

PENGARUH ROKOK TERHADAP JUMLAH SEL SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus Musculus*, Strain Jepang)

Yuhendri Putra

*STIKes Ceria Buana. Jl. Tuangku Nan Renceh Padang Baru
Kecamatan Lubuk Basung Kabupaten Agam
Email: yuhendriputra@gmail.com*

ABSTRACT

The purpose of this research is to know more about the influence of cigarette's smoke to the quantity, mouse's spermatozoa during one cycle of spermatogenesis. This research used the method of Post Test Only Control Group Design. The sample is about 24 male mice which criteria 2-3 month old, male, 25-35 gr weight. The result of the research to quantity of spermatozoa by Anova test showed the significant connection ($\alpha > 0.05$) between control group with behavior, average the spermatozoa motility decrease if compare with control. Preferable if we want to know more about the influence of cigarette to the quality of sperm, we will need a test to the other quality such pH, velocity, viscosity and DNA of spermatozoa.

Key words : quality of spermatozoa, cigarettes, male mouse

PENDAHULUAN

Menurut organisasi kesehatan dunia *World Health Organisation* (WHO), menjelang tahun 2020 diperkirakan 10 juta orang perokok di dunia akan meninggal setiap tahunnya. Dari perkiraan itu, lebih dari 200 juta anak-anak dan remaja yang hidup saat ini akan meninggal akibat tembakau dan bahan kimia lainnya yang terkandung oleh rokok dan 500 juta yang lain disebabkan serangan penyakit yang berkaitan dengan asap rokok (Azizan, 2008).

Bahaya yang ditimbulkan akibat rokok dapat menyerang siapa saja, apakah perokok aktif maupun perokok pasif. Perokok aktif adalah orang yang mengkonsumsi batang rokok secara langsung. Sedangkan perokok pasif adalah orang-orang yang tidak mengkonsumsi rokok, namun menjadi korban perokok karena turut menghirup asap yang dihasilkan oleh perokok aktif. Tidak sedikit yang paham bahwa rokok memberikan kontribusi terhadap turunnya kualitas hidup bagi perokok itu sendiri. Dalam taraf yang ringannya rokok berdampak negatif pada sistem pernafasan dan secara spesifik dampak lanjutnya adalah munculnya penyakit paru, jantung, hipotensi, kanker, lever, impoten, gangguan kehamilan termasuk diantaranya penyakit-

penyakit yang secara langsung berakibat dengan kebiasaan menghisap rokok, serta penyakit lainnya yang bisa mengancam jiwa si perokok. (Jamal, 2006).

Pada penelitian-penelitian sebelumnya yang dilakukan pada hewan percobaan diketahui bahwa rokok mempengaruhi spermatogenesis di tubulus seminiferus dan mempengaruhi kadar hormon testosteron (Anita, 2004). Bahan karsinogen dari asap rokok seperti tar mempengaruhi dan dapat merusak DNA (*Deoxyribo Nucleat Acid*) spermatozoa serta menurunkan kadar testosteron dan meningkatkan apoptosis khususnya pada tahap spermatogonia (Reval dkk, 2001)

Penelitian yang dilakukan Rajpurkar dkk. (2000) yang diperlakukan pada hewan percobaan, diketahui bahwa pemaparan asap rokok selama 45 hari telah menyebabkan diameter tubulus seminiferus menjadi menurun, sehingga jumlah spermatozoa yang dihasilkan akan lebih sedikit dari yang tidak mengalami penurunan.

Terganggunya spermatogenesis di tubulus seminiferus mengakibatkan akan menurunkan kualitas sperma, sehingga akan menyebabkan infertil. Kualitas sperma merupakan kondisi atau keadaan yang dimiliki oleh spermatozoa.

Sperma yang berkualitas adalah sperma yang memiliki kondisi normal serta mampu untuk membuahi sel telur atau ovum. Berkualitas atau tidaknya sperma dapat ditentukan dari beberapa aspek diantaranya adalah jumlah, morfologi dan motilitas (Nasution, 1999).

Asap rokok sangat banyak mengandung campuran racun yang kompleks, beberapa dari racun tersebut adalah radikal bebas. Asap rokok dapat diuraikan menjadi gas dan partikulat, tiap bentuk tersebut mempunyai zat kimia yang berbeda. Secara keseluruhan bentuk gas mengalami oksidasi sedangkan bentuk partikulat mengalami reduksi. Beberapa unsur pokok pada asap rokok dalam bentuk gas diantaranya adalah amonia (NH_3), karbonmonoksida (CO), carbon dioksida (CO_2), nitrogen oksida (NO), nitrogen dioksida (NO_2), hidrogen sianida (HCN). Sedangkan dalam bentuk partikulat diantaranya adalah tar, nikotin, metal (seperti kadmium, timah (lead), nikel, besi, kromium, arsenic) (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Dengan kandungan zat kimia tersebut, maka dapat dipastikan efek rokok sangat merugikan bagi kesehatan. Hal ini bukan saja bagi perokok tapi juga berakibat bagi orang-orang yang tidak merokok tapi terkena asap (perokok pasif) (Sukendro, 2007)

Nikotin yang terkandung dalam rokok merupakan racun syaraf (*potent nerve poison*) yang biasa digunakan untuk racun serangga. Pada suhu rendah, bahan ini bertindak sebagai perangsang dan itu merupakan penyebab salah satu mengapa merokok digemari dan dijadikan tabiat. Nikotin dalam asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat, sehingga mekanisme umpan balik antara hipotalamus, hipofise anterior dan testis menjadi terganggu. Akibatnya sintesis hormon testosteron terganggu dan spermatogenesis juga terganggu (Anita, 2004).

Karbon monoksida merupakan gas beracun yang dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan darah membawa oksigen serta bahan-bahan lainnya yang terkandung dalam rokok yang berbahaya dan merugikan bagi tubuh, sehingga berakibat pada kematian sel karena kekurangan oksigen (Sukendro, 2007).

Tar dalam asap rokok memiliki sedikitnya 4 jenis radikal bebas yang berbeda. Salah satu tipe radikal yang menonjol adalah semi-

quinon yang melekat pada salah satu matrik polimer dan mengalami oksidasi reduksi penukaran dengan kuinon dan hidrokuinon. Tar menghasilkan O_2° (diperkirakan karena reaksi dari semikuinon terhadap O_2) dan H_2O_2 , dan juga terlihat merusak DNA waktu diisolasi. Bentuk gas dari radikal bebas asap rokok lebih sedikit bertahan daripada tar, asap rokok yang masih baru mengandung NO° yang sangat tinggi dan NO_2° yang bisa bereaksi dengan hidrokarbon tak jenuh seperti isoprene di dalam asap. (Halliwell & Gutteridge, 1999)

Nitrogen dioksida dapat merusak membran memulai proses peroksidasi lipid, dapat menyebabkan vasokonstriksi. Nitrogen dioksida bereaksi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang menghasilkan OH° dan menyebabkan tidak dapat berkombinasinya oksigen dengan molekul hemoglobin (Karen, Thomas, 2006).

Radikal bebas (OH) akan merusak tiga komponen molekul utama dari sel-sel tubuh yaitu lipid, protein dan DNA. Kerusakan pada lipid ditiap oksidasi dan pada proses dasar oksidasi DNA sel akan mengganggu integritas sel, sehingga akan menimbulkan kematian pada sel. (Halliwell & Gutteridge, 1999)

Secara garis besar rokok umumnya terbagi 3 kelompok yaitu rokok mild, rokok kretek dan cerutu. Rokok tipe Mild mempunyai kandungan tar dan nikotin yang paling rendah dibanding rokok kretek dan cerutu, hal ini dikontrol dengan baik / dijamin oleh pabriknya. Rokok mild memiliki sekitar 14-15 mg tar dan 1-3 mg nikotin. Rendahnya kadar tar dan nikotin ini justru menjadi nilai jual bagi mereka, hal ini berkaitan dengan isu kesehatan (tar dan nikotin adalah penyebab kanker). (Wikipedia Indonesia, 2006).

Untuk melihat pengaruh yang diakibatkan oleh asap rokok terhadap jumlah spermatozoa dapat dilakukan pada hewan coba seperti mencit. Mencit dipaparkan dengan asap rokok jenis mild karena dipresentasikan mempunyai kandungan tar dan nikotin yang paling rendah dibanding rokok kretek dan cerutu.

Mencit pada dasarnya adalah sama dengan mamalia lainnya. Untuk keperluan penelitian biologi dilaboratorium mencit sering digunakan sebagai model terutama untuk pengaruh bahan kimia atau obat-obatan sebelum diperlakukan kepada manusia. Mencit memiliki waktu siklus spermatogenesis di tubuli semi-

niferi sekitar 35,5 hari atau lebih kurang 5 minggu.

Jumlah sperma yang berkualitas adalah spermatozoa yang memiliki jumlah sekitar lebih dari 20 juta/ml ejakulat. Apabila jumlahnya kurang maka bisa dikatakan spermatozoanya tidak berkualitas. Jumlah sperma yang dihasilkan oleh testis sangat tergantung kepada spermatogenesis ditubulus seminiferus. Apabila prosesnya berjalan baik maka jumlah sperma yang dihasilkan akan normal. Spermatozoa yang diproduksi testis mencit mempunyai variasi dalam panjang lebar dan bentuk. Kepala spermatozoa tikus berbentuk sabit atau kait, bagian tengah (middle piece) pendek dan bagian ekor yang sangat panjang (Rugh, 1967).

Berdasarkan hal tersebut diatas maka peneliti merasa perlu untuk melihat sejauh mana pengaruh rokok pada jumlah sel spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang). Berdasarkan latar belakang masalah penelitian, dapat dibuat perumusan masalah sebagai berikut “Apakah ada pengaruh asap rokok terhadap jumlah sel spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang) dengan pemaparan dengan 2, 4, 6 batang rokok perhari selama 36 hari”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh asap rokok terha-

dap jumlah sel spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang).

Rokok adalah silinder dari kertas berukuran panjang antara 70 hingga 120 mm (bervariasi tergantung negara masing-masing yang memproduksi rokok itu sendiri) dengan diameter sekitar 10 mm yang berisi daun-daun tembakau serta bahan lainnya yang telah diracik. Ada dua jenis rokok yaitu, rokok yang berfilter dan tidak berfilter. Filter pada ujung rokok terbuat dari bahan busa serabut sintesis yang berfungsi untuk menyaring nikotin (Aditama, 1997).

Secara garis besar rokok umumnya terbagi 3 kelompok yaitu rokok mild, rokok kretek dan cerutu. Rokok tipe Mild dipresentasikan mempunyai kandungan tar dan nikotin yang paling rendah dibanding rokok kretek dan cerutu, hal ini dikontrol dengan baik / dijamin oleh pabriknya. Karena kerendahan kadar tar dan nikotin ini justru menjadi nilai jual bagi mereka berkaitan dengan isu kesehatan (tar dan nikotin adalah penyebab kanker). Rokok mild memiliki sekitar 14-15 mg tar dan 1-3 mg nikotin. Karena ringan kandungan tar dan nikotinnya, maka rokok jenis mild juga diberi istilah *light*, misalnya rokok LA *Light*, Marlboro *light* (Wikipedia Indonesia, 2006).

Tabel 1 Klasifikasi Kandungan Tar, Nikotin dan Karbon Monoksida dari Rokok (mg / batang)

Kadar	Tar (mg)	Nikotin (mg)	Karbon Monoksida (mg)
Rendah	< 4 – 10	< 0,3 – 1	< 3,14
Rendah-Sedang	11 – 16	0,6 – 1,6	10 – 19
Sedang	17 – 23	1,1 – 1,9	10 – 19
Sedang –Tinggi	24 – 26	1,3 – 2,6	14 – 19

Sumber : Drastyawan dkk, 2001

Setiap batang rokok mengandung banyak jenis bahan kimia dan sebagian besar beracun. Dengan kandungan zat kimia tersebut, maka dapat dipastikan efek rokok sangat merugikan bagi kesehatan. Asap rokok sangat banyak mengandung campuran racun yang kompleks, beberapa dari racun tersebut adalah radikal bebas, ada agen yang mengalami oksidasi-reduksi, ada yang cytotoxic aldehydes dan selain itu ada beberapa substansi yang bisa menyebabkan

kanker (karsinogen) (Halliwell & Gutteridge, 1999).

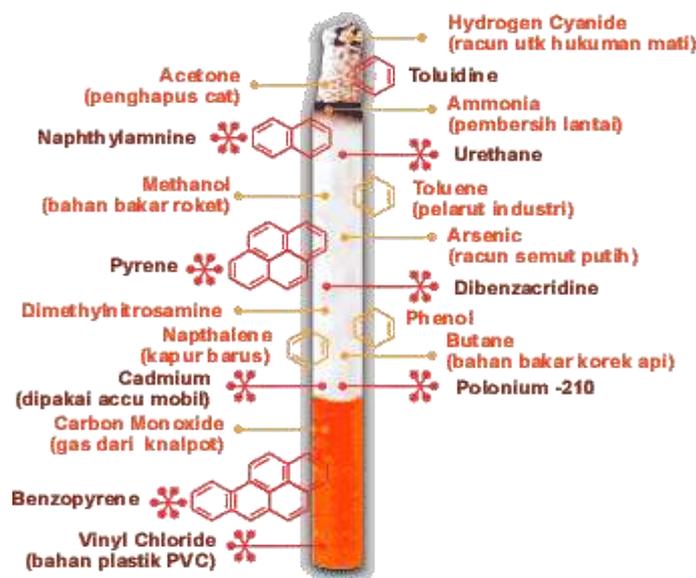
Asap rokok dapat diuraikan menjadi gas dan partikulat, tiap bentuk tersebut mempunyai zat kimia yang berbeda. Secara keseluruhan bentuk gas mengalami oksidasi sedangkan bentuk partikulat mengalami reduksi. Beberapa unsur pokok pada asap rokok dalam bentuk gas adalah amonia (NH₃), karbonmonoksida (CO), CO₂, NO, NO₂, hidrogen sianida (HCN), volatyle aldehyde (seperti etanol, formal-

dehyde, acrolein, benzene vapour, hidrokarbon tak jenuh seperti isoprene. Sedangkan dalam partikulate diantaranya adalah tar, nikotin, metal (seperti kadmium, timah (lead), nikel, besi, kromium, arsenic), phenol/semi-quinon/quinon. (Halliwell & Gutteridge, 1999)

Tar terbentuk selama pemanasan tembakau. Tar merupakan kumpulan berbagai zat kimia yang berasal dari daun tembakau itu sendiri, maupun ditambahkan dalam proses pertanian dan industri sigaret. Tar adalah hidrokarbon aromatik polisiklik yang ada dalam asap rokok dan termasuk kedalam golongan zat karsinogen, yaitu zat yang dapat menumbuhkan kanker. Tar dalam asap rokok memiliki sedikitnya 4 jenis radikal bebas yang berbeda. Salah satu tipe radikal yang menonjol adalah semiquinon yang melekat pada salah satu matrik polimer dan mengalami oksidasi reduksi penukaran dengan kuinon dan hidrokuinon. Tar menghasilkan O_2^\bullet (diperkirakan karena reaksi dari semiquinon terhadap O_2) dan H_2O_2 , dan juga terlihat merusak DNA waktu diisolasi. Bentuk gas dari radikal bebas asap rokok lebih se-

dikit bertahan daripada tar, asap rokok yang masih baru mengandung NO^\bullet yang sangat tinggi dan NO_2^\bullet yang bisa bereaksi dengan hidrokarbon tak jenuh seperti isoprene di dalam asap. (Halliwell & Gutteridge, 1999)

Nikotin adalah alkaloid toksis yang terdapat dalam tembakau. Sebatang rokok umumnya berisi 1-3 mg nikotin. Nikotin diserap melalui paru-paru dan kecepatan absorpsinya hampir sama dengan masuknya nikotin secara intravena. Nikotin masuk kedalam otak dengan cepat dalam waktu kurang lebih 10 detik. Dapat melewati barrier di otak dan didarkan keseluruh otak, kemudian menurun secara cepat, beredar keseluruh bahagian tubuh dalam waktu 15-20 menit pada waktu penghisapan terakhir. Efek bifasik dari nikotin pada dosis rendah mengakibatkan rangsangan ganglionik yang eksitasi. Tetapi pada dosis tinggi akan menyebabkan blokade ganglionik setelah eksitasi sepiantas. Nikotin adalah agen oksida yang potensial yang dapat mempengaruhi integritas plasma membran dan *Deoksiribo Nucleat Acid* (DNA) sperma (Arabia, 2004).



Gambar 1 Rokok dan Kandungan yang Terdapat di Setiap Bagiannya

Tabel 2 Beberapa Agen Racun Utama di dalam Asap Rokok

Agen	Kontrasentrasi Per Rokok
Dimetilnitrosamin	1-200 ng
Etilmetilnitrosamin	0,1-10 ng
Dietilnitrosamin	0-10 ng
Nitrosopirolidin	2-24 ng
Nitrosamin lain (4 senyawa)	0-20 ng
Hidrazin	21-43 ng
Vinil Klorida	1-16 ng
Uretan	10-35 ng
Fomaldehida	20-90 μ g
Hidrogen Sianida	30-200 μ g
Akrolein	25-140 μ g
Asetaldehida	18-1400 μ g
Nitrogen Oksida (NO)	10-600 μ g
Amonia	10-150 μ g
Piridin	9-93 μ g
Karbon monoksida	2-50 mg

Sumber : Beatrice, Thomas, 2006

Karbonmonoksida merupakan gas beracun yang tidak berwarna. Kandungannya di dalam asap rokok 2-6%. Karbon monoksida pada paru-paru mempunyai daya pengikat (afinitas) dengan hemoglobin (Hb) sekitar 200 kali lebih kuat dari pada daya ikat oksigen (O_2) dengan hemoglobin (Hb). Dalam waktu paruh 4-7 jam sebanyak 10% dari Hb dapat terisi oleh karbon monoksida (CO) dalam bentuk COHb (carbonyl haemoglobin), dan akibatnya sel darah merah akan kekurangan oksigen yang akhirnya sel tubuh akan kekurangan oksigen. Pengurangan oksigen dalam jangka waktu yang panjang akan mengakibatkan pembuluh darah akan terganggu karena menyempit dan mengeras. Hal ini akan mengakibatkan kematian sel karena kekurangan oksigen (Sukendro, 2007).

Nitrogen dioksida dapat merusak membran memulai proses peroksidasi lipid, dapat menyebabkan vasokonstriksi. Nitrogen dioksida bereaksi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang menghasilkan OH^0 dan menyebabkan tidak dapat berkombinasinya oksigen dengan molekul hemoglobin. Nitrogen dioksida dapat mengabstraksi atom hidrogen dari asam linoleic atau linolenic, dan dapat menstimulasi peroksidasi dari membran lipid. Sedangkan nitrit oksida dan nitrogen dioksida juga dapat bereaksi dengan H_2O_2 untuk memproduksi radikal hidroksil seperti pada reaksi dibawah ini :

Nitrogen dioksida dapat merusak membran memulai proses peroksidasi lipid, dapat menyebabkan vasokonstriksi. Nitrat dapat mengoksidasi molekul heme yang mengubah atom besi dari fero menjadi ferri dan menyebabkan tidak dapat berkombinasinya oksigen dengan molekul hemoglobin. Nitrogen dioksida bereaksi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang menghasilkan OH^0 dan menyebabkan tidak dapat berkombinasinya oksigen dengan molekul hemoglobin (Karen & Thomas, 2006).

Nikotin dalam asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat, sehingga dapat mengganggu proses spermatogenesis dan sintesis hormon testosteron melalui mekanisme umpan balik antara hipotalamus, hipofise anterior dan testis (Anita, 2004).

Hubungan antara hipotalamus, hipofisis dan testis demikian erat dan penting dalam proses reproduksi, hingga oleh beberapa peneliti menggambarkan sebagai suatu poros, yaitu poros hipotalamus- hipofisis-testis. Hampir semua sekresi kelenjer hipofisis diatur baik oleh hormon atau sinyal dari hipotalamus. Sekresi kelenjer hipofisis anterior diatur oleh hormon yang disebut dengan hormon pelepas gonadotropin atau disebut juga dengan Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH). GnRH

merupakan hormon yang menyebabkan pelepasan dari dua hormon gonadotropin yaitu Luteinizing Hormon (LH) dan Folikel Stimulating Hormon (FSH) (Guyton, 1997).

Sasaran dari FSH adalah sel-sel di tubulus seminiferus termasuk sel sertoli. Pada sel sertoli, FSH merangsang sintesa suatu protein yang disebut Androgen Binding Protein (ABP). Protein Pengikat Androgen ini berfungsi sebagai pengikat hormon androgen yang dihasilkan sel leydig untuk dibawa ke reseptor androgen sel-sel germinal di dalam lumen tubulus seminiferus. Sintesa androgen di dalam sel leydig ini dirangsang oleh LH. Selain hormon-hormon steroid, terdapat juga senyawa lain yang disekresikan oleh testis, yaitu 'inhibin'. Inhibin ini dihasilkan oleh sel sertoli dan mempunyai fungsi menekan fungsi hipofisis dalam mensekresi gonadotropin. (Guyton, 1997).

Pada penelitian yang lainnya asap rokok dapat mengurangi ukuran testis, nekrosis testis, berkurangnya diameter tubulus seminiferus dan vasokonstriksi pembuluh darah serta mempengaruhi pengambilan oksigen selama metabolisme (Karen & Thomas, 2006). Menurut Rajpurkar dkk, (2000) pemaparan asap rokok selama 45 hari telah menyebabkan diameter tubulus seminiferus menjadi menurun, sehingga jumlah spermatozoa yang dihasilkan akan lebih sedikit dari yang tidak mengalami perlakuan.

Perokok aktif adalah orang yang merokok atau orang yang langsung mengkonsumsi rokok. Kebiasaan merokok telah terbukti berhubungan dengan beberapa jenis penyakit dari berbagai alat tubuh manusia, selain itu satu-satunya penyakit yang menunjukkan asosiasi negatif dengan kebiasaan merokok adalah kematian akibat parkinson (Sukendro, 2007). Resiko perokok aktif adalah kanker paru, serangan stroke, gangguan pembuluh darah, otak, gangguan pada proses kehamilan, gangguan sistem reproduksi, penyakit jantung, penyakit maag dan tukak lambung, impotensi, kematian, batuk, dan osteoporosis (Aditama, 1997). Perokok pasif adalah orang-orang yang tidak merokok tetapi ia ikut menghirup asap yang dikeluarkan oleh rokok yang dikeluarkan oleh si perokok aktif. Asap rokok itu sendiri mengandung bahan kimia beracun, 43 diantaranya adalah jelas-jelas

bersifat karsinogen (penyebab kanker), tak heran jika pengaruh asap rokok pada perokok pasif itu tiga kali lebih buruk dari pada debu batu bara (Aditama, 1997).

Berbagai penelitian membuktikan asap rokok yang ditekankan orang lain, imbasnya bisa menyebabkan berbagai penyakit, bukan saja pada orang dewasa, tetapi terutama pada bayi dan anak-anak. Mulai dari aneka gangguan pernapasan pada bayi, infeksi paru, telinga gangguan pertumbuhan, sampai kolik (gangguan pada saluran pencernaan bayi) (Supriyadi, 2007).

Resiko perokok pasif yang paling tinggi adalah terhadap ibu hamil dan janin yang dikandung yaitu berupa keguguran janin, kematian janin dalam kandungan, bayi berat lahir rendah. Sedangkan resiko perokok pasif terhadap bayi adalah masalah dan penyakit pernapasan, perkembangan kecerdasan otot, penyakit telinga, leukimia, kanker otak, lelah dan sindrom kematian secara tiba-tiba (Aditama, 1997).

Bahaya yang ditimbulkan akibat rokok dapat menyerang siapa saja tanpa pandang bulu, apakah perokok aktif maupun perokok pasif. Tidak sedikit yang paham bahwa rokok memberikan kontribusi terhadap turunnya kualitas hidup bagi perokok itu sendiri. Perokok pasif memiliki resiko yang cukup tinggi atas kanker paru-paru dan jantung koroner (Jamal, 2006).

Mencit adalah hewan coba atau sering disebut hewan laboratorium karena khusus diternakkan untuk keperluan penelitian biologik di laboratorium. Hewan laboratorium tersebut digunakan sebagai model untuk penelitian terutama pengaruh bahan kimia atau obat-obatan sebelum diperlakukan pada manusia. Berbeda dengan hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjer keringat. Pada umur 4 minggu berat mencit bisa mencapai 18 – 20 gram. Jantung terdiri dari 4 ruangan dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Mencit termasuk kedalam Kingdom Animalia, Phylum Chordata, Subphylum Vertebrata, Class Mammalia, Ordo Rodentia, Suborder Myomorpha, Family Muridae, Subfamily Murinae, Genus Mus, Species Mus musculus (Kusumawati, 2004).



Gambar 2 Mencit (*Mus musculus*)

Peningkatan temperatur tubuh tidak mempengaruhi tekanan darah. Frekuensi jantung berkaitan dengan ukuran tubuhnya. Tractus urinaria terdiri dari ginjal, ureter, vesica urinaria dan uretra. Diantara spesies hewan lainnya mencitlah yang sering dipakai untuk tujuan penelitian medis karena murah dan mudah berkembang biak. (Kusumawati, 2004)

Menurut Raugh, (1967), sistem reproduksi mencit jantan terdiri atas testes, Epididimis, Duktus Deferens, Kelenjar tambahan (Kelenjar assesorius), Uretradan Penis. Testis mencit jantan panjangnya adalah sekitar 20 mm, dengan diameter 14 mm dan berat rata-rata 2-3,5 gram. Setiap bagian testis dibungkus oleh jaringan ikat longgar, tunika albuginea yang terbagi atas lobus-lobus yang disebut tumbulus seminiferus, tempat *germ cell* terbentuk. Jaringan intersisial leydig terletak diantara tubulus tersebut yang kaya akan pembuluh darah limfe. Sel intersisial leydig menghasilkan hormone Testosteron. Testis selain berfungsi menghasilkan spermatozoa melalui proses spermatogenesis (Rugh, 1967).

Spermatogenesis adalah suatu rangkaian perkembangan sel spermatogonia dari epitel tubulus seminiferus yang mengadakan proliferasi dan selanjutnya berubah menjadi spermatozoa.

Proses spermatogenesis pada mencit pada dasarnya adalah sama dengan mamalia lainnya. Waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus sel spermatogenesis di tubuli seminiferi pada mencit sampai dilepaskannya spermatozoa ke dalam lumen tubuli seminiferi adalah berkisar 35,5 hari atau lebih kurang 5 minggu (Rugh, 1967).

Epididimis mencit jantan terdiri dari bagian caput, dan kauda. Caput epididimis terbagi atas 7-8 lobulus, dilapisi oleh sel bertingkat silindris yang tidak bersilia. Diameter 5-11 mm. berat epididimis bervariasi antara 0,76-0,98 gr. Panjang seluruhnya berkisar 400 cm. Fungsi epididimis adalah sebagai tempat pematangan spermatozoa, tempat penyimpanan sperma dan mengangkut spermatozoa (Rugh, 1967). Selama perkembangan di tubulus seminiferus, spermatozoa belum matang dan tidak mampu untuk motilitas. Setelah sampai di epididimis spermatozoa menjadi matang dan mampu untuk motilitas. (Guyton, 1997).

Panjang duktus deferens mencit adalah 5-6 cm dengan diameter 2,5 mm, dilapisi oleh epitel kolumnar bertingkat. Lamina proprianya merupakan lapisan jaringan ikat dengan lapisan otot tebal yang terdiri atas lapisan longitudinal luar dan dalam yang dipisahkan oleh lapisan sirkular. Sebelum memasuki prostat, duktus

deferens membentuk bagian yang disebut ampula. Pada bagian akhir ampula, vesikula seminalis bergabung kemudian memasuki prostat dan bermuara ke uretra prostatikum. Ampula dilapisi oleh sel epitel kolumnar yang pendek (Rugh, 1967).

Kelenjar aksesori mempunyai peranan penting sebagai media hidup bagi sperma. Kelenjar ini terdiri dari vesikulasi seminalis, kelenjar prostat, kelenjar koagulasi, kelenjar ampula, kelenjar bulbouretra dan kelenjar preputial (Rugh, 1967). Merupakan saluran keluar sperma, saluran ini berada dalam batang penis. Pada bagian ventral nya dilapisi oleh epitel berlapis gepeng dan disebelah dorsalnya adalah epitel kuboid. Lamina propria terdiri jaringan ikat longgar yang kaya pembuluh darah (Rugh, 1967).

Penis terdiri dari 3 massa silindris yaitu 1 lapisan tipis corpus cavernosa utera (corpus spongiosa) yang dikelilingi oleh tunika albugenia dan 2 lapisan tebal corpus cavernosa penis. Glans penis dilapisi oleh epitel berlapis gepeng yang terdiri atas folikel-folikel rambut. Akar penis melekat pada tulang pubis yang berhubungan dengan Inschiocavernosa (Rugh, 1967).

Kualitas sperma adalah suatu kondisi atau keadaan yang dimiliki oleh sperma. Sperma yang berkualitas adalah sperma yang memiliki keadaan atau kondisi yang normal sehingga mampu untuk membuahi ovum. Kualitas sperma sering dijadikan sebagai indikator untuk menentukan fertil atau tidaknya sperma yang dimiliki seseorang. Berkualitas atau tidaknya sperma dapat ditentukan dengan analisa sperma secara makroskopis maupun mikroskopis. Pemeriksaan tersebut diantaranya adalah jumlah, morfologi dan motilitas spermatozoa (Nasution, 1999).

Jumlah spermatozoa adalah salah satu faktor penentu dalam menentukan kualitas sperma. Jumlah sperma yang berkualitas adalah spermatozoa yang memiliki jumlah sekitar lebih dari 20 juta/ml ejakulat. Apabila jumlahnya kurang maka bisa dikatakan spermatozoanya tidak berkualitas. Jumlah spermatozoa dihitung menurut beberapa cara yaitu jumlah spermatozoa per ml ejakulat dan jumlah spermatozoa per volume ejakulat. Namun yang umum dipakai adalah jumlah spermatozoa per ml ejakulat (Yatim, 1994).

Menghitung jumlah spermatozoa per ml ejakulat dapat dilakukan dalam dua tahap yaitu menghitung jumlah spermatozoa per lapangan pandang dan menghitung jumlah spermatozoa per ml dengan menggunakan kamar hitung *Hemocytometer Neubauer*. Spermatozoa yang memiliki morfologi yang matang yang dihitung, sperma yang tidak ada kepala dan ekor tidak dihitung (WHO, 1994). Jumlah spermatozoa yang dihasilkan oleh testis sangat tergantung pada proses spermatogenesis yang terjadi di tubulus seminiferus. Spermatogenesis adalah suatu rangkaian perkembangan sel spermatogonia dari epitel tubulus semiferus yang mengadakan proliferasi dan selanjutnya berubah menjadi spermatozoa yang terdiri dari kepala, leher dan ekor (Moeloek, 1994).

Spermatogonia pada tikus terdiri atas 3 macam yaitu spermatogonia tipe A, intermediet, dan spermatogonia tipe B. spermatogonia tipe A merupakan yang terbesar dan terdiri atas partikel-partikel inti kromatin. Tahap metafasenya lebih panjang dan lebih ramping. Spermatogonia tipe A berlanjut menjadi tipe intermediet yang lebih kecil, banyak dan terdiri atas inti kromatin didalam jonjot-jonjot yang kasar atau berupa gumpalan yang terletak diatas atau di dekat permukaan sebelah dalam dari membran nukleus. Tahap metafasenya pendek, berkelompok dan berbentuk seperti kepala, dari spermatogonia tipe B akan membelah lagi menjadi spermatosit primer. Diperkirakan waktu dari tahap metafase spermatogonia menjadi propase sekitar 3-9 hari, dan dari tahap diakinesis ke spermatozoa yang belum matang lebih kurang 10 hari. Spermatogonia tipe A pertama kali muncul 3 hari setelah lahir, lalu jumlahnya meningkat menjadi sel primordial dan diletakkan pada membran basal berikutnya, setelah itu jumlahnya akan menurun. Tahap meiosis didalam testis dimulai 8 hari setelah lahir. Petunjuk pertama bahwa spermatogonia tipe B membelah menjadi spermatosit primer adalah tampaknya pembesaran secara nyata dan berpindah dari membran basal. Spermatosit primer membelah menjadi 2 spermatosit sekunder yang lebih kecil, lalu menjadi 4 spermatid. Proses spermatogenesis pada tikus pada dasarnya adalah sama dengan mamalia lainnya. Waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus daru tubuli seminiferi pada tikus adalah \pm 6 jam, dan maksimum jarak antara tahap sper-

matogonia tipe A sampai dilepaskannya spermatozoa ke dalam tubuli seminiferi adalah berkisar 35,5 hari atau lebih kurang 5 minggu (Rugh, 1967).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dengan metode *Post Test Only Control Group Design* yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan perlakuan dengan kelompok kontrol. Populasi dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang) dengan pertimbangan mencit adalah mamalia coba atau sering disebut hewan laboratorium karena sering dipakai pada penelitian biologi di laboratorium. Hewan laboratorium tersebut digunakan sebagai model untuk penelitian terutama pengaruh bahan kimia atau obat-obatan sebelum diperlakukan pada manusia. Sampel dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang), dengan kriteria Umur 2-3 bulan, Jenis kelamin jantan, Berat badan rata-rata 25-35 gr. Besar sampel adalah sebanyak 24 ekor tikus jantan, berdasarkan rumus : $(t-1)(r-1) \geq 15$. Dimana : t = Jumlah kelompok percobaan r = Jumlah hewan coba/kelompok; Jadi : $(4-1)(r-1) \geq 15$, $r-1 \geq 15/3$, $r \geq 6$. (Hanafiah, 1997)

Variabel bebas (independent) merupakan Variabel independent dalam penelitian ini adalah rokok dengan merk class mild. Sedangkan Variabel terikat (dependent) Variabel dependent dalam penelitian ini adalah jumlah sel spermatozoa-spermatozoa mencit jantan. Hipotesis penelitian ini adalah Ada pengaruh rokok dengan pemaparan sebanyak 2, 4, 6 batang perhari selama 36 hari terhadap jumlahsel spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang).

Alat dan bahan penelitian ini adalah Kandang mencit 4 buah, Tempat makan dan minum tikus, Kain untuk menutupi kandang saat pengasapan 3 buah, Pipet leukosit, Kawat penggantung rokok, Timbangan, Stop watch, Alat hitung, Kaca objek dan cover glass, Jarum, Peralatan bedah minor, Mikroskop, Kamar hitung Haemocytometer Improved Neubauer, Gelas arloji dan Sarung tangan. Sedangkan bahan-bahannya adalah Rokok Class Mild (14 mg tar, 1,0 mg nikotin), Sekam, Makanan dan mi-

numan tikus, Larutan George, Giemsa, Natrium bikarbonat (NaHCO_3), Formalin 35 %, Gentian violet dan NaCl 0,9 %.

Prosedur Kerja dan Teknik Pengambilan Data

Prosedur Kerja penelitian ini adalah (1) Mencit jantan sebanyak 32 ekor disiapkan, dimana 24 ekor nantinya sebagai sampel dan 8 ekor sebagai cadangan jika ada yang mati disaat penelitian; (2) Mencit dibagi atas kelompok-kelompok seperti yang tertera dirancangan penelitian; (3) Sebelum perlakuan dilakukan mencit dipelihara selama 1 minggu untuk penyesuaian dengan lingkungan dan diberi makan biasa dan minuman biasa; (4) Lakukan pemaparan asap rokok terhadap mencit. Pemaparan dilakukan setelah kandang mencit ditutup dengan kain sekeliling kandang kecuali bagian bawah untuk memberikan sirkulasi udara; (5) Rokok yang dibakar diletakan di bagian dalam kandang mencit dengan menggunakan penggantung. Waktu pemaparan dimulai saat rokok mulai dibakar sampai rokok habis terbakar. Selama pemaparan sirkulasi udara dapat terjadi dari bagian bawah. Perlakuan dibagi atas 4 kelompok yaitu (a) Kelompok 1 sebagai kontrol (tanpa paparan asap rokok); (b) Kelompok 2 dilakukan pemaparan 2 batang per hari selama 36 hari; (c) Kelompok 3 dilakukan pemaparan 4 batang per hari selama 36 hari; (d) Kelompok 4 dilakukan pemaparan 6 batang per hari selama 36 hari dan (6) Pemeriksaan jumlah sel spermatozoa mencit

Pada hari ke 37 perlakuan, mencit dikorbankan dengan melakukan pematihan batang otak, kemudian dilakukan laparotomi. Lakukan pemotongan terhadap ductus deferens. Pengambilan spermatozoa dilakukan dengan memijat kedua ductus deferens yang telah dipotong, kemudian hasilnya ditampung dalam gelas arloji.

Pemeriksaan jumlah spermatozoa yakni; (1) Isi pipet leukosit dengan spermatozoa sampai garis bertanda 0,5; (2) Tambahkan larutan George sampai garis bertanda 1.1; (3) Teteskan diatas kamar hitung Improved Neubauer; (4) Tutup dengan kaca penutup; (5) Hitung jumlah spermatozoa yang mati dalam kamar hitung di bawah mikroskop dan (6) Jumlah spermatozoa yang dihitung di dalam kamar Improved Neubauer dikalikan dengan 200.000 untuk mendapatkan jumlah spermatozoa dalam 1 ml.

Analisa Data

Seluruh data yang diperoleh dianalisa dengan Anova untuk mengetahui pengaruh paparan asap rokok terhadap jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa dengan komputerisasi dengan derajat kemaknaan 95 %. Jika didapatkan hasil yang bermakna dilanjutkan dengan uji statistik Post Hoc Tests (Multiple Comparisons) jenis Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Sel Spermatozoa

Hasil penelitian tentang jumlah sel spermatozoa dituliskan di Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa pemaparan asap rokok selama 36 hari berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa mencit. Rata-rata jumlah spermatozoa mengalami penurunan jika

dibandingkan dengan kontrol (69,67 juta/ml). Penurunan jumlah spermatozoa yang paling tinggi adalah pada perlakuan II dengan pemaparan 4 batang rokok sehari (43.00 juta/ml).

Hasil penelitian dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik Anova satu arah dengan derajat kepercayaan 95 %, untuk mengetahui bermakna atau tidak bermakna pengaruh asap rokok terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan (*mus musculus*. Strain Jepang) setelah pemaparan asap rokok selama 36 hari. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3 Rata-Rata Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*. Strain Jepang) setelah Pemaparan Asap Rokok selama 36 Hari pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan pada $\alpha > 0.05$

No	Kelompok	Ulangan						Rata-Rata (Juta/ml)
		1	2	3	4	5	6	
1	Kontrol	78	74	66	102	48	50	69.67
2	Perlakuan I	38	54	72	30	26	50	45.00
3	Perlakuan II	6	34	44	42	64	68	43.00
4	Perlakuan III	86	18	48	56	76	96	63.33

Tabel 4 Uji Anova Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*. Strain Jepang) setelah Pemaparan Asap Rokok selama 36 hari pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan pada $\alpha > 0.05$

	Kelompok			
	Kontrol	Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
Jumlah Sperma	69.67	45.00	43.00	63.33
Simpangan Baku	20.02	17.15	22.44	28.59

Berdasarkan Tabel 4, uji Anova yang dilakukan terhadap jumlah spermatozoa mencit menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan perlakuan ($\alpha > 0.05$). Berdasarkan hal tersebut diatas maka hipotesis ditolak, karena tidak ada pengaruh rokok terhadap jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus*, Strain Jepang).

Asap rokok sangat banyak mengandung campuran racun yang kompleks, beberapa dari racun tersebut adalah radikal bebas. Asap rokok dapat diuraikan menjadi gas dan partikulat, tiap bentuk tersebut mempunyai zat kimia yang berbeda. Secara umum rokok ada 3 jenis yaitu rokok cerutu, kretek dan rokok mild. Rokok tipe Mild dipresentasikan mempunyai kandungan tar dan nikotin yang paling rendah dibanding

rokok kretek dan cerutu. Rokok Class mild memiliki sekitar 14 mg tar dan 1 mg nikotin. Bahaya yang ditimbulkan akibat rokok dapat menyerang siapa saja, apakah perokok aktif maupun perokok pasif. Dalam taraf yang ringan rokok berdampak negatif pada sistem pernafasan dan secara spesifik dampak lanjutnya adalah munculnya penyakit paru, jantung, hipotensi, kanker, lever, impotensi dan termasuk diantaranya penyakit-penyakit yang secara langsung berakibat dengan kebiasaan mengisap rokok, seperti gangguan pada sistem reproduksi serta penyakit lainnya yang bisa mengancam jiwa si perokok. Rokok juga dapat mempengaruhi spermatogenesis yang terjadi di tubulus seminiferus dan mempengaruhi kadar hormon tetosteron.

Hasil penelitian padamenunjukkan bahwa pemaparan asap rokok selama 36 hari berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa mencit. Rata-rata jumlah spermatozoa mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kontrol (69,67 juta/ml). Tetapi penurunan jumlah spermatozoa tidak sebanding dengan jumlah batang rokok yang diberikan selama 36 hari. Hal ini terlihat pada pemaparan dengan 6 batang rokok sehari, jumlah spermatozoa jauh lebih banyak (63,33 juta/ml) jika dibandingkan dengan pemaparan dengan 2 batang rokok (45,00 juta/ml) dan pemaparan dengan 4 batang rokok (43,00 juta/ml). Meskipun semua perlakuan menunjukkan jumlah sperma yang normal karena lebih dari 20 juta /ml.

Dengan uji Anova yang dilakukan terhadap rata-rata jumlah spermatozoa mencit menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan perlakuan ($\alpha > 0.05$). Ini berarti kandungan kimia asap rokok tidak begitu besar pengaruhnya secara statistik terhadap jumlah spermatozoa yang dihasilkan oleh testis.

Dari data tersebut diatas dapat dijelaskan bahwa jumlah spermatozoa yang dihasilkan oleh testis sangat tergantung kepada mekanime secara lansung terhadap spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus. Apabila spermatogenesis berlangsung normal, maka akan dihasilkan jumlah spermatozoa yang normal. Salah satu kandungan bahan kimia rokok adalah nikotin. Nikotin merupakan alkaloid toksid yang terdapat dalam tembakau. Sebatang rokok umumnya berisi 1-3 mg nikotin. Nikotin masuk

ke dalam otak dengan cepat dalam waktu kurang lebih 10 detik. Dapat melewati barrier diotak dan diedarkan keseluruh sel-sel otak, kemudian menurun secara cepat, beredar keseluruh bahagian tubuh dalam waktu 15-20 menit pada waktu penghisapan terakhir. Nikotin dalam asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat, sehingga mekanisme umpan balik antara hipotalamus, hipofise anterior dan testis menjadi terganggu. Akibatnya sintesis hormon tetosteron terganggu dan spermatogenesis juga terganggu (Anita, 2004).

Pengaruh nikotin terhadap sel-sel sperma ini sangat tergantung kepada daya tahan tubuh, karena masing-masing mencit memiliki sensitivitas yang berbeda ketika diberikan pemaparan terhadap asap rokok. Rokok mild memiliki kadar nikotin yang rendah sehingga masih bisa ditolerir oleh tubuh. Dengan pemaparan 2 batang rokok sehari kadar nikotin, tar, karbonmonoksida dan radikal bebas lainnya yang masuk ke tubuh masih dalam jumlah yang sedikit sehingga tubuh agak lambat mengalami penyesuaian terhadap bahan kimia dan radikal bebas tersebut. Akibatnya pengaruh bahan-bahan kimia tersebut baru terlihat memberikan dampak setelah jangka waktu yang cukup lama. Pemaparan dengan 4 batang sehari, jumlah sperma yang dihasilkan lebih sedikit dari perlakuan lainnya. Ini berarti bahan kimia dan radikal bebas yang dihasilkan rokok cepat bekerja sehingga spermatogenesis mengalami gangguan, dan belum adanya penyesuaian dari tubuh mencit untuk menghambat bahan kimia dan radikal bebas.

Pemaparan dengan 6 batang rokok sehari, jumlah spermatozoa yang dihasilkan lebih banyak dari yang diberikan perlakuan dengan 2 batang dan 4 batang rokok sehari. Hal ini disebabkan sangat cepatnya tubuh memberikan respon terhadap bahan kimia dan radikal bebas yang masuk, sehingga mekanime spermatogenesis tidak begitu terganggu dan penurunan jumlah spermatozoa hanya dalam jumlah yang sedikit. Jumlah sperma yang dihasilkan testis tidak cukup untuk mendiagnosa fertil atau infertilnya seseorang. Karena adakalanya jumlah sperma yang normal tetapi bila memiliki morfologi dan motilitas yang kurang baik akan bisa menyebabkan infertil. Sebaliknya dengan jum-

lah sperma yang sedikit tapi memiliki morfologi dan motilitas normal maka masih bisa fertil (Guyton, 1997).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan analisa hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan secara statistik antara kontrol dengan pemaparan 2 batang, 4 batang dan 6 batang rokok perhari terhadap jumlah spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang).

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh rokok mild terhadap struktur molekuler spermatozoa seperti kromosom dan DNA. Untuk mengetahui pengaruh pengaruh maksimal dan minimal dari kadar nikotin dan tar yang dikandung rokok, maka sebaiknya dilakukan dengan berbagai jenis rokok.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Aditama TY. 1997. *Rokok dan Kesehatan*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit UI
- Arabia M. 2004. *Nicotinic infertility: assessing DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa*. *Andrologia*. Diakses dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Azizan. 2008. *Nikotinex Untuk Perokok Aktif dan Pasif*. Diakses www.edaran-salindah.com.
- Anita N. 2004. Perubahan Sebaran Stadia Epitel Seminiferus, Penurunan Jumlah Sel-Sel Spermatogenik dan Kadar Hormon Testosteron Total Mencit (*Mus musculus* L) Galur DDY Yang Diberi Asap Rokok Kretek. *Tesis* Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Beatrice TH dan Thomas H. 2006. *Udara dan Kesehatan Anda*. Jakarta : PT. Bhuana Ilmu Populer.
- Bhagavan NV. 2001. *Biochemistry. 4th Edition*. University of Hawaii.
- Dahlan MS. 2004. *Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan. Seri 1*. Jakarta: PT. Arkans.
- Depkes RI. 2008. *Artikel. Ayah Merokok di luarpun Percuma*. Tanpa Penerbit.
- DrasyawanB, dkk. 2001. Pengaruh Asap Rokok Terhadap Saluran Nafas. *Jurnal Per-sahabatan Ilmiah Kesehatan Vol. : 31-37*.
- Guyton AC. 1997. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. EGC
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals, other reactive species and disease. In free Radicals in Biology Medicine*. New York: Oxford University
- Hanafiah KA. 1997. *Rancangan Percobaan. Teori & Aplikasi*. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Palembang.
- Harrison. 2000. *Prinsip-Prinsip ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. EGC
- Jamal S. 2006. Pria Desa Berpendidikan Rendah, Perokok Terbanyak. Peneliti di badan Pengembangan Kesehatan Jakarta. *Medika Jurnal Kedokteran Indonesia No.03 tahun ke XXXII, Maret 2006*.
- Karen ES, Thomas M. 2006. *Principles of Toxicology. 2nd edition*. New York
- Kusumawati D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University Press
- Leeson. 1992. *Histologi. Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran. EGC
- Milna. 2008. Nasib Perokok Pasif. Situs Kesehatan Keluarga.
- Moeloek N. 1994. *Reproduksi dan Embriologi dari Satu Sel Menjadi Organisme*. Jakarta FKUI
- Nasution A.W. 1999. *Andrologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang
- Notoatmodjo. S. 1997. *Ilmu Kesehatan Masyarakat*. Prinsip Dasar. Jakarta. PT. Rineka Cipta
- Notoatmodjo. S. 2001. *Metodologi Penelitian*. Jakarta: PT. Rineka Cipta
- Price S.A & Wilson L.M. 1995. *Patofisiologi. Konsep klinis Proses-Proses Penyakit*. EGC
- Rajpurkar A et al. 2000. *Morphometric Analysis of Rat Testis Following Chronic Exposure to Cigarette Smoke*. Diakses dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Reval A, Li H, Dhatuwala CB. 2000. *Morphometric Analysis of Rat Testis Following Chronic Exposure to Cigarette Smoke*. *J. Environment pathol toxicol oncol*. Diakses dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Rugh R. 1967. *The Mouse Its Reproduction and Development*. Minneapolis: Burgess

- Spector WG. 1993. *Pengantar Patologi Umum*. Gajah Mada university Press.
- Suparman DR dkk.. 1990. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II. Penerbit FKUI
- Stenley L & Robbins. 1999. *Buku Saku Dasar Patologi Penyakit*. Jakarta. EGC
- Sukendro S. 2007. *Filosofi Rokok. Sehat Tanpa Berhenti Merokok*. Pinus Book Publisher
- Supriyadi RW 2007. *Kasih Perokok Pasif*. Diakses <http://www.perokokpasif.co.id>
- WHO 1994. *Pemeriksaan semen Manusia dan Interaksi Sperma – Getah servik*. Edisi 3. Penerjemah Arsyad dan Hayati L, Bagian Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya
- Wikipedia 2008. Rokok. Diakses dari <http://id.wikipwdia.org/wiki/rokok>
- Wolff, ME 1994. *Asas-asas Kimia Medisinal*. 4th edition. Gajah Mada university.
- Yatim W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi*. Penerbit Tarsito Bandung
- Yatim W. 1990. *Histologi*. Penerbit Tarsito Bandung
- Young B, Heath JW. 2000. *Functional Histology*. Churchill livingstone.