



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
CYCLEA BARBATA L. MIERS
TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA
MENCIT BALB/C JANTAN YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

*THE EFFECT OF EXTRACT CYCLEA BARBATA L. MIERS TO THE AMOUNT OF
MICE BALB/C WITH CIGARETTE SMOKED*

**LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN
KARYA TULIS ILMIAH**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**ROSALIA PURBANDARI
G2A 006 165**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *CYCLEA BARBATA L. MIERS*
TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT BALB/C JANTAN
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

Rosalia Purbandari¹, Ahmad Zulfa Juniarto²

ABSTRAK

Latar belakang: *Cyclea barbata L.Miers* terbukti memiliki kandungan fenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Fungsi antioksidan mengurangi efek radikal bebas. Rokok berakibat sebagai radikal bebas yang dapat menurunkan jumlah sperma. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian antioksidan yang terkandung dalam *Cyclea barbata L.Miers* terhadap jumlah spermatozoa mencit balb/c jantan yang dipapar asap rokok

Metode: Desain penelitian ini adalah *post test only control group design*, menggunakan mencit strain balb/c sebagai sampel. Tiga puluh lima mencit memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan, dua kelompok kontrol, yaitu kontrol negatif (tanpa perlakuan), kontrol positif (pemberian asap rokok), dan tiga kelompok perlakuan pemberian asap rokok ditambah dengan dosis bertingkat *Cyclea barbata L.Miers* yaitu 3,75gr/l, 7,5gr/l, 15gr/l. Dilakukan pemeriksaan jumlah sperma tiap sampel menggunakan bilik hitung. Data dideskripsikan dalam bentuk tabel, dilakukan uji *one way anova* dan *post hoc test* yaitu *LSD* dengan menggunakan *SPSS 13 for Windows*.

Hasil: Rata-rata jumlah spermatozoa adalah: Kelompok K(-)=13,6; Kelompok K(+)=5,2; Kelompok P1=8,1; Kelompok P2=8,6; Kelompok P3=6,4. Uji *One Way Anova* $p=0,0$ terdapat perbedaan bermakna pada semua kelompok. Uji *LSD* didapatkan perbedaan bermakna antara K(-) dengan semua kelompok dan K(+) dengan PI P2.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak daun *Cyclea barbata L.Miers* terbukti berpengaruh terhadap jumlah sperma mencit balb/c jantan yang mengalami penurunan akibat paparan asap rokok. Dari hasil penelitian tampak bahwa dosis 7,5gr/l memiliki efek yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 3,75gr/l dan 15gr/l.

Kata kunci: asap rokok, *Cyclea barbata L. Miers*, jumlah spermatozoa

¹Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

²Staf pengajar Bagian Biologi FK Undip, Jl Dr. Sutomo No.18 Semarang

**THE EFFECT OF GIVING EXTRACT CYCLEA BARBATA L. MIERS TO THE
AMOUNT OF MICE BALB/C SPERM WITH CIGARETTE SMOKE**

ABSTRACT

Background: *Cyclea barbata L. Miers* is proven to contain phenol having function of as antioxidant. Antioxidant has the function of reducing the effect of free radicals. Cigarette can be one of free radicals that can reduce the amount of sperm. This research has the objective of proving the influence of the application of antioxidant contained in *Cyclea barbata L. Miers* on the amount of spermatozoa of the male Balb/c mice exposed to cigarette smoke.

Method: The design of this research is the post test only control group design, using the Balb/c strain mice as samples. Thirty-five mice fulfilled the inclusive and exclusive criteria, divided into five treatment groups; two control groups, which are negative control (no treatment) and positive control (cigarette smoke applied), and three treatment groups applied with cigarette smoke plus stepped dosages of *Cyclea barbata L. Miers*, which are 3,75g/l, 7,5g/l, and 15g/l. Examination of the amount of sperm in every sample is conducted using the counting chamber. The data are described in form of tables. One Way Anova, and Post Hoc Test, which is LSD, are conducted using SPSS 13 for windows.

Result: The Average amount of spermatozoa are: Control group (-)=13,6; Control group (+)=5,2; Treatment 1 group=8,1; Treatment 2 group=8,6; and Treatment 3 group=6,4. The One Way Anova Test, $p=0,0$, meaning that data there are significant differences in all groups. From the LSD test, there are significant differences between C(-) and all groups and C(+) and T1 and T2.

Conclusion: The application of *Cyclea barbata L. Miers* leaf extract is proven to influence the amount of sperm due to the exposition to cigarette smoke. From the research results, it can be seen that the 7,5g/l dosage has the better effect compared to the 3,75g/l and 15g/l.

Keywords: cigarette smoke, *Cyclea barbata L. Miers*, amount of spermatozoa

PENDAHULUAN

Dunia Barat, akhir-akhir ini mulai memalingkan kembali perhatiannya ke alam yang terkenal dengan semboyannya *back to nature*, mengikuti jejak dunia obat alam dalam upaya pelayanan kesehatan di samping obat-obat farmasetik. Kembalinya perhatian dunia Barat ke obat-obat alam ini, tidak lain adalah karena kembali tumbuhnya kepercayaan masyarakat Barat bahwa obat-obat alamiah, termasuk obat-obat nabati, dapat memberikan peranannya dalam upaya pemeliharaan, peningkatan dan pemulihan kesehatan serta pengobatan penyakit. Di samping itu, diyakini pula bahwa obat-obat alamiah kurang memberikan efek samping jika dibandingkan dengan obat-obat farmasetik.¹ Sudah menjadi rahasia umum pula, jika pola hidup dunia Barat pun ikut mempengaruhi perilaku masyarakat kita. Hal ini mendorong semakin banyaknya upaya budidaya tumbuhan obat “alamiah” oleh masyarakat kita.

Obat-obat alam, termasuk obat-obat nabati diakui masyarakat mempunyai peranan dalam upaya-upaya pemeliharaan, peningkatan dan pemulihan kesehatan maupun pengobatan penyakit didasarkan atas pertimbangan, bahwa menurut pandangan Sistem Pengobatan Tradisional, obat-obat alam, termasuk obat-obat nabati, dapat mempengaruhi mekanisme pertahanan alamiah tubuh.² Belakangan ini banyak dikenal berbagai macam tumbuhan obat yang dinilai dapat meningkatkan upaya kesehatan. Seperti, *Cyclea barbata L. Miers* yang di kenal masyarakat sebagai cincau hijau dan banyak digunakan sebagai bahan minuman penyegar yang harganya terjangkau, mudah didapat dan enak rasanya. Selain itu, cincau hijau juga dikenal masyarakat sebagai obat untuk mendinginkan panas dalam, demam, perut kembung, tifus, bengkak-bengkak akibat pukulan, obat sakit mata, keracunan makanan udang, penambah nafsu makan, disentri, sariawan, bisul, radang usus, dan penurun tekanan darah tinggi.³

Penelitian tim dari Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor bersama Bagian Anatomi Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia menemukan bahwa cincau hijau mempunyai aktivitas antioksidan, daun ini mengandung senyawa bermanfaat seperti lemak, polifenol dan saponin.⁴ Senyawa fenol tersebut dapat berfungsi sebagai antioksidan primer karena mampu menghentikan rantai radikal bebas pada oksidasi lipid.⁵ Hal ini menjadikan *Cyclea barbata L. Miers* berpotensi untuk di

kembangkan menjadi obat baru setelah menjalani uji klinis dan bermanfaat bagi masyarakat luas.

Gaya hidup masyarakat kita pun cukup memprihatinkan. Hampir di semua tempat dapat dijumpai pengguna rokok, bahkan gaya hidup ini sudah tampak lazim bagi golongan wanita dan anak-anak. Dapat dinilai juga seberapa pengetahuan mereka tentang bahaya asap rokok. Asap rokok mengandung sekitar 4000 senyawa, antara lain nikotin, tar dan 3,4-benzopiren, karbon monoksida, karbon dioksida, nitrogen oksida, amonia, sulfur.⁶ Nikotin, suatu alkaloid yang sudah lama dikenal dalam asap rokok, nikotin akan terakumulasi pada dinding pembuluh darah perokok dan menyempitkan pembuluh darah.⁷ Peneliti lain menyimpulkan, asap rokok dapat menyebabkan terganggunya proses pengalihan elektron pada proses reduksi oksigen menjadi H₂O dan merusak membran sel.⁸ Banyak peneliti telah berhasil menemukan kaitan bahwa asap rokok dapat menimbulkan ketidaksuburan, terbukti bahwa asap rokok dapat mengganggu fungsi spermatozoa.⁸

Meskipun sudah diketahui manfaat dari daun *Cyclea Barbata L. Miers* sebagai antioksidan yang mampu menghentikan rantai radikal bebas.⁹ Akan tetapi, hingga kini belum ada studi empiris yang melaporkan bagaimana pengaruh ekstrak daun *Cyclea Barbata L. Miers* dengan dosis bertingkat, terhadap jumlah spermatozoa pada orang yang terpapar asap rokok. Di sisi lain, cincau hijau (*Cyclea Barbata L. Miers*) sudah sangat dikenal masyarakat dan hanya dibuat sebagai minuman segar.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post test only control group design*, yang menggunakan mencit strain Balb/c sebagai subyek penelitian.

Antioksidan yang digunakan berasal dari daun *Cyclea barbata L. Miers* atau daun cincau hijau yang dikeringkan kemudian dijadikan ekstrak dengan metode maserasi yaitu dengan cara daun dikeringkan dan dijaga agar tidak terkena sinar matahari langsung, kemudian dilarutkan dengan alkohol 70% di dalam tabung selama dua hari sampai terbentuk larutan berwarna hijau yang menandakan senyawa-senyawa dalam daun telah

larut. Larutan ini yang kemudian diangin-anginkan sampai hilang kadar airnya dan terbentuk ekstrak. Ekstrak ini yang akan digunakan dalam penelitian.

Radikal bebas yang digunakan berasal dari asap rokok. Jenis rokok yang digunakan adalah rokok kretek merk Djarum 76. Paparan asap rokok dilakukan sebanyak 1 batang setiap harinya selama 3 minggu dengan menggunakan spuit 10 cc sebagai pompa. Kandang pemaparan asap rokok adalah kotak yang telah diberi ventilasi secukupnya, setiap kandang diisi 7 ekor mencit pada saat perlakuan.

Mencit yang digunakan adalah mencit strain Balb/c jantan sebanyak 35 ekor galur murni yang diperoleh dari Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Pada penelitian ini seharusnya kami hanya membutuhkan mencit sebanyak 25 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok, namun kami sengaja menggunakan 35 ekor mencit untuk mencegah agar tidak kekurangan sampel, akibat sesuatu yang tidak diinginkan seperti kematian mencit akibat perlakuan. Sampel penelitian diperoleh secara acak dengan kriteria inklusi: mencit strain Balb/c jantan, umur 8-12 minggu, berat badan 25-30 gram; dan kriteria eksklusi: terdapat abnormalitas anatomi yang nampak, dan mencit tidak bergerak secara aktif.

Mencit diadaptasi terlebih dahulu selama satu minggu serta diberi makan dan minum standar. 35 mencit tersebut kemudian dibagi menjadi 5 kelompok secara acak, masing-masing terdiri dari 7 ekor mencit. Kelompok 1: kontrol (-) hanya diberi makanan standar tanpa perlakuan. Kelompok 2: kontrol (+) diberi makan standar dan perlakuan yaitu diberi paparan asap rokok tanpa diberi ekstrak daun cincau hijau. Kelompok 3: diberi makanan standar, paparan asap rokok dan ekstrak daun cincau hijau dengan konsentrasi 3,75 g/l. Kelompok 4: diberi makanan standar, paparan asap rokok dan ekstrak daun cincau hijau dengan konsentrasi 7,5 g/l. Kelompok 5: diberi makanan standar, paparan asap rokok dan ekstrak daun cincau hijau dengan konsentrasi 15 gr/l. Perlakuan dilakukan selama 3 minggu.

Pemaparan asap rokok dilakukan pada kandang dengan ukuran 30x15x15 cm menggunakan spuit yang ujungnya diberi rokok yang di bakar, perlahan-lahan sampai menghabiskan 1 batang rokok. Penentuan dosis cincau hijau berdasarkan penelitian terdahulu.³ Kami membuat ekstrak cincau hijau dengan konsentrasi 7,5gr/l . Pada perlakuan kelompok 4 dengan dosis 7,5gr/l diberikan ekstrak dengan volume 0,4 ml

selanjutnya di konversi untuk kelompok 3 dan 5 yaitu konsentrasi 3,75gr/l menjadi volume 0,2 ml dan 15gr/l menjadi volume 0,8 ml.

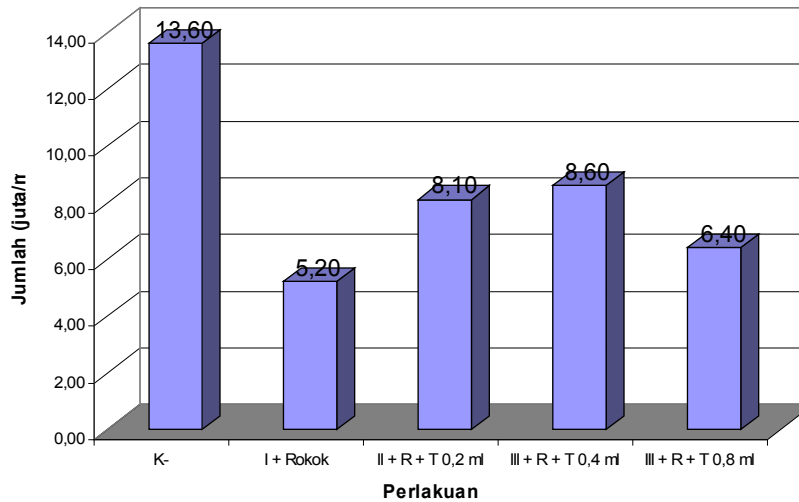
Pada hari ke 22 dilakukan terminasi pada mencit dan dilakukan pengambilan sperma. Sperma diperoleh dari epididimis mencit yang telah diterminasi, kemudian sperma tersebut diambil dengan diurut. Setelah sampel terkumpul, isaplah dengan pipet lekosit sampai angka 0,5 kemudian langsung digunakan untuk menghisap larutan pengencer NaCl sampai angka 11. Kocoklah isi pipet sehingga homogen, kemudian teteskan dalam bilik hitung. Data yang diambil berupa jumlah spermatozoa yang dihitung dari pemeriksaan jumlah sperma pada bidang yang luasnya 1mm². Dengan memperhatikan berapa kali pengenceran dan kedalaman bilik hitung maka akan didapatkan jumlah seluruh spermatozoa dalam juta/cc. Analisis data dengan menggunakan SPSS 13 *for windows*. Langkah pertama dilakukan uji normalitas distribusi data dengan uji *Shapiro-Wilk* dan didapatkan data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik *one way anova* , jika $p < 0,005$ maka terdapat perbedaan yang bermakna. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc LSD*.

HASIL PENELITIAN

Dari penelitian ini didapatkan analisa deskriptif sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Perhitungan Spermatozoa

| Kelompok | Rata-rata | Standar Deviasi |
|-----------------|------------------|------------------------|
| K- | 13,6 | 2,30 |
| K+ | 5,2 | 0,57 |
| P1 | 8,1 | 1,71 |
| P2 | 8,6 | 3,11 |
| P3 | 6,4 | 0,96 |



Gambar 1. Hasil Perhitungan Spermatozoa Seluruh Perlakuan

Pada gambar terlihat bahwa rata-rata perhitungan spermatozoa terbesar diperoleh pada perlakuan kontrol negatif dengan rata-rata sebesar 13,60 juta/ml. Sedangkan jumlah rata-rata perhitungan terendah terdapat pada perlakuan kontrol positif yaitu dengan pemberian asap rokok sebesar 5,20 juta/ml.

Berdasarkan hasil uji kenormalan data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* diperoleh $p=0,113$ ($p>0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa data dalam penelitian ini berdistribusi normal.

Untuk selanjutnya penelitian ini dilakukan analisis inferensial dengan menggunakan uji *one way anova*. Berdasarkan uji statistic, didapatkan p sebesar 0,000. Melihat besarnya nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah spermatozoa dari lima perlakuan yang dilakukan.

Sedangkan untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan dapat dilakukan uji lanjut *LSD* yaitu sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil Perhitungan Uji Lanjut LSD

| Jenis Kelompok Perlakuan | K(-) | K(+) | P1 | P2 | P3 |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| K(-) | - | 0,000* | 0,000* | 0,001* | 0,000* |
| K(+) | 0,000* | - | 0,030* | 0,012* | 0,344 |
| P1 | 0,000* | 0,030* | - | 0,691 | 0,185 |
| P2 | 0,001* | 0,012* | 0,691 | - | 0,091 |
| P3 | 0,000* | 0,344 | 0,185 | 0,092 | - |

* terdapat perbedaan yang signifikan, $p < 0,05$

Berdasarkan hasil perhitungan uji lanjut *LSD* dapat diartikan:

- Perlakuan kontrol negatif memiliki perbedaan bermakna dengan semua kelompok perlakuan, antara lain: kontrol positif, pemberian asap rokok pemberian Ekstrak daun *Cyclea barbata L.Miers* konsentrasi 3,75gr/l, konsentrasi 7,5gr/l dan konsentrasi 15gr/l.
- Perlakuan kontrol positif memiliki perbedaan bermakna dengan pemberian asap rokok pemberian Ekstrak daun *Cyclea barbata L.Miers* konsentrasi 3,75 gr/l dan konsentrasi 15gr/l.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa pada mencit jantan Balb/c. Hasil analisis data secara statistik didapatkan jumlah spermatozoa mencit jantan strain Balb/c yang di beri paparan asap rokok atau kontrol positif (5,20 juta/ml) lebih rendah dibandingkan dengan mencit tanpa paparan asap rokok atau kontrol negatif (13,60 juta/ml).

Asap rokok merupakan suatu oksidan (radikal bebas) yang dapat mempengaruhi oksidasi dalam tubuh manusia.¹⁰ Proses oksidasi tersebut melibatkan fosforilasi oksidatif yang terjadi di dalam mitokondria. Dalam keadaan terpapar radikal bebas, pengalihan tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terbentuk senyawa-senyawa oksigen reaktif yang sangat berbahaya. Hal ini menimbulkan *stress oksidatif*.¹⁰

Dalam gerakannya yang tidak beraturan, karena sangat reaktif, radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel.¹¹ Pemaparan radikal bebas ini juga berdampak pada spermatogenesis. Senyawa ini dapat merusak DNA spermatozoa,

sehingga mengganggu pembelahan sel . Selain itu senyawa ini dapat merusak asam lemak tak jenuh yang terdapat pada fosfolipid dan glikolipid penyusun membran sel.¹⁰ Hal ini yang menyebabkan proses spermatogenesis terganggu sehingga terjadi penurunan jumlah sperma.

Untuk mengurangi efek dari radikal bebas tersebut, maka pada penelitian ini di berikan beberapa perlakuan terhadap beberapa kelompok lain yaitu pemberian antioksidan. Antioksidan memiliki fungsi menghambat laju autooksidasi dengan pengubahan radikal lipid ke bentuk yang lebih stabil.¹⁰ Antioksidan yang digunakan adalah cincau hijau. Cincau hijau memiliki kandungan fenol yang berfungsi sebagai antioksidan.⁴

Penelitian ini, menunjukkan bahwa rerata jumlah spermatozoa mencit pada kelompok perlakuan atau kelompok yang diberi asap rokok dan ekstrak daun cincau hijau dengan dosis bertingkat (dosis 3,75gr/l =8,10 jt/ml, 7,5gr/l=8,6 juta/ml, dan 15gr=16,40 juta/ml) lebih tinggi dibandingkan dengan rerata jumlah spermatozoa mencit pada kontrol positif kelompok yang diberi paparan asap rokok namun tidak diberi ekstrak daun cincau hijau (kontrol negatif = 5,2 juta/ml).

Pada analisis data statistik, terlihat rerata jumlah spermatozoa kelompok mencit dengan perlakuan asap rokok dan ekstrak cincau hijau konsentrasi 7,5gr/l (8,6 juta/ml) lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian ekstrak dengan konsentrasi 3,75gr/l (8,10 juta/ml) maupun 15 gr/l (6,40 juta/ml). Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian sebelumnya, yang merekomendasikan dosis pemberian ekstrak daun cincau hijau sebesar 7,25 gr/l.⁹

Tidak adanya perbedaan yang bermakna dari perbandingan rerata jumlah spermatozoa antar tiap kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun cincau hijau dengan konsentrasi bertingkat yaitu 3,75gr/l (8,10 juta/ml) ; 7,5 gr/l (8,6g juta/ml) ; dan 15gr/l (6,40 juta/ml) kemungkinan disebabkan karena interval waktu perlakuan terhadap mencit kurang lama, yaitu selama 21 hari. Dalam proses spermatogenesis, dari sel germinal (spermatogonia) sampai menjadi spermatozoa, membutuhkan waktu kira-kira 74 hari.¹² Pada kurun waktu 22 hari, kerusakan spermatozoa hanya mencapai epididimis. Namun, jika perlakuan dilakukan selama 74 hari maka kerusakan akan mencapai proses awal spermatogenesis (spermatogonia) sehingga dapat dilihat perbedaan yang lebih nyata.

Dari hasil penelitian ini, terlihat bahwa pemberian ekstrak daun cincau hijau dapat mengurangi efek radikal bebas dalam asap rokok. Karena itu, terbukti bahwa daun cincau hijau atau *Cyclea barbata L.Miers* memiliki fungsi sebagai antioksidan.^{4,5}

Perlakuan hanya dilakukan pada mencit. Sesuai dengan tabel konversi perhitungan dosis (Laurence & Bacharach, 1964), dosis pada 20gr mencit setara dengan 0,0026 kali dosis yang dibutuhkan manusia seberat 70kg. Jika dalam penelitian ini dosis terbaik pada mencit adalah 7,5 gr/l maka setara dengan dosis 2884 gr/l pada manusia seberat 70kg.

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun *Cyclea barbata L.Miers* berpengaruh terhadap jumlah sperma mencit balb/c jantan yang mengalami penurunan akibat paparan asap rokok. Dari hasil penelitian tampak bahwa dosis 7,5gr/l memiliki efek yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 3,75gr/l dan 15gr/l.

SARAN

Penulis berharap adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun *Cyclea barbata L.Miers* terhadap jumlah sperma mencit yang dipapar asap rokok. Untuk selanjutnya perlu ditekankan mengenai pertimbangan waktu yang lebih lama untuk perbedaan yang lebih berarti. Serta perlu diteliti kembali dosis yang bermanfaat bagi manusia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur ke hadirat Allah SWT sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Ucapan terimakasih saya haturkan kepada dr. Ahmad Zulfa Juniarto, Msi.Med,Sp.And, selaku dosen pembimbing, keluarga, teman-teman dan seluruh pihak yang telah turut serta membantu hingga penelitian ini terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Djoko H. Sekelumit mengenai obat nabati dan sistim imunitas. edisi 108. Jurnal Cermin Dunia Kedokteran. 1996;8-10.
2. Dijk VH. Beukelman C. Quarles van Ufford LC. Phytomedicines and the immune system. Phytotelegram 6 ;1994 : 14-17.
3. Adyaksa G. Pengaruh pemberian ekstrak daun *Cyclea barbata L.Miers* terhadap gambaran histologis ginjal mencit Balb/c. Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang; 2005.
4. Hyene K. Tumbuhan berguna indonesia. Jilid IV. Yayasan Sarana Jaya, Jakarta; 2001.
5. Huson BJF, editor. Food antioxidant elsevier appllied science. London;1990 : 19-64.
6. Stedman RL. The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. Chemical Re-views;1968 : 153.
7. Irda F, Samuel B, Maria JT, et al. Analisis nikotin dalam asap dan filter rokok. Jakarta: Acta Pharmaceutica Indonesia, Vol. XXIX, No.3; 2004.
8. Radikal bebas penyebab infertilitas pria [homepage on the internet]. c2003[cited 2009 July 1]. Available from:
http://cyberman.cbn.net.id/detil.asp?kateg*ori=health&newsno=392
9. Sunanto H. Budidaya cincau. Yogyakarta : Penerbit Kanisius; 1995.
10. Suryohudoyo P. Kapita selekta ilmu kedokteran molekuler. Jakarta : Infomedika; 2000 : 36-47.
11. [Muhilal. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran. edisi 73. Jurnal Cermin Dunia Kedokteran .1991; 12-13](#)
12. Guyton AC, Hall JE. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Jakarta. EGC;1997:1256-1269.