

PEMBERIAN EKSTRAK BUAH JUWET (*Syzygium cumini* L.) TERHADAP JUMLAH DAN MORFOLOGI SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus* sp.) JANTAN YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

THE EFFECT OF FRUIT EXTRACTS *JUWET* (*Syzygium cumini* L.) ON THE NUMBER AND MORPHOLOGY OF SPERMATOZOA WERE SUPERBLY EXPOSED TO SMOKE

Fitria Dwijayanti¹, A.A.S.A. Sukmaningsih, Ni Made Rai Suarni, Sang Ketut Sudirga, Ni Made Susun Parwanayoni

Program Studi Biologi F. MIPA Universitas Udayana

¹Email : fitriadwijayanti63@yahoo.com

INTISARI

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah juwet terhadap jumlah dan morfologi spermatozoa yang telah terpapar asap rokok. Dalam penelitian ini digunakan tikus putih jantan umur 3 bulan berat 200-210 gram sebanyak 24 ekor, terdistribusi 4 perlakuan yaitu : kontrol (K_0), paparan asap rokok (K_1), ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.) (K_2), paparan asap rokok dan ekstrak buah juwet (K_3). Tiap perlakuan terdiri atas 6 kali ulangan. Sebelum perlakuan tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Cara pemberian ekstrak buah juwet menggunakan metode *gavage* sebanyak 2 ml diberikan sekali sehari selama 48 hari sedangkan control diberikan larutan CMC-Na 0,5%. Paparan asap rokok diberikan sebanyak 1 batang rokok kretek dan dinyalakan dengan bantuan *Aerator pump*, sekali sehari selama 48 hari. Variabel yang diamati yaitu jumlah dan morfologi spermatozoa. Data dianalisis dengan ANOVA dan bila berbeda nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah morfologi spermatozoa abnormal berbeda nyata ($P < 0,05$). Rata-rata jumlah morfologi abnormal pada kelompok K_1 lebih tinggi dibanding kelompok K_3 . Jumlah spermatozoa tidak berbeda nyata antar perlakuan. Nilai rata-rata jumlah spermatozoa K_1 lebih rendah dibandingkan K_3 . Hal ini dikarenakan paparan asap rokok menyebabkan pembentukan ROS yang mengakibatkan stress oksidatif dan menyebabkan kerusakan sel, jaringan dan organ khususnya sistem reproduksi. Ekstrak buah juwet mampu meningkatkan jumlah dan morfologi spermatozoa normal tikus putih yang telah terpapar asap rokok. Hal ini dikarenakan senyawa antioksidan pada buah juwet dapat melindungi sel dari serangan radikal bebas.

Kata kunci: *Rattus sp*, asap rokok, buah juwet, spermatozoa, ROS, antioksidan.

ABSTRACT

The research to determine the effect of fruit extracts *juwet* on the number and morphology of spermatozoa were superbly exposed to smoke has been conducted. This study uses rats aged 3 month, 200-210 gram, total 24 rats consisting of 4 treatment, is control, smoke of cigarette, *juwet* fruit extracts, and smoke of cigarette to *juwet* fruit extracts. Each treatment consisting 6 replications, each consisting of 1 rat. Before, acclimatization of rat treated 7 days. Way of giving *juwet* fruit extracts the *gavage* method 2 ml once daily for 48 days, while the CMC-Na 0,5% is given control. The exposure to cigarette smoke is given from an aerator pump, to given once daily for 48 days. Data were analyzed with ANOVA, if they were 5% significantly different would be followed by a DMRT. The result showed that the number of abnormal sperm morphology were significantly different ($p < 0,05$). The average number of abnormal spermatozoa K_1 group was higher than K_3 group. The number of spermatozoa was not significant different between treatments. The average number of spermatozoa K_1 lower than K_3 . This is because the smoke of cigarette increased formation of ROS and the resulting stress oxidative and cause cell damage tissues and organs, especially to the reproductive system. *Juwet* fruits extract have been able to improve the count and morphology of rats spermatozoa expose to smoke. This case because of antioxidant from *juwet* fruit can be protect cell from the free radical attack.

Keywords: *Rattus sp*, smoke of cigarette, java plum fruit, spermatozoa, , ROS, antioxidant.

PENDAHULUAN

Rokok merupakan hasil olahan tembakau yang menggunakan bahan tambahan atau pun tidak menggunakan bahan tambahan. Rokok kretek merupakan olahan tembakau dengan bahan tambahan berupa cengkeh (Sukmaningsih, 2009). Asap rokok yang dihirup oleh perokok aktif maupun pasif mengandung gas, partikel ataupun senyawa-senyawa berbahaya seperti karbondioksida, karbon monoksida, oksida dari nitrogen, senyawa hidrokarbon, nikotin, tar, cadium, dan fenol. Senyawa-senyawa tersebut dapat menimbulkan gangguan kesehatan dan peningkatan jumlah radikal bebas di dalam tubuh (Sitohang dkk, 2015). Peningkatan jumlah radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan endogen di dalam tubuh untuk menetralsirnya menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Winarto, 2010). Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) didefinisikan sebagai

suatu molekul, atom, atau beberapa grup atom yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya (Muchtadi, 2013). Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Radikal bebas eksogen berasal dari makanan, minuman, radiasi, pestisida dan polutan (asap pabrik, asap kendaraan dan asap rokok) (Maslachah dkk, 2008). *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) merupakan salah satu penyebab kerusakan spermatozoa (Pietta, 2000).

Spermatozoa sangat peka terhadap kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS (*Radical Oxygen Spesies*) karena membran sel mengandung banyak asam lemak tidak jenuh dan antioksidan intraseluler tidak cukup untuk melindungi membran sel. Kadar ROS yang tinggi tidak hanya mempengaruhi kerusakan membran dan peroksidasi lipid spermatozoa, ROS yang ditimbulkan

dari stres oksidatif juga dapat menyebabkan kerusakan DNA spermatozoa seperti integritas DNA yang kemudian akan menyebabkan apoptosis (Sukmaningsih dkk, 2015). Apoptosis merupakan kematian sel yang terjadi melalui perubahan struktural dan memerlukan energi sebagai hasil dari rangsang fisiologis ataupun patologis (Fitria dkk, 2013).

Antioksidan mampu melindungi sel dari radikal bebas dan berperan penting sebagai pelindung sel spermatozoa. Antioksidan banyak terkandung dalam sayur-sayuran dan buah-buahan (Indrayana, 2008). Salah satu buah yang mengandung antioksidan adalah buah juwet (*Syzygium cumini* L.). Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh buah juwet sangat tinggi dan dipengaruhi dari tingkat kematangannya (Kusbandhono, 2011).

Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.) terhadap morfologi dan jumlah spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus* sp.) yang telah terpapar asap rokok. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.) terhadap morfologi dan jumlah spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus* sp.) yang telah terpapar asap rokok.

MATERI DAN METODE

Sejumlah 24 ekor tikus putih jantan berusia sekitar 3 bulan dengan berat 200-210 gram digunakan sebagai hewan coba. Tikus dibagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan 6 kali ulangan. Sebelum pemberian perlakuan hewan diaklimatisasi selama seminggu menggunakan bak plastik yang dialasi dengan sekam dan ditutup dengan penutup kawat serta diberi pakan berupa konsentrat CP551 dan diberi minum secara *ad libitum*. Kelompok K₀ (kontrol) adalah kelompok tikus yang hanya diberikan aquades dan larutan CMC-Na 0,5%. K₁ adalah kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok. K₂ adalah kelompok tikus yang diberi ekstrak buah juwet. K₃ adalah kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dan ekstrak buah juwet.

Pembuatan ekstrak buah juwet menggunakan buah dari tanaman juwet (*Syzygium cumini* L.) yang telah matang, daging buah juwet dipotong kecil-kecil kemudian dikering bekukan (*Freeze drying*). Sampel kering dimaserasi menggunakan etanol : air (1 : 1) selama 60 menit dengan cara diaduk. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali sampai warna filtrat bening. Setelah itu hasil maserasi disentrifugasi untuk memisahkan filtrat dengan residu. Kemudian filtrat dievaporasi

Rata-rata jumlah spermatozoa adalah sebagai berikut K₀ = 326,33; K₁ = 267,50; K₂ = 309,33; K₃ = 286,17. Berdasarkan analisis dengan uji *One Way ANOVA* nilai rata-rata jumlah spermatozoa tidak berbeda nyata antar perlakuan (Tabel 1). Nilai rata-rata jumlah spermatozoa tertinggi terdapat pada kelompok K₀ dan nilai rata-rata jumlah spermatozoa terendah terdapat pada kelompok K₁. Pada kelompok K₂ dan K₃ terjadi peningkatan jumlah spermatozoa dibanding kelompok K₁ (Gambar 1).

Rata-rata jumlah morfologi spermatozoa abnormal adalah K₀ = 18,00; K₁ = 12,67; K₂ = 3,50; K₃ = 7,83. Nilai rata-rata jumlah morfologi spermatozoa

menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai volume tertentu. Setelah dievaporasi didapat hasil berupa ekstrak kasar yang berbentuk seperti pasta. Ekstrak kasar tersebut dilarutkan menggunakan CMC-Na 0,5% dan ekstrak siap digunakan (Sari dkk, 2005). Ekstrak diberikan dengan dosis 360mg/200grBB secara oral menggunakan jarum *gavage* sebanyak 2ml perhari selama 48 hari.

Paparan asap rokok diberikan setiap hari sebanyak 1 batang rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg untuk 1 ekor tikus dengan menggunakan metode pengasapan hewan coba yang dilakukan menggunakan kotak kaca yang diberi alas sekam dan diberi penutup kaca. Di bagian kanan dan kiri diberi lubang dengan diameter 2cm yang berfungsi sebagai ventilasi dan tempat untuk memasukkan batang rokok. Agar rokok tetap menyala pangkal rokok dihubungkan dengan *aerator pump* melalui selang dengan diameter yang sesuai dengan diameter rokok. Pengasapan dilakukan sampai rokok habis yaitu selama ± 20 menit. Setelah rokok habis, tikus dibiarkan di dalam kotak pengasapan ± 15 menit atau sampai asap di dalam kotak hilang. Kemudian hewan coba dikeluarkan dan diletakkan kembali ke dalam kotak pemeliharaan. Paparan asap rokok diberikan selama 48 hari.

Pada hari ke-49, tikus dibedah kemudian diambil kauda epididimisnya untuk membuat suspensi spermatozoa. Pemeriksaan morfologi spermatozoa dapat diamati dengan membuat apusan spermatozoa menggunakan suspensi spermatozoa dan diberi pewarna eosin 1%. Pemeriksaan morfologi ditekankan pada kelainan bentuk atau abnormalitas spermatozoa. Bentuk spermatozoa dianggap abnormal jika terdapat satu atau lebih bagian spermatozoa yang cacat (kepala, leher dan ekor). Hasil dinyatakan dalam persen (Wibisono, 2010).

Pemeriksaan jumlah spermatozoa dapat diamati dengan cara suspensi spermatozoa diteteskan pada hemocytometer dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Jumlah dinyatakan dengan satuan juta per kauda epididimis (Wibisono, 2010).

Data yang diperoleh dianalisa dengan *Analysis of Variance* (ANOVA), apabila data menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multi Range Test* (DMRT) menggunakan program SPSS versi 22.0 tahun 2014.

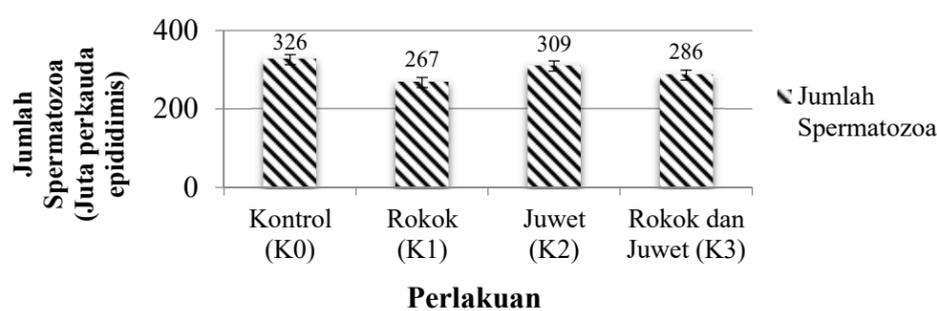
HASIL

normal adalah K₀ = 82,00; K₁ = 87,33; K₂ = 96,50; K₃ = 92,17 (Tabel 1). Berdasarkan analisis dengan uji *One Way ANOVA*, nilai rata-rata morfologi spermatozoa abnormal pada kelompok K₁ berbeda nyata dengan kelompok K₃. Nilai rata-rata morfologi spermatozoa abnormal K₂ berbeda nyata dengan kelompok K₀ dan K₁. Sedangkan nilai rata-rata morfologi spermatozoa normal pada kelompok K₀ berbeda nyata antar perlakuan. Nilai rata-rata morfologi normal kelompok K₁ berbeda nyata dengan kelompok K₀ dan K₂. Nilai rata-rata morfologi spermatozoa normal pada kelompok K₂ berbeda nyata dengan kelompok K₀ dan K₁. (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil rata-rata dan standar deviasi morfologi dan jumlah spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus sp.*) pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah pemberian paparan asap rokok dan ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.) selama 48 hari

Variabel	Perlakuan				
	Kontrol (K ₀)	Rokok (K ₁)	Juwet (K ₂)	Rokok dan Juwet (K ₃)	
Morfologi	Abnormal	18,00±5,87 ^c	12,67±5,01 ^{bc}	3,50±1,52 ^a	7,83±4,22 ^{ab}
	Normal	82,00±5,87 ^a	87,33±5,01 ^a	96,50 ± 1,52 ^c	92,17±4,22 ^{bc}
Jumlah Spermatozoa (juta per kauda epididimis)		326,3 ± 56,86 ^a	267,50± 49,60 ^a	309,33±51,12 ^a	286,17± 45,48 ^a

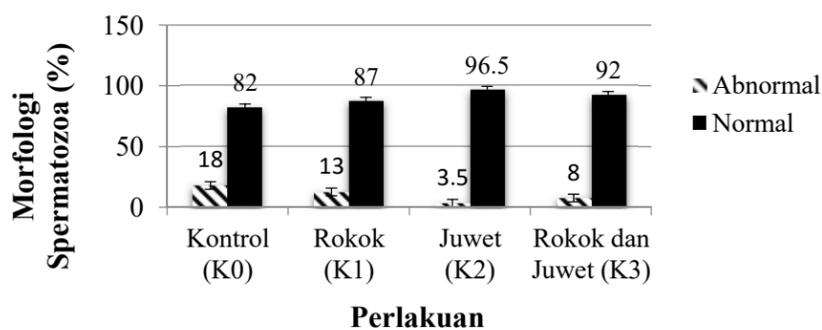
Keterangan : huruf superskrip yang berbeda pada baris menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan, sedangkan huruf superskrip yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), pada uji taraf 5%



Gambar 1. Diagram rata-rata jumlah spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus sp.*) kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberikan paparan asap rokok dan ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.)

Nilai rata-rata jumlah morfologi spermatozoa abnormal pada kelompok K₂ mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok K₀, K₁ dan K₃. Nilai rata-rata jumlah morfologi spermatozoa abnormal pada kelompok K₁ mengalami peningkatan dibanding kelompok K₂ dan K₃, namun mengalami penurunan rata-

rata jumlah morfologi spermatozoa abnormal dibanding kelompok K₀. Sedangkan nilai rata-rata jumlah morfologi normal pada kelompok K₂ mengalami peningkatan dibanding kelompok K₀, K₁ dan K₃. Kelompok K₀, K₁ dan K₃ mengalami penurunan jumlah morfologi spermatozoa normal dibanding K₂ (Gambar 2).



Gambar 2. Diagram rata-rata morfologi spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus sp.*) kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberikan paparan asap rokok dan ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.)



Gambar 3. Morfologi spermatozoa (perbesaran 400 kali)

Keterangan gambar:

- A. Spermatozoa normal; (a) kepala, (b) leher dan (c) ekor.
- B. Spermatozoa tanpa ekor
- C. Spermatozoa tanpakepala
- D. Spermatozoa ekormelingkar
- E. spermatozoa ekor patah membentuk sudut 90°

PEMBAHASAN

Berdasarkan analisis dengan uji lanjut menggunakan *Duncan Multi Range Test* (DMRT) jumlah spermatozoa tidak berbeda nyata antar perlakuan (Tabel 1). Namun, rata-rata jumlah spermatozoa antar perlakuan berbeda-beda (Gambar 1). Jumlah spermatozoa terendah terdapat pada kelompok K₁, hal ini diduga karena paparan asap rokok menyebabkan peningkatan kadar ROS yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Selain itu, radikal bebas yang terbentuk akibat paparan asap rokok dapat menghambat kerja enzim adenilsiklase pada sel Leydig dalam menghasilkan hormon testosteron spermatogenesis dan fungsi epididimis terganggu (Hendri dan Devita, 2015). Terganggunya fungsi epididimis dan spermatogenesis akan menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa yang dihasilkan (Solihati dkk, 2013).

Sedangkan pada kelompok K₃ mengalami peningkatan jumlah spermatozoa dibandingkan dengan kelompok K₁. Hal ini diduga karena pada buah juwet terkandung senyawa antioksidan (eksogen) yang ditandai dengan adanya antosianin sebagai penyebab warna ungu pada buah juwet. Antioksidan pada buah juwet mampu meredam dampak negatif oksidan di dalam tubuh dengan memutus reaksi dari oksidasi berantai radikal bebas (Winarsi, 2007), sehingga jumlah spermatozoa pada kelompok yang diberi ekstrak buah juwet lebih tinggi dibandingkan kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok.

Pada penelitian ini terdapat kelainan morfologi spermatozoa abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer yang terlihat yaitu spermatozoa dengan ekor melingkar. Abnormalitas primer terjadi karena pada testis dan saluran reproduksi mengalami degenerasi sel. Hal ini disebabkan karena

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Ibu Ni Made Rai Suarni, Bapak Sang Ketut Sudirga, Ibu Ni Wayan Sudatri, Ibu Dwi Ariani Yulihastuti, Ibu A.A.Sg.A. Sukmaningsih K., dan Ibu Ni Made Susun Parwanayoni atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Fitria, R.I.N.K., Retno, T., Jabhar, C., Mangimbulude., dan Ferry, F.K. 2013. Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Medika*. 5(2): 113-120.
- Hendri dan Devita. 2015. Efek Rokok Terhadap Kadar Follicle Stimulating Hormone (FSH) dan Luteinizing Hormone (LH) dan Testosteron Pada Pria. *Tesis*. UPT. Perpustakaan Universitas Andalas.
- Indrayana, R. 2008. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp.) Pada Serum Darah Tikus Putih Jantan galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.

adanya peningkatan kadar ROS yang dapat mempengaruhi membran plasma spermatozoa. Membran plasma spermatozoa banyak mengandung asam lemak tidak jenuh, dimana asam lemak tidak jenuh tersebut sangat rentan terhadap serangan ROS sehingga menyebabkan kerusakan pada spermatozoa (Sitohang dkk, 2015).

Nilai rata-rata spermatozoa abnormal pada kelompok K₀ dan K₁ setelah diuji menggunakan DMRT tidak berbeda nyata (Tabel 1). Namun, nilai rata-rata dari spermatozoa abnormal pada kelompok K₀ lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K₁. Hal ini disebabkan karena pada kelompok K₀ lebih banyak ditemukan abnormalitas sekunder seperti spermatozoa tanpa kepala, spermatozoa tanpa ekor dan spermatozoa dengan ekor patah membentuk sudut 90° (Gambar 3). Abnormalitas sekunder terjadi setelah spermiasi, sehingga diduga jumlah spermatozoa abnormal pada kelompok K₀ lebih tinggi dibandingkan kelompok K₁ karena kesalahan pada saat perlakuan setelah spermatozoa dikeluarkan dari epididimis.

Nilai rata-rata spermatozoa abnormal pada kelompok K₁ dan K₃ tidak berbeda nyata, tetapi rata-rata spermatozoa abnormalitas K₃ lebih rendah dibandingkan K₁. Hal ini diduga karena pemberian ekstrak buah juwet pada kelompok K₃ dapat memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh serangan ROS dengan menangkalkan radikal bebas.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini* L.) mampu meningkatkan jumlah spermatozoa dan menurunkan jumlah morfologi spermatozoa abnormal tikus putih (*Rattus sp.*) jantan yang terpapar asap rokok.

Kusbandhono, E. 2011. *Buah Juwet Kaya Zat Antioksidan*.

Available at :<http://erryk-kusbandhono.blogspot.com/2011/11/buah-juwet-buah-yang-kaya-zat.html>

Opened : 17 Oktober 2013

Maslachah, L., Sugiartuti, R. dan Kurniyanti. 2008. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O₂⁻) Oleh Antioksidan Vitamin E (α -thocoperol) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Menerima Stressor Rejatan Listrik. Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Kampus C Universitas Erlangga. *Media Kedokteran Hewan*. 24(1): 21-26.

Muchtadi, D. 2013. *Pangan dan Kesehatan Jantung*. Alfabeta. Bandung.

Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. peroxidation*. Am. J. Clin. Nutr. 61, 549-554. Prod. 63, 1035-1042.

Sari, P., Agustina, F., Komar, M., Unus., Fauzi, M. dan Lindriati, T. 2005. Ekstraksidan Stabilitas

- Antosianin Dari Kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini* L.). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP Universitas Jember. *Jurnal Teknol Dan Industri Pangan*. 16(2): 143.
- Sitohang, A.G., Wantouw, B. dan Queijoe, E.D. 2015. Perbedaan Antara Efek Pemberian Vitamin C Dan Vitamin E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Setelah Diberi Paparan Asap Rokok. Jurusan Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulung Manado. *Jurnal e-biomedik (eBm)*. 3(1): 69-70.
- Solihati, N., Purwantara, B., Supriatna, I., dan Winarto, A. 2013. Perkembangan Sel-Sel Spermatogenik dan Kualitas Sperma Pascapemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*). Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung. *JITV*. 18(3): 192-201.
- Sukmaningsih, A.A.Sg.A. 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis Pada Mencit (*Mus musculus*) yang Dipaparkan Asap Rokok. Jurusan Biologi Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Bali. *Jurnal Biologi*. 13(2): 31.
- Sukmaningsih, A.A.Sg.A., N.M. Rai. S., N.W. Sudatri., Triwahyu, P., dan Sitarina, W. 2015. *Apoptosis Sel Spermatogenik Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Terpapar Asap Rokok Setelah Pemberian Ekstrak Buah Juwet (Syzygium cumini)*. Proseding Seminar Nasional Sains dan Teknologi FMIPA Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung. 29-30 Oktober 2015.
- Winarto, D. 2010. *Pemanfaatan Vitamin C dan E Sebagai Antioksidan Untuk Memperbaiki Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa*.
Available at:
<http://www.umpwr.ac.id/artikel/477-pemanfaatan-vitamin-c-dan-e-sebagai-antioksidan-untuk-memperbaiki-kuantitas-dan-kualitas-spermatozoa.html>
Opened : 17 Oktober 2013
- Wibisono, H. 2010. *Panduan Laboratorium Andrologii*. PT Refika Adiatma. Bandung.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.