

PERBEDAAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (MUS MUSCULUS L) YANG DIBERIKAN VITAMIN C SETELAH PEMAPARAN ASAP ROKOK

¹Vergina Claudia
²Edwin de Queljoe
²Lydia Tendean

¹Kandidat skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi
²Bagian biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado
Email: verginaclaudia@ymail.com

Abstract: Vitamin C is an antioxidant that suppresses the oxidative stress caused by cigarette smoke purpose of this study demonstrate whether vitamin C can provide a different quality of sperm male mice *Mus musculus L* are given exposure to cigarette smoke. Methodology: The study subjects are 32 male mice *Mus musculus L*, which were randomly divided into 2 groups. The first group was the control group (K) who received treatment exposure from cigarette smoke without giving vitamin C and the second group is the treatment group (P) are given exposure from cigarette smoke and vitamin C dose of 0.40 mg / gBB /day. The treatment during 30 days, on day 31 the mice were terminated, and then examined the quality of spermatozoa motility of spermatozoa, sperm concentration and morphology of spermatozoa. Results: Test oneway ANOVA on the mean motility of spermatozoa showed Ma control group (47,38%), Mb (11,88%), Mc (18,13%), Md (22,63%) and the Ma treatment group (11.68%), Mb (17,04%), Mc (35,77%), Md (16,5%). The mean concentration of spermatozoa obtained 63,34x10⁵/ml control group and the treatment group and the mean morphology of spermatozoa 81,75x10⁵/ml control group showed normal morphology 50% and abnormal morphology 56,189% while the treatment group showed normal morphology 60% and 40% abnormal. Result from Oneway ANOVA test there are differences significant in the morphology of spermatozoa, concentration of spermatozoa, sperm concentration, and sperm morphology between groups (p <0,05). Conclusion: Vitamin C can improve the quality of spermatozoa after exposure to cigarette smoke.

Keywords: ciggaratte, vitamin C, quality of spermatozoa.

Abstrak: Vitamin C merupakan antioksidan yang menekan proses stres oksidatif akibat asap rokok Tujuan penelitian membuktikan apakah vitamin C dapat memberikan perbedaan kualitas spermatozoa mencit jantan *Mus Musculus L* yang diberi paparan asap rokok. Metodologi: Subyek penelitian 32 ekor mencit jantan *Mus Musculus L*, yang dibagi secara acak menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol (K) yang mendapat perlakuan paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C dan kelompok kedua yaitu kelompok perlakuan (P) yang diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,40mg/gBB/hari. Perlakuan berlangsung selama 30 hari, pada hari ke-31 mencit tersebut diterminasi, kemudian dilakukan pemeriksaan kualitas spermatozoa yaitu motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa dan morfologi spermatozoa. Hasil: Uji *oneway ANOVA* pada rerata motilitas spermatozoa kelompok kontrol menunjukkan Ma(47.38%), Mb(11.88%), Mc(18.13%), Md(22.63%) dan kelompok perlakuan Ma(11.68%), Mb(17.04%), Mc(35.77%), Md(16.5%). Rerata konsentrasi spermatozoa kelompok kontrol didapatkan 63.34x10⁵/ml, dan kelompok perlakuan 81.75x10⁵/ml dan rerata morfologi spermatozoa kelompok kontrol menunjukkan morfologi normal 50% dan morfologi abnormal 56,189% sedangkan kelompok perlakuan menunjukkan morfologi normal 60% dan abnormal 40%. Hasil Uji *oneway ANOVA* terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi

spermatozoa yaitu morfologi spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, dan morfologi spermatozoa antar kelompok ($p < 0.05$). Kesimpulan: Pemberian vitamin C dapat memperbaiki kualitas spermatozoa setelah pemaparan asap rokok.

Kata kunci: Rokok, vitamin C, kualitas spermatozoa.

Komponen kimiawi dalam asap rokok dapat mencapai puluhan ribu komponen. Komponen-komponen yang beraneka ragam dan kebanyakan bersifat toksik bagi tubuh. Komponen-komponen kimia yang berasal dari asap rokok dapat berupa radikal bebas, nikotin, tar, mutagen atau karsinogen dan konstituen lainnya. Radikal bebas dari asap rokok jumlahnya sangat banyak, dalam sekali hisap diperkirakan masuk sekitar 1014 molekul radikal bebas. Partikel-partikel ini terbentuk dari gabungan senyawa-senyawa organik dalam asap. Senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi gaya magnetik dan elektromagnetik, dengan demikian komponen-komponen kimia khususnya yang bersifat aromatik di ujung batang rokok yang bersuhu 400-600°C dapat membentuk partikel (polimer). Secara sendiri-sendiri komponen kimia dari asap rokok bisa menjadi berbahaya.^{1,2}

Asap rokok terdiri dari zat kimia yang bersifat toksik bagi tubuh. Asap rokok dapat menyebabkan gangguan terhadap sel spermatozoa, berupa penurunan kualitas spermatozoa, sehingga akan mempengaruhi kemampuan spermatozoa dalam membuahi telur.³

ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang dihasilkan oleh asap rokok merupakan salah satu radikal bebas serta dapat menyebabkan kerusakan pada DNA spermatozoa, sehingga terjadi peningkatan apoptosis dari sel ini. Ketika produksi ROS berlebihan dan mekanisme pertahanan antioksidan yang lemah, maka stres oksidatif dapat terjadi, sehingga akan berbahaya bagi spermatozoa. Untuk itu dibutuhkan sistem pembersih yang dapat menetralkan efek dari ROS berupa antioksidan.¹

Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat menekan proses stres oksidatif akibat asap rokok.¹ Vitamin C juga disebut asam askorbat yang merupakan senyawa beratom karbon 6 yang dapat larut dalam air, sehingga mudah diserap oleh tubuh. Vitamin C mempunyai manfaat sebagai

penkuat sistem imun tubuh.⁴ Vitamin C juga dapat menetralkan radikal hidroksil, superoksida, radikal hidrogen peroksida dan mencegah aglutinasi dari spermatozoa. Pemberian vitamin C secara terpisah maupun dikombinasikan dapat meningkatkan libido, konsentrasi spermatozoa dan konsentrasi fruktosa semen.⁵ Pada penggunaan dosis 400 mg vitamin C pada 30 pria dan wanita sehat selama 6 minggu dapat melindungi DNA dari kerusakan. Selain itu juga vitamin C dipercaya dapat meningkatkan kualitas spermatozoa pada perokok.⁶

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang "Perbedaan kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus Musculus L*) yang diberi vitamin C setelah pemaparan asap rokok".

METODE PENELITIAN

Bentuk penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*). Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado, dengan rentang waktu sekitar bulan November 2012 sampai dengan Januari 2013. Populasi penelitian ini adalah mencit jantan *Mus musculus L* sebanyak 32 ekor.

Vitamin C diberikan setelah mencit jantan diberikan pemaparan asap rokok setiap hari selama 30 hari. Vitamin C yang digunakan adalah asam askorbat berbentuk tablet yang dilarutkan ke dalam air, kemudian diberikan ke dalam botol minum mencit jantan. Dosis vitamin C yang diberikan pada mencit jantan *Mus musculus L* adalah 0,40mg/gBB/hari.

Pemaparan asap rokok dilakukan 1 kali sehari sebanyak 1 batang rokok selama 30 hari. Pemaparan asap rokok dilakukan dengan cara memasukkan 16 ekor mencit jantan *Mus musculus L* ke dalam kandang

perlakuan yang berukuran 29x26x28,5cm kemudian diberi pemaparan asap rokok sebanyak 1 batang rokok. Jenis rokok yang digunakan adalah rokok kretek yang banyak didapatkan dan dikonsumsi oleh masyarakat. Setelah rokok habis terbakar, mencit jantan *Mus musculus L* dikeluarkan dari kandang percobaan dan dikembalikan ke kandang pemeliharaan dengan diberi makanan dan minuman serta pada dasar kandangnya diberi sekam.

Sampel penelitian diambil secara acak dengan kriteria inklusi yaitu mencit jantan *Mus musculus L*, umur 12-16 minggu, berat badan 20-25 gram, sehat serta tingkah laku dan aktivitas mencit normal. Pada kriteria eksklusi mencit yang tampak sakit dan mati dalam penelitian tidak digunakan. Sebelum dilakukan perlakuan mencit terlebih dulu mengalami aklimatisasi selama satu minggu serta mendapat makan dan minum secara ad libitum, kemudian 32 ekor mencit jantan dibagi ke dalam 2 kelompok percobaan, dengan jumlah sampel tiap kelompok 16 ekor mencit jantan. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol (K) yang mendapat perlakuan paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin C dan kelompok kedua yaitu kelompok perlakuan (P) yang diberi paparan asap rokok dan vitamin C dosis 0,40mg/gBB/hari. Perlakuan dilakukan selama 30 hari. Pada hari ke 31 mencit jantan kemudian diterminasi, dan diambil sampel spermatozoa pada tiap kelompok.

Prosedur pemeriksaan kualitas spermatozoa yaitu motilitas, konsentrasi dan morfologi spermatozoa dilakukan pada masing-masing kelompok. Suspensi spermatozoa diambil menggunakan disceting kit untuk mengambil organ testis dan cauda epididimis. Cauda epididimis dipisahkan dengan cara memotong bagian proksimal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Selanjutnya cauda epididimis dimasukkan ke dalam cawan petri berisi 1 ml NaCl 0,9%, bagian proksimal cauda dipotong sedikit dengan gunting lalu cauda ditekan perlahan hingga sekresi cairan epididimis keluar dan tersuspensi dengan NaCl 0,9%. Suspensi spermatozoa dari cauda epididimis digunakan untuk peng-

amatan kualitas spermatozoa yang meliputi, konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa.

Pengamatan jumlah spermatozoa dilakukan dengan cara suspensi spermatozoa terlebih dahulu dihomogenkan. Selanjutnya diambil sebanyak 0.005ml dan dimasukkan ke dalam gelas obyek sitometer Thoma yang berkotak-kotak dan telah ditutup dengan kaca penutupnya. Kemudian, diteteskan suspensi spermatozoa tepat pada pinggir gelas penutup hingga cairan menyebar ke seluruh sudut penutup kemudian dilihat dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 45x10 serta dihitung jumlah spermatozoa pada lima lapangan pandang. Pengamatan pada motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara suspensi spermatozoa diteteskan pada alat bilik hitung improved Neubauer dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali, lalu nilai pergerakan spermatozoa yang terjadi. Pada pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan cara hasil suspensi spermatozoa diteteskan di atas gelas objek, dibuat preparat apus dan dikeringkan di udara, sediaan difiksasi dengan metanol selama 3-5 menit, kemudian diwarnai dengan giemsa 3% selama 45 menit. preparat dicuci dan dikeringkan. Diamati dengan mikroskop pembesaran 40x10, lihat kelainan bentuk yang terlihat.

Semua data yang diperoleh akan diuji normalitas dan homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dianalisa menggunakan Anova dengan metode rancangan acak lengkap dengan ketelitian 5%. Jika distribusi data tidak normal dan tidak homogen maka dilakukan uji Mann Whitney untuk membandingkan 2 kelompok percobaan. Semua Analisis data menggunakan *SPSS software for windows* versi 20.

HASIL PENELITIAN

Data jumlah rerata kualitas spermatozoa pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel IV.1 Jumlah rerata kualitas spermatozoa dari kelompok kontrol dan perlakuan

Kualitas Spermatozoa	Mean Tanpa vit c(%)	Mean Vit (%)
Motilitas		
Ma	47,37	61,62
Mb	11,87	9,31
Mc	18,12	12,56
Md	22,62	16,5
Konsentrasi	63,34	81,73
Morfologi		
Normal	43,81	56
Abnormal	60	31

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol (tanpa vitamin C) dan kelompok perlakuan (vitamin C).

Tabel IV.2 Rerata Motilitas Spermatozoa antara Kelompok Kontrol (n=16) Dan Kelompok Perlakuan (n=16)

Motilitas spermatozoa	Presentase Rerata motilitas spermatozoa(%)		F	P
	Kontrol	Perlakuan		
Ma	47,38	61,63	114	0,000
Mb	11,88	9,31	11,67	0,002
Mc	18,13	12,56	17,04	0,000
Md	22,63	16,5	35,77	0,000

Berdasarkan tabel diatas, hasil uji *One Way Anova* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, didapatkan rerata motilitas spermatozoa antar kelompok kontrol yaitu Ma (47,38%), Mb (11,88%), Mc (18,13%), Md (22,63%) dan kelompok perlakuan menunjukan nilai Ma (11,68%), Mb (17,04%), Mc (35,77%), Md (16,5%). Ini menunjukkan bahwa terjadi perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, pemberian vitamin C dapat memperbaiki motilitas spermatozoa yang rusak akibat paparan asap rokok. Untuk nilai Anova (F) mempunyai pengaruh, harus dapat memenuhi ketentuan bahwa

$F_{hitung} > F_{tabel}$, yang mana F_{tabel} menunjukkan nilai ($F=4,15$), dan pada F_{hitung} ($F > 4,15$) yang berarti terdapat pengaruh antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Serta nilai P, diperoleh $p < 0,05$ ($ma = 0,000$, $mb = 0,002$, $mc = 0,000$, $md = 0,000$) yang berarti ada perbedaan yang signifikan pada rerata motilitas spermatozoa antar kelompok kontrol dan kelompok penelitian.

Tabel IV.4 Rerata morfologi spermatozoa antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok subjek	N	rerata morfologi spermatozoa(%)		F	P
		Normal	Abnormal		
Kontrol	1			23,	0,0
	6	43,81	56,19	185	00
Perlakuan	1			23,	0,0
	6	60	40	185	00

Berdasarkan tabel diatas, hasil uji *One Way Anova* dari data rerata morfologi spermatozoa antara 16 ekor mencit pada kelompok kontrol menunjukkan morfologi normal, didapatkan nilai rerata 50% dan morfologi abnormal didapatkan nilai rerata 56,189%. Berbeda dengan hasil yang diperoleh pada kelompok perlakuan yang diberikan oleh vitamin C yang mana morfologi normal menunjukkan rerata sebesar 60% dan morfologi spermatozoa abnormal sebesar 40%. Disini terjadi perbaikan pada kelompok perlakuan yang diberikan vitamin C. Pada analisis kemaknaan nilai Anova (F), menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ yaitu $F > 4.15$ ($F=23,185$) dan nilai P menunjukkan $p < 0,05$ ($p=0,000$). Hal ini berarti bahwa rerata morfologi spermatozoa mencit ada perbedaan yang signifikan antar kedua kelompok penelitian.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang ada, telah diambil 32 ekor mencit sebagai hewan

percobaan, 16 ekor mencit pada kelompok kontrol dan 16 ekor mencit pada kelompok perlakuan. Pada penelitian ini didapatkan rata-rata kualitas spermatozoa pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memiliki perbedaan signifikan baik dari segi motilitas, konsentrasi maupun morfologi spermatozoa. Hal ini ditunjukkan pada tabel IV.1 dan tampak bahwa kelompok perlakuan yang diberikan paparan asap rokok dengan vitamin C mengalami peningkatan kualitas spermatozoa dibandingkan kelompok kontrol tanpa vitamin C.

Penurunan pada kualitas spermatozoa disebabkan Stres Oksidatif diakibatkan oleh adanya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dari asap rokok yang akan mengakibatkan kerusakan DNA dan pada akhirnya terjadi apoptosis spermatozoa. Sehingga akan terjadi penurunan kualitas spermatozoa.⁷ Sehingga akan terjadi penurunan kualitas spermatozoa.⁷

Vitamin C terbukti memperbaiki kualitas spermatozoa, karena memiliki polaritas yang tinggi dimana banyak mengandung gugus hidroksil sehingga mudah larut didalam air. Selain itu senyawa-senyawa radikal bebas (asap rokok) yang menyebabkan kerusakan oksidatif dari DNA spermatozoa akan mengalami proses oksidasi dengan vitamin C. Hasil dari oksidasi ini membentuk suatu radikal askorbat yang stabil dan reaktif. Pada radikal askorbat ini tidak berbahaya seperti radikal bebas yang lain dan akan kembali bergabung untuk membentuk suatu asam askorbat (vitamin C). Melalui mekanisme ini vitamin C diketahui mampu memperbaiki kualitas spermatozoa mencit.⁵

Pada tabel IV.2 didapatkan perbedaan rata-rata motilitas spermatozoa antara rerata kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan signifikansi $p < 0,05$ dimana nilai Ma ($p = 0,000$), Mb ($p = 0,002$), mc ($p = 0,000$), Md ($p = 0,000$) dan nilai anova (F) menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($F > 4,17$) yang berarti vitamin C memberikan pengaruh terhadap nilai kualitas spermatozoa mencit. Penurunan rerata motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol disebabkan karena rokok mengandung nikotin yang merupakan

suatu radikal bebas yang akan merusak membran tipis pada sitoplasma di kepala spermatozoa sehingga gerakan spermatozoa menjadi buruk. Sedangkan penambahan vitamin C pada mencit setelah paparan asap rokok berperan sebagai antioksidan dengan cara melindungi membran sitoplasma di kepala spermatozoa sehingga mempertahankan gerakan spermatozoa tetap progresif.⁶

Menurut penelitian yang dilakukan Alini, menunjukkan ada perbedaan kelompok kontrol dan perlakuan yaitu nilai mean dari kelompok kontrol 13.50 dan kelompok perlakuan 51.67 walaupun terdapat perbedaan. Tapi berdasarkan statistik hal ini tidak signifikan karena mungkin disebabkan pemberian vitamin C yang singkat yang diberikan selama 14 hari.⁸

Pada tabel IV.3 didapatkan rerata konsentrasi spermatozoa pada mencit jantan (*Mus Musculus. L*) menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dimana hasil kelompok kontrol yang diberikan paparan asap rokok tanpa vitamin C menunjukkan rerata sebesar $57,94 \times 10^5/\text{ml}$ dan kelompok perlakuan yang diberikan vitamin C dosis $0,4\text{mg/gbb/hari}$ sebesar $84,93 \times 10^5/\text{ml}$ yang menunjukkan peningkatan konsentrasi spermatozoa yang signifikan. Hasil analisis data, secara statistik diperoleh $P < 0,05$ ($p = 0,000$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar varian kelompok penelitian yang diteliti atau varian antar kelompok penelitian adalah berbeda.

Terjadi Penurunan Konsentrasi spermatozoa pada kelompok kontrol disebabkan oleh adanya ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang terdapat dalam asap rokok. ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan radikal bebas yang merupakan salah satu mediator dari ketidaksuburan yang menyebabkan kelainan fungsi spermatozoa, sehingga terjadi penurunan konsentrasi spermatozoa.¹

Pada kelompok perlakuan terjadi perbaikan pada konsentrasi spermatozoa setelah pemberian vitamin C, hal ini menunjukkan bahwa vitamin C sebagai antioksidan berpengaruh positif dalam memelihara

struktur dan perkembangan, serta fungsi sel-sel spermatozoa. Sehingga dengan adanya zat aktif tersebut, jumlah sel-sel benih yang telah mengalami kegagalan perkembangan, degenerasi, dan kematian akibat radikal bebas dapat ditekan dan dilindungi.⁶

Pada tabel IV.4 didapatkan rerata morfologi spermatozoa memberikan hasil bahwa terjadi kenaikan rerata morfologi spermatozoa pada kelompok perlakuan yang diberikan vitamin C dibandingkan tanpa vitamin C (kontrol). Berdasarkan hasil analisa statistik menunjukkan nilai Anova didapatkan $F > 4.17$ (23,185) dengan signifikan $p = 0.000$.

Karena nilai signifikan < 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan varian kelompok kontrol yang diteliti dan kelompok perlakuan.

SIMPULAN

Terjadi perbedaan kualitas spermatozoa yaitu motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa dan morfologi spermatozoa pada kelompok dengan pemaparan asap rokok tanpa vitamin C dan kelompok pemaparan asap rokok dengan pemberian vitamin C dan Pemberian vitamin C dapat memperbaiki kualitas spermatozoa setelah pemaparan asap rokok.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Cita I.** Pengaruh pemberian vitamin c terhadap jumlah spermatozoa pada mencit jantan strain balb/c yang diberi paparan asap rokok [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2006.
2. Pusat Studi Nano Biologi Universtias Brawijaya. Pengembangan teknologi kretek sehat tanpa kehilangan citra rasa [Homepage on the Internet]. Nodate [cited 2012 Oct 16]. Available from: [http://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=](http://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=komponen+dari+asap+rokok&source=web&cd=4&cad=rja&ved=0CDQQFjAD&url=http%3A%2F%2Fsmartbio.org%2Ffiles%2Fpengembangan%2520Teknologi%2520Kret ek.doc&ei=zDR9UL_iDsX7rAfbsYDYCw&usg=AFQjCNHu3M6XmfI0DQobFEMxisA253V2CQ)
3. **Fitriani, kartini E, Widya S.** The effect of ciggarettes smoke exposed cause fertility of amle mice (*Mus musculus*). *Jurnal Natural* [Online]. 2010 [cited 2012 Oct 18];10. Available from: http://fmipa.unsyiah.ac.id/jurnalnatural/images/pdf/hal_12_17_2_2010.pdf.
4. Universitas Sumatera Utara. 2006 <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/21554/4/Chapter%20II.pdf> diakses tanggal 16 oktober 2012
5. **Julahir HS.** Pengaruh pemberian vitamin c terhadap jumlah sel leydig dan jumlah sperma mencit jantan dewasa (*Mus musculus*, L.) yang dipapari monosodium glutamate (msg) [Tesis]. Medan; USU; 2009. Available from: <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/6175/1/09E02271>.
6. **Titisari N, Okid PA, Tetri W.** Pengaruh vitamin C terhadap perbaikan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) [Online]. 2003 [cited 2012 Oct 16]. Available from: http://si.uns.ac.id/profil/uploadpublikasi/Jurnal/196303271986012002bioscience_3.pdf
7. **Sari Q.** Pengaruh pemberian vitamin E terhadap jumlah spermatozoa pada mencit jantan strain balb/c yang diberi paparan asap rokok [Skripsi]. Semarang; Universitas Diponegoro; 2006. Available from: <http://eprints.undip.ac.id/20253/1/sari.pdf>
8. **Alini H.** Pengaruh pemberian vitamin C terhadap motilitas spermatozoa mencit jantan strain balb/C yang diberi paparan asap rokok [Skripsi]. Semarang; Undip; 2006. Available from: <http://eprints.undip.ac.id/20225/1/Alini.pdf>.