Makalah disajikan dalam International Conference Biologi Sciences*, di UGM tanggal 20-21 September.
- Gordon M. 1990. *The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro*. Di dalam: Hudson, B. J. F. (Ed.) *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science. New York. Hal: 1-18.
- Gupta S, Pandey R, Katyai R, Aggarwal HK, Aggarwal RP, & Aggarwal SK. 2005. Lipid peroxide levels and antioxidant status in alcoholic liver disease. *Ind J Clinic Biochem*. 20(1): 67-71.
- Hayati A, Rahmaninta DA, Pidada IB. 2005. Spermatozoa motility and morphological recovery process in mice (*Mus musculus*) after the induction of 2-methoxymethanol. *J of Folia Medica Indonesiana* 41(2): 90-95.
- Ishlahiyah C & Juniarto AZ. 2006. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan Strain Balb/c yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Artikel Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang*.
- Lin J, Mary AD, Fera, & Clifton AB. 2005. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Inhibits Adipogenesis and Induce Apoptosis in 3T3-L1 Adipocyte, *Obesity Research*.
- Murray RK, Granner DK, & Rodwell VW. 2009. *Biokimia Harper, Ed. 27*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Musfiroh M, Rifki M & Noor W. 2012. Pengaruh Minyak *Nigella sativa* Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar yang Terpapar Asap Rokok. *J Indon Med Assoc* 62(5).
- Nugraheni T, Astirin OP & Widiyanti T. 2003. Pengaruh Vitamin C terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) setelah Pemberian Ekstrak Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*). *Biofarmasi* 1(1): 13-19
- Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El Tonsy MH, Sharma RK & Meter A. 2003. Negative Effects of Increased Sperm DNA Damage in Relation to Seminal Oxidative Stress in Men with Idiopathic and Male Factor Infertility. *J. Fertil Steril* 79(3): 1597-160.
- Thitilertdech N, Teerawattgulrag A, Rakariyatham N & Kilburn JD. 2010. Identification of Major Phenolic Compounds from *Nephelium lappaceum L.* and their Antioxidant Activities. *Journal Molecules* 15: 1453-1465.
- Thitilertdech N, Teerawattgulrag A, & Rakariyatham N. 2008. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Nephelium lappaceum L.* extracts., *Food Science and Technology, Elsevier*.
- Vine MF. 1996. Smoking and Male Reproduction. *International Journal of Andrology*, Departement of Epidemiology, School of Public Health, University of North Carolina.