

## ARTIKEL PENELITIAN

**Pengaruh Jus Tomat (*Solanum Lycopersicum L*) terhadap Kualitas Sperma Mencit yang Diberi Paparan Asap Rokok Tersier**Alfiani Triamullah,<sup>1</sup> Yuke Andriane,<sup>2</sup> Annisa Rahmah Furqaani<sup>3</sup><sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, <sup>2</sup>Bagian Farmakologi, <sup>3</sup>Bagian Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung**Abstrak**

Rokok menyebabkan ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan antioksidan pada endogen testis. Hal ini disebabkan oleh peningkatan ROS sehingga dapat menurunkan antioksidan dan menyebabkan stres oksidatif pada proses spermatogenesis yang dapat memengaruhi kualitas sperma, seperti jumlah, motilitas, dan morfologi. Hal ini dapat dihambat dengan mengurangi oksidan atau mengonsumsi antioksidan alami, berupa likopen yang terkandung dalam tomat. Tujuan penelitian ini mengetahui pengaruh jus tomat terhadap kualitas sperma mencit yang diberi paparan asap rokok tersier. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan FK Unisba periode Maret–Juli 2019. Metode penelitian bersifat eksperimental murni *in vivo* dengan rancangan acak lengkap. Subjek penelitian adalah 35 ekor mencit jantan dewasa yang dibagi secara acak dan memenuhi kriteria inklusi. Penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok normal (diberi pakan biasa); K (-) (mendapat paparan asap rokok tersier); K1 (diberi jus tomat 0,16 mL/hari dan paparan asap rokok tersier); K2 (diberi jus tomat 0,32 mL/hari dan paparan asap rokok tersier); K3 (diberi jus tomat 0,64 mL/hari dan paparan asap rokok tersier), semua perlakuan ini diberikan selama 14 hari. Akhir penelitian, seluruh mencit dibedah lalu diambil testis untuk melihat kualitas sperma. Uji statistik menggunakan uji parametrik *one way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara rerata jumlah sperma antarkelompok ( $p > 0,05$ ), antara motilitas sperma antarkelompok ( $p > 0,05$ ), dan morfologi sperma antarkelompok ( $p < 0,05$ ). Simpulan penelitian ini jus tomat tidak memengaruhi kualitas sperma, namun tomat dapat meningkatkan jumlah sperma ke batas normal. Pemberian jus tomat yang mengandung likopen cukup tinggi dapat meningkatkan antioksidan sehingga dapat menurunkan ROS dan stres oksidatif. Dalam penelitian ini kerusakan pertama terjadi pada morfologi sperma.

**Kata kunci:** Antioksidan, asap rokok tersier, kualitas sperma, radikal bebas, tomat

**The Effect of Tomatoes Juice (*Solanum Lycopersicum L*) on the Quality of the Mice Sperma that is Provided by Tersiered Cigarette Smoke****Abstrack**

Cigarettes cause an imbalance between oxidative stress and antioxidants in endogenous testes. This is due to an increasing of ROS that can reduce antioxidants and caused oxidative stress in the process of spermatogenesis which affect sperm quality, such as the amount of sperm, motility, and morphology of sperm. Reduction of oxidants or consuming natural antioxidants can inhibit it process by lycopene that contained in tomatoes. The aim of this study was to determine the effect of tomato juice on the sperm quality of mice that expose to tertiary cigarette smoke exposure. The study was conducted Laboratory Hewan FK Unisba during March–July 2019. The study was *in vivo* experimental laboratory using completely randomized design of 25 adult male mice that were randomly divided and met the inclusion criteria. This research was divided into five groups, the first group was normal group (given normal feed); the second is K (-) (getting exposure to tertiary cigarette smoke); the sample test groups were expose to tertiary cigarettes smoke exposure and it given tomato juice, K1 (given 0.16 mL/day tomato juice); K2 (0.32 mL/day tomato juice); K3 (given 0.64 mL tomato juice/day) then all these treatments were given for 14 days. At the end of the study, mice were dissected and the testicles were taken to analyze the quality of sperm. This research using *one way ANOVA* test and the result showed there was no significant differences among mean about the amount of sperm between groups ( $p > 0.05$ ), sperm motility between groups ( $p > 0.05$ ), and sperm morphology between groups ( $p < 0.05$ ). The conclusion of this research is that tomato juice did not affect sperm quality, but it can increase the amount of sperm to the normal limit. The smokers will increase ROS and reduce antioxidants so that resulting oxidative stress. Tomato juice that containing high enough of lycopene could increase antioxidants, so it can reduce ROS and stress. In this research the first damage was sperm morphology.

**Keywords:** Antioxidant, free radicals, thirdhand smoker, tomato

Received: 13 February 2020; Revised: 1 July 2020; Accepted: 30 July 2020; Published: 31 July 2020

**Koresponden:** Alfiani Triamullah. Prodi Pendidikan Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Jalan Tamansari no. 22, 40116, Kota Bandung, Provinsi Jawa Barat, Hp: 081321633731, Email: [alfianitrm@gmail.com](mailto:alfianitrm@gmail.com)

## Pendahuluan

*World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa rokok merupakan salah satu ancaman kesehatan masyarakat terbesar yang pernah dihadapi dunia yang mengakibatkan kematian lebih dari 7 juta orang per tahun dan sekitar 890.000 kematian adalah hasil non-perokok yang terpapar asap rokok bekas.<sup>1</sup> Data WHO menunjukkan bahwa Indonesia merupakan negara ketiga dengan jumlah perokok terbesar di dunia setelah Cina dan India.<sup>1</sup> Sedikitnya 25.000 kematian di Indonesia disebabkan oleh paparan asap rokok orang lain.<sup>2</sup>

Rokok menghasilkan lebih dari 4.000 bahan hasil pembakaran dan ratusan di antaranya adalah bahan aditif.<sup>3</sup> Asap tembakau mencemari lingkungan dalam dan luar, serta asap rokok menjadi sumber racun meskipun rokok sudah padam. Asap rokok dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu asap rokok primer (*firsthand smoker*) didefinisikan sebagai asap rokok yang dihirup langsung oleh perokok aktif, perokok sekunder (*secondhand smoker*) merupakan asap yang berasal dari pembakaran rokok yang terhirup oleh individu lain, dan adapula asap rokok tersier (*thirdhand smoker*) merupakan residu tahan lama yang dihasilkan dari perokok aktif yang terakumulasi dalam debu, perabotan, dan pada permukaan di lingkungan dalam ruangan dimana tembakau telah dihisap.<sup>4</sup>

Residu pada orang merokok menyebabkan paparan campuran mematikan lebih dari 7.000 bahan kimia beracun yang dapat merusak hampir setiap sistem organ dalam tubuh manusia, salah satunya dapat merusak sistem reproduksi pria, termasuk infertilitas dan penurunan kualitas sperma. Hal ini disebabkan oleh ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan antioksidan pada endogen testis sehingga dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) pada proses spermatogenesis yang dapat mengurangi jumlah sperma, abnormalitas morfologi sperma, dan kehilangan motilitas sperma.<sup>5</sup>

Langkah untuk menghambat radikal bebas dengan mengurangi paparan atau mengonsumsi antioksidan alami, salah satunya adalah tomat. Tomat memiliki kandungan protein, vitamin C, mineral, flavonoid, serta senyawa karotenoid likopen dan  $\beta$ -karoten yang merupakan antioksidan. Likopen merupakan pigmen warna merah yang memiliki antioksidan paling kuat di antara jenis karotenoid lainnya yang terbukti dapat menurunkan risiko penyakit kronis seperti kanker dan penyakit kardiovaskular.<sup>6</sup> Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian jus tomat terhadap kualitas sperma mencit yang diberi paparan asap rokok tersier.

## Metode

Analisis statistik menggunakan uji normalitas dengan Uji Shapiro Wilks untuk melihat distribusi data dan uji homogenitas. Apabila dari uji normalitas data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisis data menggunakan uji parameterik ANOVA *one way*. Apabila data tidak berdistribusi normal dan tau tidak homogen maka dilakukan Uji Non-

parameterik Kruskal Wallis. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil uji ANOVA *one way* atau Kruskal Wallis maka akan dilakukan uji Post Hoc. Selang kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ).

Prosedur penelitian pertama adalah memilih tomat yang berwarna merah. Sebelum dijus menggunakan *juicer*, tomat yang berdiameter 3,74–5,34 cm<sup>7</sup> direbus dalam air mendidih dengan volume air 500 g buah tomat segar/1L<sup>8</sup> selama satu menit untuk mendapatkan kadar likopen lima kali lebih tinggi dibanding dengan tomat yang tidak direbus.<sup>9</sup> Penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok normal (diberi pakan biasa); K (-) (mendapat paparan asap rokok tersier); K1: (diberi jus tomat 0,16 mL/hari dan paparan asap rokok tersier); K2 (diberi jus tomat 0,32 mL/hari dan paparan asap rokok tersier); K3 (diberi jus tomat 0,64 mL/hari dan paparan asap rokok tersier), semua perlakuan ini diberikan selama 14 hari.<sup>3</sup> Akhir penelitian, seluruh mencit dibedah lalu diambil testis untuk melihat kualitas sperma. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan FK Unisba periode Maret–Juli 2019.

## Hasil

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan rerata jumlah sperma antarkelompok tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p>0,05$ ) tertera pada Tabel 1.

**Tabel 1 Perbandingan Rerata Jumlah Sperma Antarkelompok**

Parameter	Kelompok (Rerata $\pm$ s.b)					Nilai p
	K Normal	K (-)	K1	K2	K3	
Jumlah (Juta/L)	21,760 $\pm$ 4,057	17,220 $\pm$ 6,587	17,520 $\pm$ 3,425	19,300 $\pm$ 3,934	21,500 $\pm$ 3,534	0,141

Keterangan: K normal: tidak diberi jus tomat dan tidak mendapat paparan asap rokok tersier; K (-): mendapat paparan asap rokok tersier dan tidak diberi jus tomat; K1: diberi jus tomat sebanyak 0,16 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier; K2: diberi jus tomat sebanyak 0,32 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier; K3: diberi jus tomat sebanyak 0,64 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier.

\*Menggunakan uji *one way* ANOVA

Hasil analisis perbandingan nilai motilitas sperma antarkelompok, tertera pada Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil analisis perbandingan rerata motilitas sperma baik; bergerak di tempat atau berkelok; dan tidak bergerak  $>0,05$  maka tidak ada perbedaan yang signifikan pada motilitas sperma antarkelompok. Hasil analisis perbandingan rerata morfologi sperma antar kelompok, tertera pada Tabel 3.

Berdasar atas Tabel 3 secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna pada morfologi antarkelompok. Dari hasil *post-hoc* menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan terdapat pada kelompok K1 dan K(-) serta K1 dan K normal, namun antara K2 dan K3 tidak ada perbedaan yang signifikan baik pada morfologi normal maupun morfologi abnormal.

**Tabel 2 Perbandingan Rerata Motilitas Sperma Baik, Bergerak di Tempat atau Berkelok, dan Tidak Bergerak**

Motilitas	Kelompok (Rerata±s.b)					Nilai p*
	K Normal	K (-)	K1	K2	K3	
Baik	36,000 ±12,942	34,000 ±13,874	29,000 ±17,103	29,000 ±17,103	36,000 ±10,940	36,000 ±10,940
Bergerak ditempat atau berkelok	27,000 ± 6,708	33,000 ± 6,708	36,000 ± 7,416	32,000 ± 4,472	36,000 ± 6,519	0,201
Tidak bergerak	37,000± 12,042	33,000 ± 8,367	35,000 ±18,028	31,000 ±7,416	28,000 ±10,368	0,782

Keterangan: K normal: tidak diberi jus tomat dan tidak mendapat paparan asap rokok tersier; K (-): mendapat paparan asap rokok tersier dan tidak diberi jus tomat; K1: diberi jus tomat sebanyak 0,16 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier; K2: diberi jus tomat sebanyak 0,32 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier; K3: diberi jus tomat sebanyak 0,64 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier.

\*Menggunakan uji *one way ANOVA*

**Tabel 3 Perbandingan Rerata Morfologi Sperma Normal dan Abnormal**

Morfologi (%)	Kelompok (Rerata±s.b)					Nilai p
	K Normal	K (-)	K1	K2	K3	
Normal	50,800 ±8,408B	51,400± 12,837B	34,400 ±4,506A	48,600± 6,309AB	44,000± 7,483AB	0,025
Abnormal	49,200 ±8,408A	48,600± 12,837A	65,600 ±4,506B	51,400±6 ,309AB	56,200± 7,362AB	0,024

Keterangan: K normal: tidak diberi jus tomat dan tidak mendapat paparan asap rokok tersier; K (-): mendapat paparan asap rokok tersier dan tidak diberi jus tomat; K1: diberi jus tomat sebanyak 0,16 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier; K2: diberi jus tomat sebanyak 0,32 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier; K3: diberi jus tomat sebanyak 0,64 mL/hari dan mendapat paparan asap rokok tersier. Dengan menggunakan uji analisis statistik dengan Anova dan dilakukan uji post hoc. Dengan selang kepercayaan 95% dan data dalam bentuk ± st.dev. A,B,AB: parameter yang diberi label dengan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik.

\*Menggunakan uji *one way ANOVA*

Hasil uji statistik menggunakan uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa hubungan pemberian jus tomat terhadap kualitas sperma yang diberi paparan asap rokok sangat lemah yang hanya signifikan pada morfologi sperma ( $p=0,025$  dan  $p=0,024$ ; nilai  $p<0,05$ ).

## Pembahasan

Berdasar atas hasil penelitian secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna jumlah sperma antarkelompok. Namun, jumlah sperma kelompok negatif mengalami penurunan dibanding dengan kelompok normal. Hal ini berbeda dengan penelitian Durairajayanayagam dkk.<sup>10</sup> tahun 2017 serta Gupta dan Kumar<sup>11</sup> pada tahun 2002 yang menunjukkan peningkatan yang nyata jumlah sperma setelah diberi likopen. Mulai terjadi penurunan jumlah sperma pada kelompok negatif dapat disebabkan oleh radikal bebas pada asap rokok yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid sehingga terjadi kerusakan sel, termasuk kehilangan *adenosine trifosfat* (ATP) intraseluler dalam pemberian energi untuk pergerakan

spermatozoa, cacat morfologis, fragmentasi DNA, dan reaksi akrosom menurun.<sup>10</sup> Terdapat beberapa faktor lain yang mungkin dapat menurunkan kualitas sperma. ini tidak signifikan, di antaranya produk olahan tomat yang digunakan berbeda,<sup>12</sup> peningkatan suhu yang dapat menyebabkan denaturasi enzim spermatozoa sehingga menurunkan kualitas sperma.<sup>13</sup> Selain itu, kualitas sperma tidak membaik setelah diberikan jus tomat dipengaruhi oleh kapasitas lambung pada mencit, yaitu 1 mL.<sup>14</sup> Dengan demikian volume ekstrak yang dapat diberikan hanya 1 mL. Berdasar atas penelitian tahun 2002 jumlah yang sesuai untuk meningkatkan jumlah sperma adalah 4–8 mL likopen.<sup>15</sup>

Walaupun secara statistik tidak ada perbedaan jumlah sperma yang signifikan, namun mulai ada kecenderungan peningkatan jumlah sperma antara kelompok negatif, kelompok perlakuan pertama, kelompok perlakuan kedua, dan kelompok perlakuan ketiga. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan tomat yang memiliki antioksidan, salah satunya adalah likopen<sup>6</sup> yang dapat meningkatkan kembali sampai jumlah 20 juta.<sup>21</sup> Ada beberapa mekanisme tentang bagaimana likopen bekerja yang dapat dikategorikan ke dalam mekanisme oksidatif dan non-oksidatif. Mekanisme oksidatif bekerja ketika terdapat peningkatan likopen akan menetralkan ROS serta meningkatkan potensial antioksidan. Penetralkan ROS akan menurunkan kerusakan oksidatif di lipid, protein, dan DNA. Dengan demikian, penetralkan radikal bebas dapat mencegah penurunan motilitas, viabilitas, dan mencegah peningkatan apoptosis. Peningkatan potensial antioksidan dan penurunan kerusakan oksidatif pada lipid, protein, dan DNA akan menurunkan oksidatif stres yang nantinya akan mengurangi risiko fertilitas pada pria dan penyakit kronis seperti kanker, hipertensi, kardiovaskular, dan osteoporosis.<sup>16</sup> Sementara, untuk mekanisme non-oksidatif bekerja pada jalur lain, yaitu pada komunikasi antarsel, regulasi siklus sel, dan meningkatkan respons imun sehingga jalur ini akan mengurangi risiko dari penyakit kronis.<sup>10</sup>

Hasil penelitian motilitas sperma menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok normal, kelompok negatif, kelompok perlakuan pertama, kelompok perlakuan kedua, dan kelompok perlakuan ketiga. Berbeda dengan hasil penelitian Gunawan dkk.<sup>12</sup> tahun 2017 serta Gupta dan Kumar<sup>11</sup> tahun 2002 yang menyatakan terdapat pengaruh pemberian tomat terhadap motilitas sperma. Perbedaan faktor ini dapat disebabkan oleh peningkatan suhu,<sup>13</sup> kapasitas lambung mencit,<sup>14</sup> faktor stres sehingga memicu pelepasan hormon steroid glukokortikoid yang dapat menahan kadar testosteron dan produksi sperma<sup>17</sup> dan lama paparan yang diberikan sehingga mekanisme kerja likopen<sup>10</sup> tidak berefek secara signifikan. Sementara, berdasar atas penelitian Durairajayanayagam dkk.<sup>10</sup> dan Mohanty dkk.<sup>19</sup> tahun 2001 lama paparan yang signifikan untuk memberikan likopen pada mencit yang terpapar asap rokok adalah 3–12 bulan. Faktor lain yang dapat memengaruhi motilitas sperma adalah penurunan fosforilasi protein aksonemal yang diakibatkan oleh tingkat stres oksidatif dalam tubuh meningkatkan

dan mengarah pada pembentukan peroksida lipid. Dengan demikian, fluiditas membran sel spermatozoal terganggu<sup>10,18</sup> dan inflamasi yang diakibatkan oleh aktivasi makrofag dan sel PMN sehingga dapat meningkatkan produksi ROS apabila konsentrasi leukosit seminalis sangat tinggi<sup>18</sup> terdapat pula efek lain, yaitu ROS pada spermatozoa yang dapat merusak DNA yang terjadi melalui serangan langsung pada DNA sehingga mendestabilisasi molekul DNA dan menyebabkan anomali.<sup>10</sup>

Hasil morfologi pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 dan K(-) serta K1 dan K normal baik pada morfologi normal maupun morfologi abnormal. Namun, walaupun berbeda secara signifikan, jumlah morfologi normal pada kelompok perlakuan pertama lebih rendah secara signifikan dibanding dengan kelompok normal maupun kelompok negatif. Hal ini berbeda dengan penelitian Durairajanayagam dkk.<sup>10</sup> tahun 2017 yang menyatakan peningkatan setelah diberi suplementasi likopen; Gupta dan Kumar<sup>11</sup> tahun 2002 memberikan 2 mg likopen dua kali sehari selama 3 bulan; Mohanty dkk.<sup>19</sup> memberikan 8 mg likopen sekali sehari dan Vinda<sup>20</sup> tahun 2011 menunjukkan peningkatan yang nyata dalam jumlah, motilitas, serta morfologi sperma. Perbedaan kondisi ini disebabkan oleh faktor stres.<sup>17</sup> Walaupun secara statistik tidak signifikan, tampak ada kecenderungan peningkatan jumlah morfologi sperma normal pada kelompok perlakuan kedua. Hal ini dapat disebabkan oleh tomat yang memiliki senyawa antioksidan yang dapat melawan radikal bebas pada asap rokok, seperti likopen, flavonoid, dan vitamin C.<sup>6</sup> Hal ini disebabkan oleh mekanisme oksidatif bekerja ketika terdapat peningkatan likopen akan menetralkan ROS serta meningkatkan potensial antioksidan.<sup>10</sup>

## Simpulan

Jus tomat tidak memengaruhi kualitas sperma mencit, baik jumlah, motilitas, dan morfologi yang terpapar asap rokok tersier selama empat belas hari.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada pimpinan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Unisba dan Laboratorium Fakultas Kedokteran Unpad.

## Daftar Pustaka

1. WHO. Report on the global tobacco epidemic, 2017: monitoring tobacco use and prevention policies. Geneva: World Health Organization; 2017.
2. Pusat Data dan Informasi. Perilaku merokok masyarakat Indonesia berdasarkan Risdas 2007 dan 2013. Hari Tanpa Tembakau Sedunia. Jakarta: Pusat Data dan Informasi; 2015.
3. Handaru ME, Sri MN, Nk IS. Pemberian jus tomat (*Lycopersicum esculentum*) per oral dapat menurunkan jumlah sel epitel bronkhus utama tikus putih yang dipapar asap rokok sub kronik. FK UB. 2010 Feb;26(1):32–6.
4. Bialous S, Curtin C, Tursan d'Espaignet E. Tobacco and its environmental impact: an overview. Geneva: WHO; 2017.
5. Suciati T, Ismono D, Iwan J. Pengaruh likopen terhadap gambaran tubulus seminiferus dan kualitas sperma mencit (*Mus musculus L*) yang terpapar asap rokok. FK Univ. Sriwijaya Palembang dan Anatomi UNPAD; 2016.
6. Agarwal S, Venketeshwar AR. Tomato lycopene and its role in human health and chronic disease. CMAJ. 2000 September;163(6):739–44.
7. Manoch T. Thai agricultural standard. TAS. 2007 June;124(78D):1–17.
8. Laanen PV. Home canning fruits and tomatoes. Texas Agricultural Extension Service. 1993:1–6.
9. Setiawan D, Felix A. Fakta ilmiah buah sayur. Edisi ke-1: Penebar plus+; 2013.
10. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C, Prashast P. Lycopene and male infertility. Asian J Androl. 2014;16:420–5.
11. Gupta NP, Kumar R. Lycopene therapy in idiopathic male infertility--a preliminary report. Int Urol Nephrol. 2002;34:369–72.
12. Gunawan PP, Grace T, Tendean L. Pengaruh pemberian pasta tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap kualitas spermatozoa tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang terpapar asap rokok. EBM FK Universitas Sam Ratulangi, Manado. 2017 Jun-Des;5(2):1–6.
13. Ermiza. Pengaruh paparan suhu terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*) strain Jepang. Fakultas Sains dan Teknologi Uin Mailiki, Malang. 2012 Jun;1(2):2–10.
14. Titi Bryany S. Pengaruh pemberian ekstrak rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa*) dosis bertingkat terhadap produksi makrofag mencit Balb/C. FK Undip, Semarang. 2006 Agus:4–22.
15. Guyton C, Hall JE. Guyton & Hall textbook of medical physiology. edisi ke-11. USA: Elsevier Inc; 2016.
16. Hasri H. Kandungan likopen buah tomat (*Lycopersicum esculentum L.*) terhadap waktu dan suhu pemanasan. Chemica. 2015;16(2):1–8.
17. Janevic T, Khan LG. Effects of work and life stress on semen quality. New York. Department of Epidemiology. PubMed. Fertil Steril. 2014 Aug;102(2):530–8.
18. Adewoyin M, Ibrahim M, Roszaman R, Lokman M, Aizura N, Azwani A, Dkk. Male infertility: the effect of natural antioxidants and phytochemicals on seminal oxidative stress. Int Islamic University Malaysia (IIUM). 2017 Mar;9:1–26.
19. Mohanty NK, Kumar S, Jha A, Arora R. Management of idiopathic oligoasthenospermia with lycopene. Indian J Urol. 2001;18:57–61.

20. Ratna Vinda S. Pengaruh pemberian infus simplisia Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) secara oral terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur Ddy. FMIPA UI. 2011 Jun:1–60.
21. Cooper TG, Noonan E, Eckardstein SV, Auger J, Baker HWG, Behre HM, dkk. Values For Human semen characteristics. USA: WHO Nov;16(3):1–15.