



**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT JANTAN
STRAIN BALB/C YANG DIBERI
PAPARAN ASAP ROKOK**

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas
Kedokteran

Disusun oleh:

NAMA : CITA ISHLAHIYAH
NIM : G2A002046

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006**

LEMBAR PENGESAHAN
ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT JANTAN
STRAIN BALB/C YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK

yang dipersiapkan dan disusun oleh :

CITA ISHLAHYAH

NIM : G2A002046

telah dipertahankan di depan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Semarang pada tanggal 24 Juli 2006 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan

TIM PENGUJI

Ketua Penguji,

Penguji,

dr. Yekti Wirawani
NIP. 130808731

dr. Charles Limantoro
NIP. 132316110

Pembimbing,

dr. Ahmad Zulfa Juniarto, M.Si, Med
NIP. 132163896

The Effect of Vitamin C to Sperm Count of Male Balb/c Exposed by Cigarette Smoke

Cita Ishlahiyah*, Ahmad Zulfa Juniarto**

ABSTRACT

Background :

Cigarette smoke compound of Reactive Oxygen Species or ROS, a free radical that caused damage to spermatozoa DNA and improvement of cell apoptosis. The excessive ROS production and weak antiokxidant defence mechanisms caused oxidative stress that was dangerous for spermatozoa. Vitamin C as antiokxidant, could depress the process of oxidative stress, so it was suggested that smokers consume adequate dose of vitamin C. The aim of this research was to prove that vitamin C could influence the sperm count of male Balb/c exposed by cigarette smoke.

Method :

This research subjects are 30 male Balb/c mice, divided randomly into six groups : the first group was control negative (K-) without cigarette smoke exposure and vitamin C; second group was control positive (K+) given cigarette smoke exposure but without vitamin C; third group (P1) was given cigarette smoke exposure and vitamin C 0,10 mg/BW /day; fourth group (P2) was given cigarette smoke exposure and vitamin C 0,15

mg/BW/day; fifth group (P3) was given cigarette smoke exposure and vitamin C 0,20 mg/BW/day; and sixth group (P4) was given cigarette smoke exposure and vitamin C 0,40 mg/BW/day. This research lasted for 14 days, at 15th day all mice were terminated, then the sperm count was done.

Result :

Oneway ANOVA test showed significant differences of sperm count between groups ($p=0,021$). Based on Post Hoc test there was significant difference of sperm count between group of K+ with K-, but there were no significant differences between group of K+ with P1, P2, P3, and P4.

Conclusions :

Cigarette smoke exposure caused decreased sperm count of male Balb/c mice, but Vitamin C did not significantly increase sperm count of male Balb/c mice exposed by cigarette smoke.

Keywords : cigarette, vitamin C, sperm count.

* Student of Faculty of Medicine Diponegoro University, Semarang

** Lecturer of Biology's Departement Faculty of Medicine Diponegoro University, Semarang

Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan Strain Balb/c yang Diberi Paparan Asap Rokok

Cita Ishlahiyah*, Ahmad Zulfa Juniarto**

ABSTRAK :

Latar Belakang :

Asap rokok mengandung senyawa oksigen reaktif atau ROS (*Reactive Oxygen Species*) yaitu suatu radikal bebas yang menyebabkan kerusakan DNA spermatozoa dan peningkatan apoptosis sel. Produksi ROS yang berlebihan dan mekanisme pertahanan antioksidan yang lemah menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang berbahaya bagi spermatozoa. Vitamin C sebagai antioksidan dapat menekan proses stres oksidatif, maka disarankan penggunaan vitamin C yang adekuat pada perokok. Tujuan penelitian adalah membuktikan apakah vitamin C dapat mempengaruhi jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok.

Metodologi :

Subyek penelitian adalah 30 ekor mencit jantan strain *Balb/c*, yang dibagi secara acak menjadi 6 kelompok. Kelompok pertama adalah kontrol negatif (K-) tidak mendapat perlakuan paparan asap rokok dan pemberian vitamin C, kelompok kedua adalah kontrol positif (K+) diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C, kelompok ketiga (P1) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,10 mg/gBB/hari, kelompok keempat (P2) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,15 mg/gBB/hari, kelompok kelima (P3) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,20 mg/gBB/hari, dan kelompok keenam (P4) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,40 mg/gBB/hari. Perlakuan berlangsung selama 14 hari, pada hari ke-15 mencit tersebut diterminasi, kemudian dilakukan pemeriksaan jumlah spermatozoa.

Hasil :

Uji *Oneway ANOVA* menunjukkan perbedaan signifikan pada jumlah spermatozoa antar kelompok ($p=0,021$). Berdasarkan uji *Post Hoc* terhadap jumlah spermatozoa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok K+ dengan K-, tetapi antar kelompok K+ dengan P1, P2, P3, dan P4 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Kesimpulan :

Paparan asap rokok menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c*, sedangkan pemberian vitamin C tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok.

Kata kunci : rokok, vitamin C, jumlah spermatozoa.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

** Dosen Pengajar bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

PENDAHULUAN

Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) Departemen Kesehatan Indonesia menyebutkan bahwa data jumlah perokok di Indonesia mencapai 62.800.000 orang atau 69,04 % laki-laki dan 4,83 % perempuan, sementara WHO Tobacco Atlas 2002 menyebutkan, 59 % laki-laki, dan 3,7 % perempuan.^{1,2}

Sebuah harian di Inggris baru-baru ini (*Health Day News*) mengemukakan tentang sebuah penelitian yang melaporkan bahwa merokok dapat merusak sistem reproduksi seseorang dan mengurangi peluang untuk memiliki anak yang sehat. Merokok dapat menurunkan kualitas dan kuantitas spermatozoa manusia (konsentrasi, motilitas, dan morfologi spermatozoa).³

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. Radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok jumlahnya sangat banyak, dalam satu kali hisap diperkirakan masuk 1014 molekul radikal bebas.⁴

Riset baru yang dipublikasikan dalam *Cleveland's Clinical Urology News* terbaru, menunjukkan bahwa jumlah radikal bebas abnormal yang terkadang merusak sel, mungkin menjadi penyebab infertilitas pada beberapa pria.⁵ Infertilitas pada pria lebih dari 25 % tidak diketahui penyebabnya. Para peneliti dalam bidang kedokteran reproduktif mempertimbangkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) sebagai salah satu mediator dari ketidaksuburan yang menyebabkan kelainan fungsi sperma. ROS menyebabkan kerusakan pada DNA spermatozoa, menghasilkan peningkatan apoptosis dari sel ini. Produksi ROS sangat meningkat di bawah pengaruh lingkungan dan faktor gaya hidup seperti polusi dan merokok. Suatu sistem pembersih yang efektif adalah penting untuk menetralkan efek dari ROS. Ketika produksi ROS yang berlebihan atau mekanisme pertahanan antioksidan yang lemah, maka stres oksidatif terjadi, dimana ini berbahaya bagi spermatozoa. Berbagai antioksidan mempunyai kelompok non enzimatis dan enzimatis yang dapat memindahkan kelebihan ROS dan mencegah stres oksidatif.⁶

Pemberian vitamin C dapat menekan proses stres oksidatif akibat asap rokok, maka disarankan penggunaan vitamin C yang adekuat pada perokok.⁷ Antioksidan non enzimatis seperti vitamin C memiliki kekuatan untuk menetralkan radikal bebas penghambat sperma.⁵ Vitamin C adalah antioksidan yang larut dalam

air dan disekresi secara aktif ke dalam semen mencapai 8 kali lebih tinggi dari yang ditemukan pada aliran darah.

^{8,9} Perokok membutuhkan diet vitamin C minimal 2 kali lebih banyak dibandingkan bukan perokok. Pria perokok memiliki jumlah sperma 17 % lebih rendah dari bukan perokok, motilitas sperma yang berkurang dan memiliki sperma yang abnormal. ⁸

Seorang peneliti menyatakan bahwa ketika pria menambah pemasukannya dengan mengonsumsi vitamin C 60-250 mg per hari, maka kerusakan DNA mengalami penurunan. Penelitian lain mengindikasikan bahwa fertilitas akan meningkat pada perokok yang menambahkan vitamin C pada dietnya. Kerusakan sperma dan infertilitas dapat dihindari dengan mengonsumsi vitamin C 60 mg per hari. ¹⁰

Permasalahan yang muncul yaitu apakah pemberian vitamin C dapat mempengaruhi jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok? Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah tentang pengaruh pemberian vitamin C sebagai antioksidan terhadap kualitas sperma pada perokok dan memberikan informasi kepada masyarakat mengenai dampak paparan asap rokok terhadap kesuburan pria.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post test only control group design*. Populasi penelitian ini adalah mencit jantan strain *Balb/c* galur murni sebanyak 30 ekor, yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Vitamin C diberikan segera setelah mencit dipapar asap rokok pada setiap hari selama 14 hari. Vitamin C yang digunakan adalah asam askorbat dalam bentuk tablet yang dilarutkan dalam air, kemudian diminumkan dengan sonde langsung ke lambung mencit jantan strain *Balb/c*. Dosis vitamin C yang diberikan pada mencit jantan strain *Balb/c* adalah 0,10 mg/gBB/hari; 0,15 mg/gBB/hari; 0,20 mg/gBB/hari; 0,40 mg/g BB/hari.

Pemaparan asap rokok dilakukan 1 kali sehari sebanyak 1/2 batang rokok selama 14 hari (karena paparan asap rokok dilakukan secara akut). Pemaparan dilakukan dengan cara memasukkan 5 ekor tikus ke dalam sangkar berukuran 30x22x19 cm kemudian dipapar asap rokok sebanyak 1/2 batang rokok dengan menggunakan spuete 10 ml, setelah pemaparan tikus dikembalikan pada sangkar masing-masing secara berkelompok dengan diberi

makanan dan minuman secukupnya. Jenis rokok yang digunakan adalah rokok kretek yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia pada umumnya.

Sampel penelitian diambil secara acak dengan kriteria inklusi: mencit jantan strain *Balb/c*, umur 8 – 12 minggu, berat badan 20 – 25 gram.¹¹ Mencit terlebih dulu diadaptasikan selama satu minggu serta diberikan makan dan minum secara *ad libitum*, kemudian 30 ekor mencit tersebut dibagi secara acak menjadi 6 kelompok percobaan, dengan jumlah sampel tiap kelompok 5 ekor mencit. Kelompok 1 adalah kontrol negatif (K-) tidak mendapat perlakuan paparan asap rokok dan pemberian vitamin C, kelompok 2 adalah kontrol positif (K+) hanya diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C, kelompok 3 (P1) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,10 mg/gBB/hari, kelompok 4 (P2) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,15 mg/gBB/hari, kelompok 5 (P3) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,20 mg/gBB/hari, kelompok 6 (P4) diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,40 mg/gBB/hari. Perlakuan berlangsung selama 14 hari. Hari ke-15 mencit tersebut diterminasi, kemudian diambil sampel spermatozoa pada tiap-tiap kelompok. Pembuatan preparat dan pemeriksaan jumlah sperma dilakukan di laboratorium Parasitologi FK UNDIP.

Prosedur pemeriksaan jumlah spermatozoa dilakukan pada masing-masing kelompok. Sperma diambil dari epididimis yaitu tepatnya 1 cm dibawah caput epididimis, ditempat tersebut diklem, kemudian dipotong. Bagian yang dipotong tersebut, dikeluarkan spermanya dengan cara dipencet dan sperma diletakkan diatas objekglass, kemudian ditetesi NaCl 0,9% sebanyak 1 tetes, diaduk agar menjadi homogen sehingga memudahkan pemeriksaan, ditutup dengan deckglass, diperiksa dibawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 10X. Jumlah spermatozoa dihitung dari rerata lima lapangan pandang. Jumlah spermatozoa yang dihitung adalah seluruh jumlah spermatozoa yang hidup dan mati.

Analisis data menggunakan *SPSS 13.00 for Windows*, perbedaan dianggap signifikan bila $p < 0,05$. Analisis data dimulai dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, kemudian karena data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *Oneway ANOVA*. Uji *Oneway ANOVA* didapatkan hasil signifikan ($p < 0,05$) pada seluruh kelompok percobaan, untuk mengetahui kelompok mana yang terdapat perbedaan signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

HASIL PENELITIAN

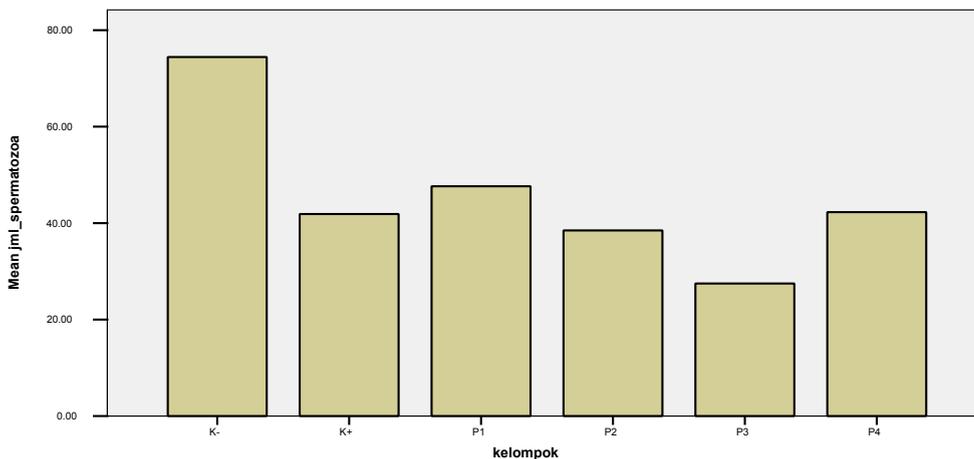
Keseluruhan sampel penelitian didapatkan data jumlah spermatozoa

dengan deskripsi sebagai berikut :

Kelompok	Mean Jumlah Spermatozoa	Median Jumlah Spermatozoa	SD Jumlah Spermatozoa	p
K- (rokok -, vit.C -)	74,4400	74,0000	29,78604	0,456
K+ (rokok +, vit.C-)	41,8800	42,8000	14,65374	0,996
P1 (rokok +, vit.C 0,10)	47,6400	58,2000	25,30154	0,064
P2 (rokok +, vit.C 0,15)	38,4800	42,4000	13,58426	0,628
P3 (rokok +, vit.C 0,20)	27,4800	27,8000	5,45637	0,356
P4 (rokok +, vit.C 0,40)	42,2800	42,0333	17,13511	0.768

Tabel 1. Uji normalitas *Shapiro-Wilk*

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ yang artinya sebaran data jumlah spermatozoa terdistribusi normal.



Gambar 1.

Diagram batang rerata jumlah spermatozoa antar kelompok

Sebaran data pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* terdistribusi normal, sehingga uji selanjutnya adalah uji *Oneway ANOVA*. Uji *Oneway ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan terhadap jumlah spermatozoa

antar seluruh kelompok percobaan ($p=0,021$), untuk mengetahui kelompok mana yang terdapat perbedaan bermakna itu, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*, dengan hasil sebagai berikut:

p	K-	K+	P1	P2	P3	P4
K-	-	0,014*	0,039*	0,007*	0,001*	0,015*
K+	0,014*	-	0,642	0,784	0,251	0,974
P1	0,039*	0,642	-	0,462	0,113	0,666
P2	0,007*	0,784	0,462	-	0,378	0,759
P3	0,001*	0,251	0,113	0,378	-	0,239
P4	0,015*	0,974	0,666	0,759	0,239	-

* bermakna $p<0,05$

Tabel 2. Uji beda *Post Hoc*

Tabel di atas menunjukkan bahwa perbedaan yang bermakna terdapat antara kelompok K+ (diberi paparan asap rokok dan vitamin C) dan K- (diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C) dengan nilai $p=0,014$, sedangkan antar kelompok K+ dan P1 (diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,10 mg/gBB/hari), K+ dan P2 (diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,15 mg/gBB/hari), K+ dan P3 (diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,20 mg/gBB/hari), K+ dan P4 (diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,40 mg/gBB/hari) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok dapat mengakibatkan penurunan jumlah spermatozoa pada mencit jantan strain *Balb/c*. Hasil analisis data, secara statistik didapatkan jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok lebih rendah secara bermakna dibandingkan dengan mencit jantan strain *Balb/c* tanpa perlakuan paparan asap rokok.

Penurunan jumlah spermatozoa ini dapat disebabkan oleh adanya gangguan pada spermatogenesis. Spermatogenesis merupakan proses yang sangat kompleks, dimana spermatogonium berkembang menjadi

spermatozoa.¹³ Gangguan spermatogenesis diduga disebabkan oleh komponen-komponen dalam asap rokok yang bersifat sitotoksik terhadap sel-sel yang sedang berkembang. Bahan-bahan kimia dan mutagen yang terkandung dalam rokok dapat mempengaruhi germ cells dan sel sertoli, sehingga spermatogenesis terganggu.³ Gangguan yang terjadi pada tahap awal akan mempengaruhi tahap selanjutnya dan akhirnya jumlah spermatozoa akan berkurang.

Penurunan jumlah spermatozoa ini juga dapat disebabkan oleh adanya ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang terdapat dalam asap rokok. Para peneliti dalam bidang kedokteran reproduktif mempertimbangkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan radikal bebas sebagai salah satu mediator dari ketidaksuburan yang menyebabkan kelainan fungsi sperma. ROS menyebabkan kerusakan pada DNA spermatozoa dan menyebabkan peningkatan apoptosis sperma, sehingga terjadi penurunan jumlah spermatozoa.⁶

Pembentukan radikal bebas dalam jaringan sel tubuh sebenarnya merupakan kejadian normal (alami), namun kehadirannya dapat merugikan fungsi sel termasuk fungsi spermatozoa. Untuk menanggulangi hal tersebut, maka sel atau jaringan sel akan memproduksi antioksidan sebagai enzim penangkalnya. Dalam keadaan normal, keseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tetap dipertahankan. Jika keseimbangan antara kedua faktor tersebut terganggu, apalagi kalau jumlah enzim antioksidan berkurang sedangkan jumlah radikal bebas meningkat, maka akan timbul gangguan infertilitas. Kemampuan vitamin C sebagai antioksidan akan mampu menetralkan radikal bebas. Dengan demikian diharapkan fungsi utama spermatozoa dapat terlindungi dari serangan radikal bebas.¹⁴

Penelitian ini menunjukkan bahwa rerata jumlah spermatozoa pada mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,10 mg/kgBB/hari ($47,64 \pm 25,3$) lebih tinggi dibandingkan rerata jumlah spermatozoa pada mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C ($41,88 \pm 14,6$), tetapi peningkatan jumlah spermatozoa tersebut tidak signifikan. Hasil analisis data, secara statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K⁺ (yang diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C) dengan kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4 (yang diberi paparan asap rokok dan pemberian vitamin C dosis 0,10 mg/gBB/hari; 0,15 mg/gBB/hari; 0,20 mg/gBB/hari; 0,40 mg/g BB/hari). Hal ini diduga dapat terjadi karena paparan asap rokok yang diberikan terlalu kuat sehingga jumlah oksidan yang

terakumulasi dalam tubuh mencit lebih banyak dibandingkan jumlah antioksidan vitamin C yang diberikan. Hal ini juga menunjukkan bahwa lebih banyak radikal bebas yang berada di dalam tubuh mencit mengalami reaksi berantai dengan akibat terputusnya rantai asam lemak tak jenuh ganda menjadi senyawa yang bersifat toksik terhadap sel. Normalnya efek merugikan dari radikal bebas ini dapat dihambat oleh adanya sistem pertahanan enzimatik didalam sel sendiri, namun apabila oksidan yang dihasilkan berlebihan akibat pemaparan asap rokok dan sistem proteksi seluler tidak dapat menghambat propagasi radikal bebas, maka akan terjadi efek oksidan yang lebih luas.⁴

Tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K+ dengan kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4 diduga dapat juga terjadi karena waktu yang dibutuhkan dalam pemberian vitamin C kurang lama, sehingga antioksidan yang diberikan masih lemah. Produksi ROS yang berlebihan dan mekanisme pertahanan antioksidan yang lemah dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif ini dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lipid yang menyebabkan kerusakan membran spermatozoa dan menyebabkan kematian sperma sehingga terjadi penurunan jumlah spermatozoa.⁶ Adanya faktor kesalahan yang dilakukan oleh pemeriksa sendiri (*human error*) dapat menjadi penyebabnya, diantaranya adalah kesalahan dalam penghitungan jumlah spermatozoa, tidak adanya kesepakatan antara satu pemeriksa dengan pemeriksa lainnya untuk tidak membaca lapangan pandang yang terlalu sedikit jumlah spermatozoanya.

KESIMPULAN

1. Paparan asap rokok menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa pada mencit jantan strain *Balb/c*.
2. Pemberian vitamin C tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit jantan strain *Balb/c* yang diberi paparan asap rokok.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian vitamin C terhadap komponen-komponen lain yang terdapat pada hasil analisis sperma.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh antioksidan lainnya terhadap peningkatan kualitas spermatozoa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada dr. Ahmad Zulfa Juniarto atas bimbingan dan arahan selama penelitian ini berlangsung. Terima kasih kepada keluarga tercinta dan teman-teman atas motivasi dan do'anya, juga kepada kepala dan staf laboratorium Parasitologi FK Undip yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aditama CY. Sepuluh program penanggulangan rokok. *Majalah Kedokteran Indonesia* 2004; 54(7): 255-6.
2. Anonymous. Setiap menit 60 orang meninggal akibat rokok. Available from URL: http://www.depkes.go.id/index.php?option=newsand_task=view_article_and_sid=474. Akses 7 Oktober 2005.
3. Yapri JC. Pengaruh rokok pada fertilitas wanita dan pria. *Jurnal kedokteran dan kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanegara* 2001; 7(2): 105-12.
4. Setjowati N, Sujudi H, Astuti TW, Widodo A. Free radical and vitamin E influence are about the number circulating endothel of blood rat on chronic clove-flavoured cigarette fume exposure. *Majalah Kedokteran Unibraw* 1998; 14(3): 94.
5. Palkhivala A. Can vitamin C or E help male infertility. Available from URL: http://my.webmd.com/content/article/33/1728_82011.htm. Akses 7 Oktober 2005.
6. Agarwal A, Prabakaran SA. Oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Iranian journal of reproductive medicine* 2005; 3(1): 1-8.
7. Koentjahja HC. Changes of body weight and response of tracheal smooth muscle of adult guinea pigs due to chronic exposure to cigarette smoke and supplementation of vitamin C 2001; 21(1): 22.
8. Anonymous. Antioxidants and sperm. Available from URL: http://www.tiscali.co.uk/lifestyle/healthfitness/menshealth/part1_4-2.html. Akses 7 Oktober 2005.
9. Youngson R. Antioxidants: vitamin C and E for health; Lilianjuwono, editor. Jakarta: Arcan, 2005.
10. Anonymous. Vitamin C reported to prevent sperm damage. Available from URL:

http://www.findarticles.com/p/articles/mi_m0876/is_n62/ai_12296590. Akses 7 Oktober 2005.

11. Anonymous. Balb/c (Bagg Albino). Available from URL: <http://www.arcnederland.nl/FFcms/klanten/harlan/media/documenten/balb.pdf>. Akses 11 Maret 2006.
12. Stillman dkk. Smoking and reproduction. Fertility and sterility 1986; 46: 545,554-7.
13. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiologi. 9th ed. Diterjemahkan oleh Setiawan I, Tengadi KA, Santoso A. Buku ajar fisiologi kedokteran. Ed 9. Jakarta: EGC,1997: 1265-8.
14. Anonymous. Antioksidan cegah ketidaksuburan pria. Available from URL: <http://www.kalbe.co.id/?mn=news&tipe=detail&detail=17515>. Akses 6 Februari 2006.