

**JURNAL METAMORFOSA**  
*Journal of Biological Sciences*  
ISSN: 2302-5697  
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**Morfologi Dan Rasio Spermatozoa X : Y Mencit (*Mus Musculus*) Yang Diberi Ekstrak Buah Juwet (*Syzygium Cumini*) Setelah Terpapar Asap Rokok**

**Morphology and Spermatozoa X : Y Ratio of Mice (*Mus musculus*) Given Juwet Fruit Extract (*Syzygium cumini*) After Exposure to Cigarette Smoke**

**Yoseph Raymond Irawan<sup>1\*</sup>, Ni Nyoman Wirasiti<sup>2</sup>, Ni Made Rai Suarni<sup>3</sup>, Anak Agung Sagung Alit Sukmaningsih<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3,4</sup>Program studi biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, \*Email: [yosephraymond41@gmail.com](mailto:yosephraymond41@gmail.com)

**INTISARI**

Buah Juwet merupakan buah dengan antioksidan tinggi yang dapat meningkatkan kemampuan reproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak buah juwet terhadap morfologi dan rasio spermatozoa X dan Y setelah terpapar asap rokok. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu K-, K+ (pemberian 1 batang rokok komersil/hari), P1 (diberi ekstrak buah juwet 1,8mg/g BB dan satu batang rokok komersil/hari), P2 (diberi ekstrak buah juwet 1,8mg/g BB) dan P3 (pemberian satu batang rokok dengan filter bubuk ekstrak buah juwet/hari) dan setiap perlakuan terdapat 4 kali ulangan. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah spermatozoa dengan morfologi abnormal dan rasio X : Y spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok K+ dan K- sebagai kontrol dengan persentase 78,75%±5,124 dan 34,25%±6,947 memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 dengan persentase secara urut yaitu 49,5%±2,083, 67,00%±2,709 dan 62,00%±2,945. Pada penelitian ini ekstrak buah juwet tidak berpengaruh secara signifikan terhadap rasio spermatozoa X dan Y. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah juwet mampu menurunkan resiko munculnya kelainan morfologi pada spermatozoa setelah terpapar asap rokok. Namun ketiga metode tersebut belum mampu secara efektif mempengaruhi rasio spermatozoa X dan Y setelah terpapar asap rokok.

**Kata kunci:** ekstrak juwet, mencit, radikal bebas, rasio spermatozoa, rokok.

**ABSTRACT**

Juwet fruit is high antioxidants that can increase reproductive ability. This study aims to see the effect of juwet fruit extract on the morphology and ratio of X and Y spermatozoa after exposure to cigarette smoke. This study used a completely randomized design (CRD) with 5 treatments namely K-, K+ (given 1 commercial cigarette/day), P1 (given juwet fruit extract 1.8 mg/g BW and one commercial cigarette/day), P2 ( given juwet fruit extract 1.8 mg/g BW) and P3 (given one cigarette with juwet fruit extract filter/day) and each treatment had 4 replications. The parameters observed in this study were spermatozoa with abnormal morphology and the ratio of X : Y spermatozoa. The results showed that the K+ and K- groups as controls with percentages of 78.75% ± 5.124 and 34.25% ± 6.947 had significant differences with the treatment groups P1, P2 and P3 with percentages sequentially 49.5% ± 2.083, 67.00%±2.709 and 62.00%±2.945. In this study, juwet fruit extract did not significantly affect the ratio of X and Y spermatozoa. It can be concluded that juwet fruit extract is able to reduce the risk of morphological abnormalities in spermatozoa after exposure to cigarette smoke. However, these three

methods have not been able to effectively affect the ratio of X and Y spermatozoa after exposure to cigarette smoke.

**Keyword:** *cigarettes, free radicals, juwet extract, mice, spermatozoa ratio.*

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan jumlah perokok yang sangat tinggi menempati peringkat ketiga setelah China dan India. Jumlah perokok di Indonesia mencapai 34,7% dari total jumlah penduduk atau sekitar 82 juta jiwa (Apriora dkk., 2015). Tingkat perokok yang begitu tinggi ini berkorelasi dengan tingkat pendidikan, jumlah pendapatan dan jenis pekerjaan. Indonesia merupakan sebuah negara berkembang dengan kehidupan masyarakat yang belum sepenuhnya stabil dan masih banyak ditemukan masyarakat dengan tingkat pendidikan rendah, jumlah pendapatan yang rendah dan tingkat pengangguran yang tinggi (Halilintar dan Alam, 2020).

Terlepas dari dampak buruk yang dapat ditimbulkan oleh rokok bagi kesehatan, produksi rokok memiliki manfaat positif dalam bidang ekonomi seperti menjadi salah satu komoditas penghasil devisa negara yang signifikan dan penyerap tenaga kerja terbesar (Jas, 2013). Bahan baku rokok yaitu tembakau memiliki manfaat lain seperti menjadi bahan pembuatan pestisida dan obat anti nyamuk (Fitri dan Migunani, 2014). Meskipun begitu tembakau yang telah diolah menjadi rokok bersifat adiktif dan mampu menghasilkan ribuan macam bahan kimia yang bersifat toksik (Batubara dkk., 2013). Asap rokok diketahui mengandung radikal bebas dalam jumlah yang tinggi. Radikal bebas merupakan molekul yang bersifat tidak stabil, sehingga untuk mencapai titik kestabilan molekulnya, radikal bebas mampu merusak sel dan jaringan lain dengan merebut elektron terluar dari molekul yang sudah stabil. Tubuh manusia juga menghasilkan radikal bebas, namun tubuh mampu mengimbangi jumlah radikal bebas tersebut dengan memproduksi zat yang berperan sebagai anti radikal bebas atau yang dikenal dengan antioksidan. Apabila radikal bebas yang masuk dalam tubuh melalui asap rokok melebihi jumlah antioksidan yang dihasilkan tubuh maka akan terjadi stress oksidatif (Legowo, 2015). Hal

ini yang akan menyebabkan gangguan pada berbagai proses metabolisme dalam tubuh seperti pada sistem reproduksi. Gangguan sistem reproduksi yang muncul pada pria yang merokok antara lain seperti impotensi, infertilitas dan gangguan spermatozoa (Syarif dkk., 2021).

Spermatozoa adalah sel yang sangat terspesialisasi dengan struktur unik yang mengandung elemen yang diperlukan untuk berbagai tahap pembuahan dan perkembangan awal embrio. Spermatozoa memiliki peran utama untuk membuahi oosit dan mengirimkan komponen genetik paternal (ayah) kepada keturunannya (Boguenet *et al.*, 2021). Berdasarkan komponen genetiknya, spermatozoa dibagi menjadi dua yaitu spermatozoa dengan kromosom X dan Y. Spermatozoa merupakan faktor utama dalam proses penentuan jenis kelamin pada janin. Penentuan kromosom yang dibawa oleh spermatozoa terjadi pada proses spermatogenesis yaitu sebuah proses dinamis pembentukan sel-sel spermatogenik mulai dari tahap spermatogonia hingga terbentuknya spermatozoa pembawa kromosom X atau Y (Anwar dkk, 2020). Spermatozoa X dan Y dapat dipisahkan karena memiliki beberapa sifat yang berbeda seperti ukuran spermatozoa X yang relatif lebih besar, kandungan kromatin yang lebih padat dan motilitasnya lebih rendah dari pada spermatozoa Y. Teknik pemisahan spermatozoa X dan Y dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya adalah dengan menggunakan albumin gradien, gradien percoll, modifikasi swim up, *flow cytometric*, sentrifugasi gradien densitas, dan elektroforesis (Seidel Jr, 2012).

Penelitian yang telah dilakukan oleh You dkk (2018) menyatakan bahwa perubahan rasio spermatozoa X dan Y dapat terjadi apabila ada gangguan dari faktor-faktor eksternal. Penelitian ini memberikan wawasan kunci untuk melihat kemungkinan perubahan rasio jenis kelamin primer dalam kondisi paparan asap rokok.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Unitly dkk. (2014) menunjukkan bahwa paparan oleh asap rokok mampu merusak sel-sel spermatogenik pada tahap spermatogenesis.

Dalam mengatasi dan melawan radikal bebas yang masuk kedalam tubuh akibat aktivitas merokok, maka tubuh memerlukan tambahan antioksidan. Antioksidan memiliki peranan penting dalam tubuh untuk mengatasi molekul-molekul radikal bebas berlebih yang berpotensi merusak sel hingga organ-organ dalam tubuh. Antioksidan memiliki beberapa mekanisme untuk mengatasi radikal bebas antara lain yaitu berinteraksi melalui jalur sinyal redok sehingga terjadi aktivasi *nuclear factor E2-related factor* (Nrf-2) dan penghambatan NF-kB yang akan mengaktifkan respon antioksidan seluler dengan meningkatkan aktivitas antioksidan enzim dalam mencegah terjadinya kerusakan oksidatif (Handajani, 2019). Mekanisme lainnya yaitu berinteraksi langsung dengan molekul radikal bebas yang tidak stabil untuk menghasilkan molekul yang lebih stabil (Andarina dan Tantawi, 2017).

Antioksidan yang diperlukan oleh tubuh dapat ditemukan secara alami dari kandungan flora yang ada disekitar kita. Tanaman Juwet (*Syzygium cumini*) merupakan salah satu flora yang telah diteliti memiliki kandungan antioksidan dalam buahnya. Tanaman Juwet memiliki banyak sebutan diberbagai daerah di Indonesia dikarenakan tanaman ini mudah ditemukan di daerah tropis (Rekha *et al.*, 2008). Kandungan antioksidan yang terdapat dalam buah juwet yaitu Antosianin. Antosianin merupakan kelompok dari flavonoid dan turunan polifenol. Kemampuan antioksidan dari antosianin ini berasal dari reaktifitasnya yang tinggi sebagai pendonor hidrogen atau elektron. Penelitian ini dilakukan untuk mengamati seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak buah juwet terhadap spermatozoa yang terpapar radikal bebas dari asap rokok.

## BAHAN DAN METODE

### 1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap pemberian perlakuan dimana tahap pertama dilaksanakan pada tanggal 5-21 Januari 2021. Tahap kedua dilaksanakan pada tanggal 22 Januari sampai 26 Februari 2021. Pengambilan sampel dan pembuatan preparat apusan spermatozoa dilakukan pada tanggal 28 Februari dan pengamatan preparat apusan spermatozoa dilakukan dari tanggal 1-4 Maret 2021. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan dan Laboratorium Bersama Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.

### 2. Preparasi ekstrak buah juwet

Preparasi ekstrak buah juwet pada penelitian ini dilakukan untuk membuat ekstrak kental buah juwet dan filter rokok alami dari bubuk ekstra buah juwet. Buah juwet yang sudah matang (ditandai dengan warna buah ungu segar) dicuci dan dibersihkan. Buah-buah tersebut kemudian ditimbang hingga mencapai 1000 gr. Biji buah kemudian dipisah dari daging buahnya. Daging buah kemudian dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* selama 72 jam. Setelah dikeringkan, selanjutnya daging buah dihaluskan dengan blender selama 10 menit. Hasil daging buah juwet yang telah halus kemudian diayak menggunakan pengayak hingga ukuran 200 mesh. Sampel yang telah kering diekstrak dengan metode maserasi menggunakan aquadest sebagai pelarutnya. Maserasi dilakukan selama 24 jam. Filtrat dari hasil maserasi kemudian dituang kedalam tabung erlenmeyer sementara residunya kembali dimaserasi (Remaserasi) selama 24 jam. Remaserasi dilakukan hingga tiga kali. Filtrat dari tahap maserasi dan remaserasi (berbentuk cairan yang kental) kemudian diakumulasikan dalam tabung Erlenmeyer. Filtrat hasil tersebut kemudian diambil sebagian untuk pembuatan filter rokok ekstrak buah juwet. Filtrat hasil maserasi tersebut dikeringkan dalam *freeze dryer* selama 72 jam. Filtrat yang sudah mengeras kemudian dihaluskan hingga menjadi bubuk. Bubuk tersebut kemudian ditimbang sebanyak 0,4 g dan selanjutnya dimasukan kedalam cetakan (berbentuk tabung berdiameter sama dengan diameter rokok komersil) dan dengan bantuan kompresor, bubuk dalam cetakan

tersebut dipadatkan hingga berbentuk seperti filter rokok. Filter rokok tersebut selanjutnya dimasukan kedalam batang rokok komersil menggantikan filter rokok komersil yang sebelumnya sudah ada.

### 3. Pemberian perlakuan

Pemberian perlakuan pada penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap dengan tahap pertama membagi mencit menjadi 2 kelompok dengan perlakuan sebagai berikut:

**Tabel 1.** Kelompok perlakuan tahap I

Kelompok Perlakuan (Label)	Keterangan	Dosis
Kontrol Negatif (K-)	diberi akuades per oral	0,3 ml per hari
Kontrol Positif (K+, P1, P2, P3)	dipaparkan dengan asap rokok komersil	1 batang rokok per hari

Pemberian perlakuan tahap II membagi mencit menjadi 5 kelompok dengan jenis perlakuan seperti yang diuraikan pada tabel berikut:

**Tabel 2.** Kelompok perlakuan tahap II

Kelompok Perlakuan (Label)	Keterangan	Dosis
Kontrol Negatif (K-)	diberi akuades per oral	1,8mg/g BB per hari
Kontrol Positif (K+)	dipaparkan dengan asap rokok komersil	1 batang rokok per hari
Perlakuan 1 (P1)	diberi ekstrak buah juwet per oral + dipaparkan dengan asap rokok komersil	1,8mg/g BB per hari + 1 batang rokok per hari
Perlakuan 2 (P2)	diberi ekstrak buah juwet per oral	1,8mg/g BB per hari
Perlakuan 3 (P3)	dipaparkan dengan asap rokok yang menggunakan filter dari ekstrak buah juwet	1 batang rokok per hari

Pemaparan asap rokok kepada mencit dilakukan dengan memasukan mencit kedalam *smoking chamber* berupa kotak kaca dengan ukuran 35x18x20 cm, dimana terdapat ventilasi pada sisi kanan dan kiri. Pemaparan asap rokok dilakukan menggunakan *smoking pump* untuk menarik asap dari rokok dan selanjutnya disebarkan ke dalam *smoking chamber*. *Smoking pump* yang digunakan pada penelitian

ini terbuat dari spuit berukuran 60 ml dan pada bagian ujungnya dipasang selang aerator sebagai penghubung dengan rokok. Pemberian ekstrak buah juwet kepada mencit dilakukan dengan metode per oral menggunakan sonde dan spuit berukuran 1 ml (Sukmaningsih dkk, 2019).

### 4. Pembuatan preparat apusan spermatozoa mencit

Pembuatan preparat apusan spermatozoa mencit diawali dengan melakukan pembedahan terhadap mencit. Mencit yang telah dibedah kemudian diambil bagian kauda epididimisnya dan diletakan dalam larutan fisiologis (NaCl) sebanyak 1 ml. Kauda epididimis yang telah diambil kemudian dimasukan kedalam larutan fisiologis NaCl 0,9% dan dicacah. Larutan hasil cacahan tersebut kemudian diambil menggunakan pipet tetes dan diteteskan di atas gelas preparat. Tetesan tersebut kemudian diapus menggunakan gelas preparat lain untuk dibuat preparat apusan spermatozoa. Preparat didiamkan dan keringkan dibawah panas lampu. Apusan yang sudah kering, kemudian diteteskan dengan larutan fiksatif yaitu methanol dan dibiarkan hingga kering. Apusan yang telah difiksasi dilanjutkan untuk diberi pewarnaan. Pewarnaan pertama menggunakan pewarna eosin. Eosin diteteskan hingga menutupi keseluruhan apusan dan didiamkan selama 10 menit. Tanpa dicuci, apusan diteteskan dengan pewarna berikutnya yaitu *Methylene blue* dan didiamkan hingga 10 menit. Tahapan terakhir yaitu pencucian dengan air yang mengalir. Preparat yang telah dicuci kemudian didiamkan hingga kering (Batubara dkk, 2013).

### 5. Pengamatan morfologi spermatozoa mencit

Preparat apusan spermatozoa mencit diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengetahui morfologi dari spermatozoa. Pengamatan dilakukan dengan pemotretan terhadap preparat apusan spermatozoa mencit menggunakan aplikasi pengolah gambar dan bantuan perangkat kamera mikroskop. Pengamatan dilakukan untuk melihat abnormalitas pada 100 spermatozoa yang dipilih secara acak. Abnormalitas yang diamati ialah bentuk kepala, bentuk leher dan bentuk ekor. Berdasarkan hasil pengamatan, akan dihitung

persentase abnormalitas dari 100 spermatozoa tersebut dengan rumus (Batubara dkk, 2013):

$$\frac{n}{100} \times 100 = \text{persentase spermatozoa abnormal}$$

Keterangan:

n: jumlah spermatozoa abnormal

## 6. Perhitungan rasio spermatozoa X : Y

Preparat apusan spermatozoa mencit diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengukur luas kepala spermatozoa. Pemotretan dan pengukuran luas kepala spermatozoa dilakukan menggunakan aplikasi pengolah gambar dan bantuan perangkat kamera mikroskop. Sel spermatozoa yang dipilih adalah sel yang telah diamati morfologinya berjumlah 100 sel spermatozoa. Total hasil pengukuran panjang dan lebar kepala spermatozoa digunakan untuk mengetahui luas kepala spermatozoa (LKS), dihitung menggunakan metode integral Riemann (Bintara, 2009) sebagai berikut:

$$\text{LKS} = (0,8988 \times P \times L) - 1,63$$

Keterangan:

LKS : Luas Kepala Spermatozoa

0,8988 : Faktor koreksi yang dibangkitkan dengan menerapkan metode integral untuk menentukan luas kepala spermatozoa dari setiap satuan ukuran dan metode regresi untuk menentukan hubungan ukuran panjang dan lebar dengan luas kepala spermatozoa

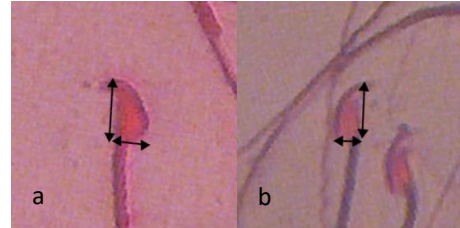
P : Panjang kepala spermatozoa

L : Lebar kepala spermatozoa

1,63 : Nilai konstanta regresi

Berdasarkan hasil perhitungan LKS dari 100 spermatozoa tersebut selanjutnya dicari nilai rata-ratanya. Nilai rata-rata tersebut digunakan untuk mengidentifikasi spermatozoa X dan Y. Ukuran kepala spermatozoa yang lebih besar dari nilai rata-rata data yang ada diidentifikasi sebagai spermatozoa X, sedangkan ukuran kepala yang lebih kecil dari nilai rata-rata keseluruhan data yang ada diidentifikasi sebagai

spermatozoa Y (Takdir dkk, 2016). Berikut gambar pengukuran panjang dan lebar kepala spermatozoa mencit:



**Gambar 6.** Pengukuran panjang dan lebar kepala spermatozoa

Keterangan: a. spermatozoa X; b. spermatozoa Y  
(perbesaran 400x)

## 7. Metode Pengolahan Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS. Pengolahan data persentase spermatozoa abnormal diawali dengan uji normalitas untuk mengetahui bahwa data terdistribusi normal dengan nilai sig >0,05. Data yang terdistribusi normal dianalisa dengan *One Way Anova*, bila terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Pengolahan data untuk rasio spermatozoa X:Y dilakukan menggunakan uji *T-test* untuk membandingkan jumlah spermatozoa X:Y dengan nilai  $p < 0,05$ . Apabila distribusi data tidak normal maka dilakukan uji Kruskal-Wallis (Takdir dkk, 2016).

## HASIL

### 1. Pengamatan morfologi spermatozoa

#### a. Spermatozoa normal

Kelompok spermatozoa yang normal memiliki karakteristik morfologi seperti kepala yang disertai dengan kait, leher pendek, dan ekor yang panjang serta lurus. Kepala harus halus dan berkontur teratur. Bagian leher harus ramping, teratur dan hampir sama panjang dengan kepala sperma. Sumbu utama bagian leher harus sejajar dengan sumbu utama kepala sperma. Pada bagian ekor lebih tipis dari *midpiece*, dan panjangnya sekitar 10 kali

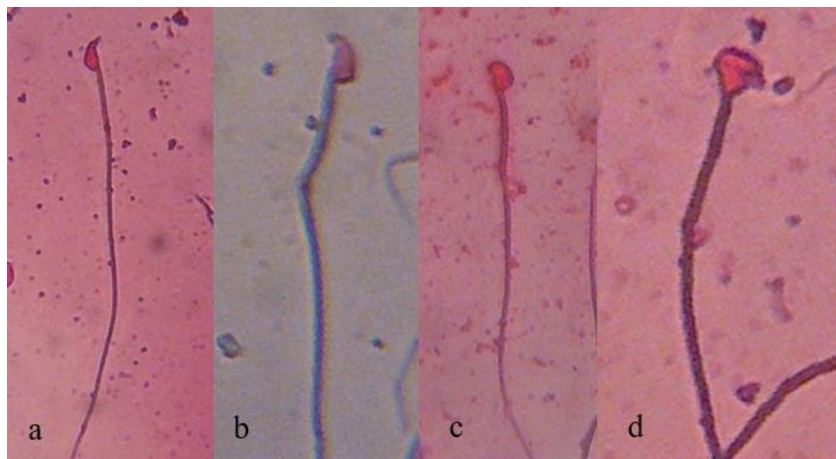
panjang kepala. Spermatozoa normal pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar berikut:



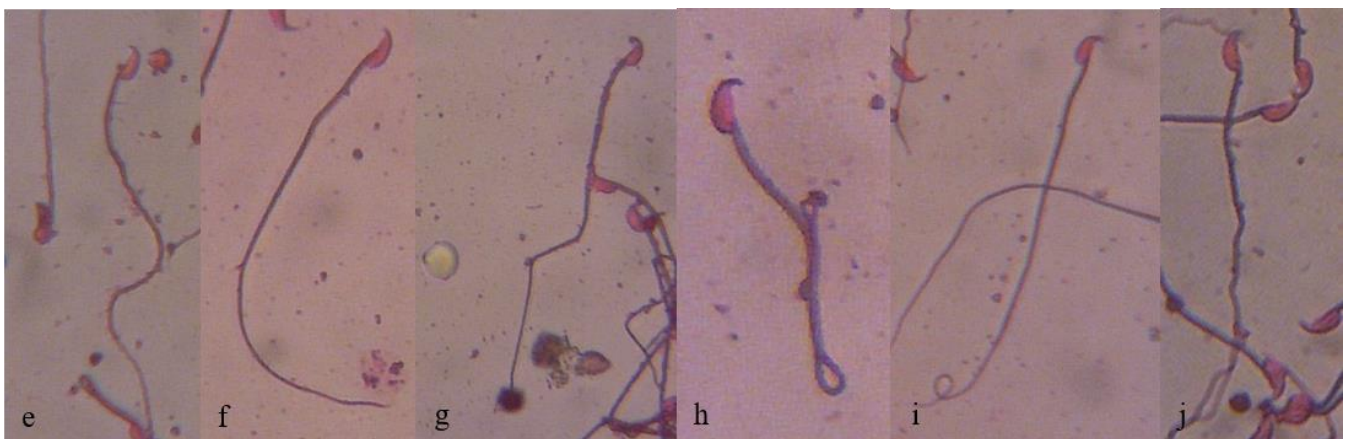
**Gambar 7.** Spermatozoa mencit (*Mus musculus*) normal (perbesaran 400x)

**b. Spermatozoa abnormal**

Hasil dari pengamatan spermatozoa mencit dari semua kelompok perlakuan menunjukkan bahwa ada berbagai bentuk abnormalitas yang ditemukan. Abnormalitas spermatozoa mencit ditemukan pada bagian kepala, leher dan ekor. Bagian kepala spermatozoa mengalami abnormalitas seperti kait di kepala tidak bengkok, *phyriform* (kepala berbentuk seperti buah pir), *round* (bentuk kepala membulat), *amorphous* (berbentuk tidak beraturan), kepala tanpa kait (tidak terbentuknya kait di ujung kepala). Abnormalitas yang ditemukan pada bagian leher yaitu leher yang patah atau bengkok, sementara pada bagian ekor abnormalitas yang teramati antara lain ekor melingkar, ekor patah, ekor zig-zag, dan ekor bercabang. Hasil pengamatan dari spermatozoa abnormal dapat dilihat pada gambar:



**Gambar 8.** Bentuk-bentuk abnormalitas kepala spermatozoa mencit  
Keterangan: a. kait di kepala tidak bengkok; b. *phyriform*; c. *round*; d. *amorphous*;  
(perbesaran 400x)



**Gambar 9.** Bentuk-bentuk abnormalitas kepala spermatozoa mencit

Keterangan: e. ekor berliku-liku; f. ekor bengkok; g. ekor patah; h. ekor berlipat; i, ekor melingkar; j. ekor zig-zag; (perbesaran 400x)



**Gambar 10.** Bentuk-bentuk abnormalitas leher spermatozoa mencit

Keterangan: k. leher terlipat; l. leher patah (perbesaran 400x)

**2. Pengamatan morfologi spermatozoa**

Selanjutnya Hasil uji statistik rata-rata jumlah spermatozoa abnormal pada tabel 3 dengan taraf kepercayaan 95%, menunjukkan data dengan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang lain. Data hasil analisa statistik menunjukkan rata-rata persentase spermatozoa abnormal mencit pada penelitian ini adalah : K+= 78,75±5,124, K-= 34,25±6,947, P1= 49,5±2,083, P2= 67,00±2,709 dan P3 =62,00±2,945 (Tabel 3). Data yang berdistribusi normal dan homogen dianalisa dengan *One Way Anova*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara K+ dengan K-, P1, P2 dan P3. Perbedaan yang nyata juga terdapat antara K- dengan P1, P2 dan P3 dan antara P1 dengan P2 dan P3 tetapi antara P2 dan P3 tidak terdapat perbedaan yang nyata. Hasil analisis statistik rata-rata persentase spermatozoa abnormal mencit pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3:

**Tabel 3.** Rata-rata persentase spermatozoa mencit abnormal

Kelompok perlakuan	Rata-rata (%)±SD
K +	78,75±5,124 <sup>a</sup>

K -	34,25±6,947 <sup>b</sup>
P1	49,5±2,083 <sup>c</sup>
P2	67,00±2,709 <sup>d</sup>
P3	62,00±2,945 <sup>d</sup>

Keterangan:

1. Huruf *superscript* yang berbeda di belakang angka menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $p < 0,05$ )
2. Angka di belakang tanda (±) menunjukkan standar deviasi

**2. Rasio spermatozoa X dan spermatozoa Y mencit**

Melalui pengamatan morfologi dan pengukuran luas kepala spermatozoa ditentukan spermatozoa yang membawa kromosom X dan Y. Data tersebut kemudian dilanjutkan ke tahap pengolahan data menggunakan uji T test dengan nilai signifikansi  $>0,05$  untuk melihat perbandingan antara spermatozoa X dan Y pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji *T-test* menunjukkan bahwa perbandingan jumlah spermatozoa X dan Y pada penelitian ini adalah: K- (50,75±17,176 : 49,25±17,176), K+(41,50±3,948 : 58,50±3,948), P1(45,75±2,630 : 54,25±2,630), P2(47,5±1,915 : 52,5±1,915) dan P3 (50±4,690 : 50±1,915) disajikan pada Tabel 4:

**Tabel 4.** Hasil uji *T-test* rasio spermatozoa X dan Y

Sperma tozoa	Kelompok perlakuan				
	K- (%)	K+ (%)	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)
X	50,75± 17,176 <sup>a</sup>	41,50± 3,948 <sup>b</sup>	45,75± 2,630 <sup>c</sup>	47,5± 1,915 <sup>e</sup>	50±4 ,690 <sup>f</sup>
Y	49,25± 17,176 <sup>a</sup>	58,50± 3,948 <sup>b</sup>	54,25± 2,630 <sup>d</sup>	52,5± 1,915 <sup>e</sup>	50±1 ,915 <sup>f</sup>
Sig (p)	0,729	0,395	0,048	0,080	1,00

## PEMBAHASAN

### 1. Morfologi spermatozoa

Hasil pengamatan morfologi spermatozoa pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada masing-masing kelompok perlakuan ditemukan spermatozoa dengan morfologi yang abnormal. Perhitungan jumlah spermatozoa yang abnormal juga dilakukan untuk melihat perbandingan efektifitas perlakuan yang diberikan antar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Dilihat pada kelompok K-bahwa tanpa paparan langsung oleh asap rokok menyebabkan kualitas spermatozoanya lebih baik dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Dapat dikatakan bahwa kelompok K- merupakan kelompok dengan kondisi spermatozoa yang optimal sehingga digunakan sebagai pembanding dengan kelompok perlakuan lainnya.

Mencit dari kelompok kontrol (+) menerima paparan asap rokok yang paling lama menunjukkan rata-rata persentase spermatozoa abnormal yang paling tinggi. Asap rokok yang terhirup terbentuk melalui beberapa proses seperti hidrogenase, pirolisis, oksidasi, dekarboksilasi, dan dehidrasi. Paparan terhadap asap rokok memungkinkan zat karsinogen dan radikal bebas tersebut masuk dan bereaksi ke dalam tubuh. Setelah masuk ke sistem organ tubuh, senyawa-senyawa tersebut akan terdekomposisi menjadi radikal bebas (Valko dkk., 2007). Zat-zat karsinogen lainnya yang juga masuk ke dalam sistem organ tubuh seperti nikotin akan menstimulasi kelenjar medula adrenal untuk melepaskan katekolamin. Katekolamin tersebut akan mempengaruhi sistem saraf pusat yang menyebabkan terhambatnya fungsi GnRH (*Gonadotropin*

*Releasing Hormone*) sehingga dapat mencegah sekresi FSH dan LH. LH merupakan hormon yang berfungsi menstimulasi sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron sementara FSH berfungsi untuk memacu sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) (Park dan Pang, 2021). Karena adanya gangguan sekresi LH dan FSH maka proses spermatogenesis dan spermiogenesis (pematangan sel spermatozoa) akan terganggu sehingga mampu menghasilkan morfologi sperma yang abnormal. Karbon monoksida (CO) yang ikut masuk ke dalam tubuh dan beredar di aliran darah menyebabkan terbentuknya HbCO (*Carboxyhemoglobin*) karena CO mampu berikatan dan menggeser oksigen yang terikat dengan Hb (Hemoglobin). Hal ini disebabkan karena CO memiliki afinitas terhadap Hb lebih kuat daripada afinitas O<sup>2</sup> terhadap Hb. CO dalam darah kemudian dipecah oleh enzim hemeoxygenase (HO) sehingga menjadikan darah lingkungan yang pro-oksidan dan menjadi awal pembentukan Reactive Oxygen Species atau ROS S (Fujii dkk, 2021). Bentuk-bentuk ROS dari hasil asap rokok yang masuk ke dalam sistem organ tubuh adalah O<sub>2</sub>- (superoksida), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrogen peroksida) dan OH- (radikal hidroksil) (Agarwal dkk., 2014). Jumlah radikal bebas atau oksidan yang melebihi kemampuan penyembuhan antioksidan dalam sel akan menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif yang dialami sel akan menyebabkan kerusakan sel sebagai hasil dari dekomposisi molekul-molekul penting seperti DNA, protein, dan lipid (Sutanto dkk., 2017). Stress oksidatif tersebut akan memicu terjadinya peroksidasi lipid yang berlebihan pada membran plasma. Membran plasma sperma rentan terhadap ROS dikarenakan sebagian besar membrane plasma sperma terdiri dari PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*). Peroksidasi lipid yang terjadi akan mengakibatkan kebocoran pada struktur membran (seluler maupun organel) dan akan mengakibatkan gangguan fungsi-fungsi sel yang menyebabkan ATP intraseluler menghilang dengan cepat, kerusakan pada akson, kerusakan DNA dan apoptosis sel spermatozoa yang akhirnya menimbulkan abnormalitas pada morfologi dan menurunkan tingkat motilitas spermatozoa (Sutanto dkk., 2017). Peroksidasi



lipid juga dapat merusak lipoprotein dan mengarah pada pembentukan malondialdehyde (MDA) yang sitotoksik dan mutagenik. ROS yang berinteraksi dengan basa pada DNA dapat merubah struktur kimia DNA sehingga dapat menimbulkan mutasi yang dapat diturunkan karena terjadi pada sel germinal (Simhadri dkk., 2014).

Hasil yang diperoleh dari pengamatan abnormalitas spermatozoa mencit menunjukkan bahwa secara umum terlihat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan P2 yang diberikan ekstrak buah juwet 1,8mg/g BB dengan kelompok perlakuan P3 yang diberikan paparan asap rokok dari rokok dengan filter yang terbuat dari bubuk ekstrak buah juwet menunjukkan kemampuan menghambat kerusakan oleh ROS yang hampir sama. Tubuh memiliki mekanisme pertahanan endogen terhadap aktivitas radikal bebas yang berlebih dengan memproduksi antioksidan enzimatik endogen, diantaranya yaitu superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPX). Enzim-enzim tersebut memiliki struktur serta fungsi pertahanan terhadap ROS yang berbeda-beda. SOD berfungsi dalam mengkatalisis pemecahan superoksida menjadi oksigen ( $O_2$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) mengkatalisis reaksi dismutasi. SOD muncul hampir disemua sel aerobik dan cairan ekstraseluler, serta mengandung ion-ion logam seperti, Zn, Mn, Cu, atau Fe (Mironczuk-chodakowska dkk., 2018). Enzim katalase bekerja dengan bereaksi dengan hidrogen peroksida. Katalase mampu menguraikan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dalam reaksi yang dikatalisis. Satu molekul katalase dapat mengubah jutaan molekul hidrogen peroksida menjadi air ( $H_2O$ ) dan oksigen ( $O_2$ ) per detiknya (Kaushal dkk., 2018).

Ekstrak buah juwet dalam penelitian yang dilakukan oleh Sukmaningsih dkk (2020) menunjukkan kemampuan meredam radikal bebas dengan menurunkan kadar MDA dan menunjukkan potensi penurunan terjadinya apoptosis sel spermatogenik pada testis tikus (*Rattus sp*). Ekstrak dari buah juwet berpotensi untuk mengikat berbagai macam radikal bebas seperti superoksida, hidroksil, lipid-peroksida

dan oksida nitrat, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate), dan  $LOO^*$  (radikal peroksida lipid) karena kandungan antosianin, asam fenolik dan flavonoid yang tinggi (Margaret dkk, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Rohadi dkk (2016) dan Baitunnisyah dkk (2021) mendukung pernyataan bahwa ekstrak buah juwet memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi dengan melakukan uji DPPH. Uji DPPH yang dilakukan pada kedua penelitian tersebut menunjukkan keefektifan antioksidan yang terdapat pada ekstrak buah juwet dalam mengikat radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Singh dkk (2016) aktivitas antioksidan yang paling tinggi dalam mengikat radikal bebas dari ekstrak buah juwet antara lain asam galat, asam kafeat, asam sinapic, quercetin dan delphinidin klorida. Penerapan ekstrak buah juwet sebagai filter rokok alami juga menunjukkan potensi untuk mengurangi dampak dari radikal bebas yang berlebih akibat paparan asap rokok. Dapat terlihat bahwa filter rokok alami dari ekstrak buah juwet tersebut tidak seefektif pemberian ekstrak buah juwet per oral. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Sukmaningsih dkk (2021) menunjukkan bahwa kandungan antioksidan pada ekstrak buah juwet baik dalam bentuk larutan yang diberikan per oral ataupun yang dibuat menjadi filter rokok alami dapat bereaksi dan menetralkan radikal bebas sehingga mampu menurunkan jumlah leukosit total dan jumlah sel patologis organ paru-paru.

## 2. Rasio spermatozoa X dan spermatozoa Y

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah juwet secara umum tidak mempengaruhi rasio spermatozoa X dan Y kecuali pada kelompok P1. Kelompok kontrol (-) tidak mendapatkan perlakuan apapun dimana rasio spermatozoa X dan Y tidak berbeda nyata atau bisa dikatakan merupakan rasio jenis kelamin primer yang optimal pada penelitian ini. Spermatozoa dari kontrol (+) yang diberi perlakuan berupa paparan asap rokok selama proses penelitian, menunjukkan bahwa spermatozoa pembawa kromosom X dan Y memiliki tingkat respon yang sama terhadap stress oksidatif yang disebabkan oleh paparan radikal bebas yang berlebih. Rasio spermatozoa

X dan Y pada kelompok P2 dan P3 juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Alminana dkk. (2014) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rasio spermatozoa X dan Y dalam upaya menghasilkan spesies oksigen reaktif intraseluler (ROS) oleh mitokondria DNA nya. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa konten DNA antara spermatozoa X dan Y tidak memiliki perbedaan dalam merespon stress oksidatif.

Song dkk (2018) menyatakan bahwa spermatozoa Y cenderung lebih mudah mengalami penurunan kualitas setelah terpapar dengan berbagai macam bahan kimia yang dapat mengganggu aktifitas endokrin dibandingkan dengan spermatozoa X. Selain itu penelitian lain yang dilakukan oleh You dkk (2017) juga menyatakan bahwa spermatozoa Y lebih rentan terhadap stres daripada spermatozoa X tergantung pada periode kultur dan suhu, serta ekspresi apoptosis protein yang lebih tinggi. Berbeda dengan hasil penelitian ini bahwa pada P1 spermatozoa Y memiliki persentase jumlah yang lebih tinggi dari spermatozoa X. Hal ini diduga disebabkan oleh pengaruh perubahan pH ketika proses pengambilan kauda epididimis mencit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Oyeyipo dkk (2017) dilaporkan bahwa spermatozoa Y secara signifikan lebih banyak pada pH 8,5, di mana spermatozoa yang mengandung kromosom X lebih sedikit. Meskipun rasio antara spermatozoa X dan Y pada kelompok P1 menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik, namun perbedaan persentasenya masih relatif kecil untuk dapat memberikan pengaruh terhadap fungsi biologisnya. Pengamatan dan perhitungan terhadap rasio spermatozoa pembawa kromosom X dan Y dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak buah juwet dalam mengatasi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas terhadap masing-masing kelompok spermatozoa. Perhitungan rasio spermatozoa X dan Y ini didasari oleh fakta bahwa ada perbedaan ukuran antara spermatozoa X dan Y. Spermatogenesis menghasilkan 2 jenis spermatozoa berdasarkan kromosom yang terkandung yaitu spermatozoa yang membawa kromosom X dan yang membawa kromosom Y

(Hafez dan Hafez, 2000). Spermatogenesis adalah proses kompleks yang menghasilkan spermatozoa yang berdiferensiasi penuh dan terjadi di tubulus seminiferus. Proses ini dapat dibagi menjadi tiga langkah utama yaitu pembelahan mitosis yang luas untuk memperkuat sel spermatogonium, meiosis untuk mengurangi jumlah kromosom untuk menghasilkan spermatid haploid dan spermiogenesis untuk transformasi morfologi spermatid bulat menjadi spermatozoa. Pada pembelahan sel meiosis pertama, spermatosit primer akan menghasilkan dua spermatosit sekunder, yang kemudian memasuki pembelahan meiosis kedua dan membelah menjadi empat spermatid bulat yang mengandung kromosom X atau Y. Spermatid bulat haploid kemudian berdiferensiasi menjadi spermatid memanjang dan akhirnya menjadi spermatozoa melalui proses spermiogenesis. Selama seluruh proses ini, sel-sel spermatogenik bermigrasi dari membran dasar menuju pusat tubulus seminiferus dan dilepaskan ke dalam lumen (Park dan Pang, 2021). Pada dasarnya spermatogenesis di testis pada semua spesies mamalia menghasilkan jumlah spermatozoa pembawa kromosom X dan Y yang setara. Kedua jenis spermatozoa tersebut memiliki potensi yang sama untuk membuahi oosit dan hal ini disebut rasio jenis kelamin primer (Kumar dkk, 2013).

## KESIMPULAN

Berdasarkan Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah juwet mampu menurunkan jumlah kelainan morfologi spermatozoa mencit yang terpapar asap rokok namun ekstrak buah juwet pada penelitian ini tidak mempengaruhi rasio spermatozoa X dan Y mencit secara nyata. Berdasarkan hasil yang telah didapat dalam penelitian ini, ketiga metode penerapan/pemberian ekstrak buah juwet terbukti mampu menurunkan resiko munculnya kelainan morfologi pada spermatozoa setelah terpapar asap rokok.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Dra. Ni Nyoman Wirasiti. M.Repro, Ibu Dr. Dra.

Ni Made Rai Suarni, Ibu Dr. Dra. Anak Agung Sagung Alit Sukmaningsih K., M.Repro.,Bapak Prof. Dr. Drs. I Ketut Junitha, M.S., dan Ibu Dr. Ni Wayan Sudatri. S.Si.,M.Si yang telah memberikan dukungan serta saran selama penulisan artikel ilmiah ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Apriora, V.D., Arni A dan Oea K. 2015. Gambaran Morfologi Spermatozoa pada Perokok Sedang di Lingkungan PE Group yang Datang ke Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 4(2): 425-429.
- Andarina, R dan Tantawi D. 2017. Antioksidan dalam Dermatologi. *JKK*. 4(1): 39-48.
- Anwar, M.M., I Gede S.M.D dan Fawwaz A.A. 2020. Rancangan Antarmuka Pengujian Penentu Pembawa Kromosom X dan Y pada Sperma Manusia. *Jurnal informatika dan Sistem Informasi*. 1(2): 578-583.
- Baitunnisyah, Afrah., Windah A.S., Dyke G.W., Wahida H dan Yohanes J. 2021. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Granul Effervescent Sari Buah Duwet (*Syzygium cumini* L.) Dengan Metode DPPH. *Acta Pharm Indo*. 9(1) : 1-10.
- Batubara, I.V.D., Benny W dan Lydia T. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *Jurnal e-Biomedik*. 1(1): 330-337.
- Bintara, S. 2009. Peningkatan kinerja reproduksi induk kambing Bligon melalui seleksi pejantan, identifikasi dan separasi spermatozoa serta suplementasi energi protein. Disertasi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Boguenet, M., Pierre-Emmanuel B., Andrew S., Pascal R and Pascale M. 2021. Mitochondria: their role in spermatozoa and in male infertility. *Human Reproduction Update*. 27(4): 697-719.
- Fitri, Mellisa dan Sumringah M. 2014. Pembuatan Pestisida Menggunakan Tembakau. *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*. 3(2): 68-71.
- Fujii, J., Takujiro H., Sho K., Prashant W., Manisha M dan Malay B.M. 2021. Erythrocytes as a preferential target of oxidative stress in blood. *Free Radical Research*. 55(5): 562-580.
- Halilintar, V.D dan Amal C.S. 2020. Perilaku Swamedikasi pada Perokok di Indonesia. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*. 16(3): 317-326.
- Hafez, E.S.E. dan B. Hafez. 2000. *Reproduction in farm animals 7th Ed*. Lippicott Williams and Wilkins. Baltimore.
- Handajani, Fitri. 2019. Oksidan dan Antioksidan Pada Beberapa Penyakit dan Proses Penuaan. Zifatama Jawa. Sidoarjo.
- Jas, Admar. 2013. Tembakau dan Alkohol, Manfaat dan Mudaratnya. *Majalah Kedokteran Nusantara*. 46(3): 158-162.
- Kaushal, J., Seema G.S., Arun R dan Shailendra K.A. 2018. Catalase Enzyme: Application in Bioremediation and Food Industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 35.
- Kumar, Vinay., Abdul K.A dan Jon C.A. 2013. *Robbin's Basic Pathology Ninth Edition*. Elsevier Saunders. Philadelphia.
- Legowo, G. 2015. Manfaat Madu sebagai Antioksidan dalam Melawan Radikal Bebas dari Asap Rokok untuk Menjaga Kualitas Sperma. *Majority*. 4(8): 43-46.
- Margaret, Elizabeth., A. M. Shailaja dan V. Venugopal Rao. Evaluation of Antioxidant Activity in Different Parts of *Syzygium cumini* (Linn.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences I*. 4(9): 372-379.
- Mironczuk-chodakowska, Iwona., Anna M.W dan Malgorzata E.Z. 2018. Endogenous non-Enzymatic in the Human Body. *Advances in Medical Sciences*. 63: 68-78.
- Oyeyipo, Ibukun P., Michelle van der Linde and Stefan S. du Plessis. 2017. Environmental Exposure of Sperm Sex-Chromosomes: A Gender Selection Technique. *Toxicol. Res*. 33(4): 315-323.
- Park, Yoo-Jin dan Pang Myung-Geol. 2021. Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From Spermatogenesis to Fertilization. *Antioxidants*. 10: 98.
- Rekha, N., Balaji R and Decaraman M. 2008. Effect of Aqueous Extract of *Syzygium cumini* Pulp on Antioxidant Defense System in Streptozotocin Induced Diabetic

- Rats. Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics.. 7(2): 137–145.
- Rohadi., Sri Raharjo., Iip Izul F dan Umar S. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Duwet (*Syzygium cumini* Linn.) Pada Peroksidasi Lipida Secara In Vitro. Agritech. 36(1) : 30-37.
- Seidel Jr, Goerge E. 2012. Sexing Mammalian Sperm – Where Do We Go from Here?. Journal of Reproduction and Development. 58(5): 505-509.
- Simhadri, S., Peterson S., Patel D.S., Huo Y., Cai H., Bowman-Colin C., Shoreh M., Thomas L., Shridar G., Mantu B., Samuel F.B., Maria J dan Bing X. 2014. Male Fertility Defect Associated with Disrupted BRCA1-PALB2 Interaction in Mice. Journal of Biological Chemistry. 289(35): 24617–24629.
- Singh, Jatinder P., Amritpal K., Narpinder S., Lovedeep N., Khetan S., Harpreet K dan Daljit S.A. In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Properties of Jambolan (*Syzygium cumini*) Fruit Polyphenols. Food Science and Technology. 65: 1025-1030
- Song, Won-hee., Elsayed A.M., Pang Won-Ki., Kang Kyu-Ho., Ryu Do-Yeal., Md Saidur Rahman dan Pang Myung-Geol. 2018. Effect of endocrine disruptors on the ratio of X and Y chromosome-bearing live spermatozoa. *Reprod Toxicol.* 82: 10-17.
- Sukmaningsih, Anak A.S.A., Sofy P., D.J.D.H Santjojo., Arinto Y.P.W dan Sutiman B.S. 2019. The potency of java plum (*Syzygium cumini*) fruit extract as free radical scavenging in cigarette smoke. AIP Conference Proceedings. 2155: 020015-1 – 020015-6.
- Sukmaningsih, Anak A.S.A., N.M.R Suarni., I Wiratmini., C.N Primiani dan N.W Sudatri. 2021. The effect of Java Plum Fruit (*Syzygium cumini*) extract on leucocyte and lung histopathology of mouse exposed cigarette smoke. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 913: 012107.
- Sukmaningsih, Anak A.S.A., N.M.R Suarni., I Wiratmini.,I Setyawati., N.W Sudatri dan T.W Pangestiningih. 2020. Effect of Duwet fruit (*Syzygium cumini*) extract on MDA level and Caspase 3 expression in Rat (*Rattus sp*) Testes exposed to cigarette smoke. Journal of Physics: Conference Series. 1751: 012057.
- Sutanto, E.B., Nasihun T.R., Isradji I dan Sutanto L.B. 2017. The Effect Of Vitamin C and E Combination On Sperm Quality and Cement 8-Ohdg Level of Smoke Exposed Rats. World Nutri Journal. 1(1):28-33.
- Syarif, H., Nova F dan Mira R. 2021. Perilaku merokok Mahasiswa Laki-laki Pada Institusi Pendidikan Ners di Provinsi Aceh. Idea Nursing Journal. 7(1): 15-19.
- Takdir, M., Ismaya., Sigit B dan M. Syarif. 2016. Proporsi X dan Y, Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Domba Sesudah Pemisahan dengan Albumin Putih Telur. Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pertanian. 1333-1340.
- Unitly, A.J.A., Nastiti K., Srihadi A., Aryani S.S dan Arief B. 2014. Perubahan Kualitas Spermatozoa dan Jumlah Sel-Sel Spermatogenik Tikus yang Terpapar Asap Rokok. Jurnal Kedokteran Hewan. 8(2): 116-119.
- Valko, M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M dan Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 39(1): 44–84.
- You, Young-ah., Elsayed A.M., Md Saidur Rahman., Woo-Song K., Won-hee S., Buom-Yong R dan Myung-Geol P. 2018. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin can alter the sex ratio of embryos with decreased viability of Y spermatozoa in mice. Reproductive Toxicology. 77: 130-136
- You, Young-ah., Woo-Song K., Md Saidur Rahman., Park Yoo-jin., Kim Young-Ju., dan Pang Myung-Geol. 2017. Sex chromosome-dependent differential viability of human spermatozoa during prolonged incubation. Human Reproduction. 32(6): 1183-1191.