

Efektivitas Pemberian Ekstrak Almond terhadap Jumlah Morfologi Sperma Mencit Jantan Putih (*Mus musculus*) Galur Swiss Webster yang Dipapar Asap Rokok

Widianingsih¹, Dadan Ramadhan Apriyanto², Reni Gustine³

¹Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Swadaya Gunung Jati, Cirebon

²Divisi Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati
dadanramadhanapriyanto95@gmail.com

³Divisi Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati

ABSTRAK

Latar Belakang : Spermatozoa merupakan sel yang dihasilkan oleh fungsi reproduksi pria. Salah satu kelainan yang terkait yaitu infertilitas dengan penyebab utamanya merokok. Akibat hipoksia jaringan dikarenakan karbon monoksida dari asap rokok sehingga radikal bebas meningkat pada jaringan reproduksi. Antioksidan memiliki peran yang fundamental dalam eliminasi dari radikal bebas di dalam jaringan, mengurangi apoptosis yang disebabkan oleh stres oksidatif. Kandungan antioksidan pada kacang almond berpengaruh dalam proses perbaikan pembentukan sperma dan morfologi dari sperma. Oleh karena itu perlu diteliti mengenai efektivitas pemberian ekstrak almond terhadap morfologi sperma yang dipapar asap rokok. **Tujuan :** Mengetahui efektivitas pemberian ekstrak kacang almond terhadap morfologi sperma pada mencit jantan yang dipapar asap rokok. **Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *-Post test only design*. Sampel adalah 24 ekor mencit putih dengan kriteria tertentu, dibagi secara acak menjadi 4 kelompok. Kelompok Kontrol (akuades, tanpa asap rokok), Kelompok Perlakuan 1 (akuades, dengan asap rokok), Kelompok Perlakuan 2 (asap rokok dengan akuades dan ekstrak kacang almond dengan dosis 7 mg/20 g), dan Kelompok Perlakuan 3 (asap rokok, ekstrak akuades dan kacang almond dengan dosis 15 mg/20 g). Pemberian dilakukan secara sonde oral. **Hasil :** Hasil menunjukkan adanya penurunan jumlah morfologi sperma pada KP₁ dibandingkan dengan KK (21.190±0.323 dan 37.128±0.1877% dengan p <0.001). peningkatan jumlah morfologi sperma normal pada KP₂ dan KP₃ (32.1043±0.54 dan 35.3771±0.93 dengan p <0.001). **Kesimpulan :** Ekstrak kacang almond mempunyai efektivitas dalam meningkatkan jumlah morfologi sperma mencit jantan putih yang dipapar asap rokok.

Kata Kunci: Almond, Antioksidan, Ekstrak Almond, Spermatozoa, Morfologi

ABSTRACT

Background : Spermatozoa are cells produced by the male reproductive system. Infertility, a common disorder of the reproductive system, is known to correlate with cigarette smoke. Carbon monoxide from cigarette smoke may cause tissue hypoxia, leading to an increase of free radicals in the system. Antioxidants have a fundamental role in the elimination of free radicals inside the tissues and reducing oxidative stress-related apoptosis. The antioxidants in almond nuts may have an impact towards sperm production and morphology. Thus, its effectiveness towards sperm morphology in subjects previously exposed to cigarette smoke must be studied. **Goals :** To determine the efficacy of almond extract administration towards sperm morphology in male rats previously induced with cigarette smoke. **Method :** This study is an experimental study with a post-test only design. A total of 24 white rats with certain criteria were used as samples and randomly divided into 4 groups; control group (aquadest, no cigarette smoke), treatment group 1 (aquadest, with cigarette smoke), treatment group 2 (cigarette smoke, aquadest, 7 mg/20g of almond extract), and treatment group 3 (cigarette smoke, aquadest and 15 mg/20 g of almond extract). All treatments were administered using oral sonde. **Results :** We observed a decrease of normal-morphology sperm in KP₁ compared with KK (21.190±0.323 and 37.128±0.1877% with a p <0.001). We observed an increase of normal-morphology sperm in KP₂ and KP₃ (32.1043±0.54 and 35.3771±0.93 with a p <0.001). **Conclusion :** Almond nut extract has an effectiveness in increasing the morphology of sperm white mice exposed to cigarette smoke.

Keywords: Almond, Almond extract, Antioxidant, Morphology, Spermatozoa.

Pendahuluan

Spermatozoa merupakan sel yang dihasilkan oleh fungsi reproduksi pria. Sel tersebut mempunyai bentuk khas yaitu mempunyai kepala, leher dan ekor.¹ Menurut semua orang sperma itu sangat penting, karena ketika seorang berumah tangga hal yang diinginkan adalah mempunyai keturunan. Apabila seorang laki-laki mempunyai sperma tetapi abnormalitas maka sel telur akan gagal untuk dibuahi. Secara medis laki-laki tersebut dikatakan infertilitas.

Merokok adalah salah satu penyebab infertilitas pada usia dewasa baik pria maupun wanita.² Merokok merupakan bahaya kesehatan yang diakui secara luas dan kasus besar kematian. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa sepertiga dari populasi dunia yang berusia di atas 15 tahun adalah perokok. Prevalensi perokok tertinggi pada tahun 2013 mencapai 36,3%, prevalensi perokok diamati pada laki-laki dewasa muda yang terjadi selama tahun-tahun reproduksi mereka.³ Asap rokok mengandung sejumlah besar zat termasuk nikotin, karbon monoksida, logam berat, benzopyrene, dimethylbenzanthracene, dimethylnitrosamine, naftalena, dan metanaphtalene. Menghirup asap rokok menyebabkan penyerapan zat ini di seluruh tubuh. Hal ini juga mungkin bahwa zat ini dapat berakhir dalam plasma mani perokok melalui berbagai modus difusi dan transport aktif. Oleh karena itu, tidak mengherankan bahwa merokok memiliki dampak negatif pada sistem reproduksi laki-laki. Penelitian telah menunjukkan bahwa merokok mempengaruhi kualitas semen, khususnya di kalangan perokok berat atau mereka yang telah merokok selama bertahun-tahun.⁴

Infertilitas pada pria terkait merokok berhubungan dengan bahan asing dari asap rokok dan hipoksia jaringan yang menyeluruh dikarenakan karbonmonoksida dari asap rokok. Hal tersebut menyebabkan peningkatan radikal bebas pada seluruh jaringan reproduksi sehingga jaringan berada dalam keadaan stres oksidatif.² Dalam penelitian yang dilakukan oleh Harald Trummer melaporkan bahwa penurunan rata-rata morfologi sperma normal dilaporkan 3% pada perokok. Sedangkan pada penelitian Gaspari dilaporkan terkait dengan kepala abnormal ($r = 0,3$), leher yang abnormal ($r = -0,2$) dan bentuk fisiologis abnormal ($r = -0,2$). Semen dari 1.000 laki-laki subur dilaporkan oleh MacLeod dan Gold rerata persentase bentuk abnormal 26% (74 % normal).

Stres oksidatif yang disebabkan oleh zat oksigen

reaktif atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang diketahui mempengaruhi kesuburan pria serta stress oksidatif telah terbukti mempengaruhi kesuburan pria, karena dapat dilihat pada parameter air mani dan pemupukan pengukuran. ROS adalah radikal bebas yang terlibat dalam berbagai proses fisiologis sperma seperti kapasitas, aktivitas hiper dan sperma oosit-fusion.⁵ Terbukti bahwa kontak yang terlalu lama dengan asap rokok terkait dengan peningkatan kerusakan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) sperma dan apoptosis, yang menyebabkan peningkatan infertilitas pria.⁶

Antioksidan memiliki peran yang fundamental dalam eliminasi dari radikal bebas di dalam jaringan. Antioksidan juga dapat mengurangi apoptosis yang disebabkan oleh stres oksidatif. Selain itu, beberapa antioksidan dapat meningkatkan fungsi fisiologis sistem reproduksi pria.^{7,8}

Kacang Almond (*Prunus dulcis*) memiliki kandungan berbagai macam seperti lemak, asam lemak jenuh atau *Saturated Fatty Acid* (SFA), asam lemak tak jenuh tunggal atau *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA), asam lemak tak jenuh ganda atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA), *Linoleic Acid* (LA), protein, serat, folat dan fosfor.⁹ Adapun kandungan antioksidan pada kacang almond yang paling baik yaitu vitamin E.¹⁰

Suplementasi antioksidan pada kacang almond seperti, vitamin E terbukti berpengaruh dalam proses perbaikan pembentukan sperma dan morfologi dari sperma. Kandungan antioksidan pada kacang Almond diharapkan dapat mengurangi kerusakan pada spermatozoa akibat merokok.¹⁰

Penelitian serupa dilakukan pada tahun 2011 dan diterbitkan dalam *Ecology Letters*, yang menemukan bahwa almond memang meningkatkan kesuburan pria. Namun, studi ini dilakukan pada jangkrik.¹¹

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas pemberian ekstrak almond terhadap jumlah morfologi sperma mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak almond terhadap jumlah morfologi sperma mencit jantan putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* yang dipapar asap rokok.

Metode

Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang mencakup ilmu biokimia

dan fisiologi yang dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Peneliti memberikan perlakuan kepada sampel berupa hewan uji coba di laboratorium. Rancangan penelitian ini adalah *the post test only design*. Subjek penelitian dipapar sebagai variabel independen dan dilihat parameter tiap variabelnya setelah diberi perlakuan. Sebelumnya mencit dikelompokkan secara random

Populasi dan Sampel

Populasi

Mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*.

Sampel penelitian

Kriteria inklusi

- Berjenis kelamin jantan,
- Galur *Swiss Webster*,
- Berusia 2-3 bulan,
- Berat badan ± 20 gram dengan kondisi yang sehat

Kriteria eksklusi

- Cacat fisik dan
- Tampak sakit selama penelitian berlangsung.

Cara Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel acak sederhana (*simple random sampling*).

Besar Sampel

Cara menentukan besar sampelnya dengan rumus sebagai berikut :

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

keterangan
t : jumlah kelompok
n : jumlah sampel dalam tiap kelompok

Variabel Penelitian

Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah paparan asap rokok dan ekstrak almond

Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah morfologi sperma

Cara pengumpulan data

Bahan dan alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:
a. Kandang mencit 4 buah beserta peralatan pemberian makan dan minum; b. Sonde lambung; c. timbangan hewan; d. kandang mencit perlakuan asap rokok; e. alat pembuatan suspensi sperma; f. mikroskop cahaya; g. kamera; h. *object glass* dan *deckglass*; i. minyak imersi, j. alat bedah hewan percobaan, k.

Smoking chamber

Bahan yang digunakan antara lain: a. Biji kacang almond; b.makanan mencit; c. rokok kretek dengan kandungan tar 38 mg dan nikotin 2,3 mg; d. akuades; e.NaCl 0,9 %; f. *reagent* pewarna

Prosedur penelitian

Berbekal surat pengantar dari Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati, peneliti menghubungi Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta yang akan menjadi tempat penelitian dan meminta izin penelitian kepada kepala Laboratorium kepala Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM.

Setelah mendapat izin dari pihak Laboratorium, maka peneliti mulai penelitian terhadap bahan uji coba yaitu mencit putih (*Mus musculus*), penelitian berlangsung selama 30 hari dengan persyaratan membayar sejumlah biaya administrasi.

Analisis Data

Pada penelitian analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan *One Way ANOVA* serta uji *Pos Hoc LSD* yang akan diolah dengan program komputer.

Hasil dan Pembahasan

Perubahan Morfologi Sperma yang Dipapar Asap Rokok

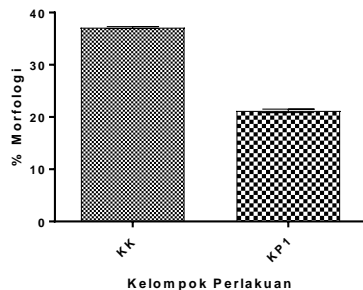
Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*. Untuk membuktikan adanya perubahan morfologi sperma, kami memberi perlakuan pada mencit dengan pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang per hari selama 30 hari.

Hasil penelitian diatas menunjukkan rerata spermatozoa mencit pada KK sebesar $37.128 \pm 0.1877\%$ dengan batas bawah 36.96% dan batas atas 37.30% . KP_1 rerata spermatozoa mencit sebesar $21.1900 \pm 0.323\%$ dengan batas bawah 20.89% dan batas atas 21.49% (**Gambar 1**).

Berdasarkan hasil perlakuan adanya penurunan jumlah morfologi sperma pada KP_1 dibandingkan dengan KK. Dapat disimpulkan bahwa adanya perubahan morfologi sperma mencit yang dipapar rokok.

Dilihat dari hasil penelitian dan kesimpulan dapat dikatakan sesuai dengan teori bahwa merokok menjadi salah satu penyebab infertilitas pada pria baik sebagai perokok aktif maupun pasif. Infertilitas pada perokok disebabkan karena terganggunya fungsi fisiologis sistem reproduksi akibat asap rokok. Terganggunya sistem reproduksi inilah yang menjadi alasan peningkatan produksi spermatozoa dengan morfologi yang abnormal. Penelitian lain

mengungkapkan bahwa nikotin bisa menginduksi apoptosis sel *Leydig* dan menghambat biosintesis androgen pada sel *Leydig*, hal ini menunjukkan kemungkinan bahwa nikotin dapat mengganggu sistem hormon reproduksi laki-laki.²



Gambar 1. Rerata Perubahan Morfologi Sperma

Efek bahan kimia rokok terutama radikal bebas terhadap sistem reproduksi menunjukkan adanya gangguan spermatogenesis pada mencit, menghambat sel *Leydig* sehingga menghambat sekresi hormon testosteron merugikan proses spermatogenesis dan fertilisasi sperma, motilitas, konsentrasi dan persentase normal morfologi sperma yang rendah. Paparan asap rokok juga dapat menyebabkan penurunan kapasitas epitel germinal dalam berdiferensiasi menjadi spermatozoa yang mengganggu proses spermatogenesis.⁷

Kerusakan pada morfologi spermatozoa dapat disebabkan lewat dua mekanisme. Pertama disebabkan karena kerusakan fungsi biokimia pada sel *sertoli*, *Leydig* dan lamina propia epitel germinal. Kedua terjadi pada karen faktor lingkungan atau faktor stres yang memengaruhi fungsi dari sel *sertoli*.¹² Sumber lain mengungkapkan bahwa gangguan pada proses spermiogenesis juga dapat menyebabkan keluaran dari spermatozoa yang dihasilkan memiliki morfologi yang abnormal.¹³

Kerusakan dari morfologi spermatozoa akibat asap rokok dapat disebabkan oleh gangguan pada sintesis testosteron oleh sel *Leydig* pada tahap spermatogenesis, karena kekurangan testosteron akan mengganggu fungsi dari sel *sertoli* sehingga terjadi malnutrisi pada sel spermatogenik. Sel *sertoli* berperan dalam pembentukan nukleus dan akrosom dari spermatozoa. Selain itu sel *sertoli* juga memiliki fungsi fagositosis dari spermatozoa dengan morfologi abnormal, sehingga peningkatan apoptosis dari sel *sertoli* menyebabkan turut meningkatnya morfologi abnormal pada spermatozoa.^{13,14}

Proses kerusakan morfologi pada spermatozoa mencit yang dipapar asap rokok diawali dari

terganggunya proses spermatogenesis akibat stres oksidatif, menyebabkan kerusakan pada DNA spermatozoa lewat jalur kerusakan kromatin, sehingga akan lebih rentan terhadap ROS. ROS pada jaringan reproduksi kemudian memperoksidasi lipid dari membran sel spermatozoa, menghancurkan integritas dari membran menyebabkan kerusakan morfologi pada spermatozoa. Terganggunya proses spermiogenesis akibat stres oksidatif akan membuat fungsi *remodeling* dari membran spermatozoa terhambat sehingga menghasilkan keluaran spermatozoa dengan morfologi abnormal.^{15,16}

Efektivitas pemberian ekstrak kacang almond terhadap mencit yang dipapar asap rokok

Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*. Dalam penelitian ini cara penentuan sampel dengan membagi menjadi 4 kelompok secara randomisasi sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit putih jantan galur *Swiss Webster*. Kelompok tersebut terdiri dari KK Kelompok Kontrol (akuades, tanpa asap rokok), KP₁ Kelompok Perlakuan 1 (akuades, dengan asap rokok), KP₂ Kelompok Perlakuan 2 (asap rokok dengan akuades dan ekstrak kacang almond dengan dosis 7 mg/20 g), dan KP₃ Kelompok Perlakuan 3 (asap rokok, ekstrak akuades dan kacang almond dengan dosis 15 mg/20 g).

Setelah dilakukan perlakuan pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan uji statistik untuk menjawab tujuan yang dicapai. Uji statistik yang pertama dilakukan adalah menentukan normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk*, hasil yang diperoleh dari uji normalitas didapatkan bahwa data berdistribusi normal.

Untuk mengetahui perbedaan morfologi sperma antar kelompok dilakukan uji One Way Anova dan uji Post Hoc. Perbandingan antara KP₁ dengan KP₂ memiliki beda rerata morfologi mencit sebesar -10.91429% dengan batas bawah -11.7506% dan batas atas -10.0779%, sig 0.000. Sedangkan jika dibandingkan dengan KP₃ memiliki beda rerata sebesar -14.18714% dengan batas atas -15.0235% dan batas atas -13.3508%, nilai $p < 0.001$ (Tabel 2).

Hasil diatas dapat disimpulkan pemberian ekstrak kacang almond efektif dalam memperbaiki morfologi sperma pada mencit jantan yang dipapar asap rokok, dosis yang paling efektif yaitu sebesar 15 mg/20 gr BB dengan beda mean kedua kelompok tersebut 3.272%.

Tabel 1 Hasil Pemberian Ekstrak Kacang Almond terhadap Mencit yang dipapar Asap Rokok

Perlakuan	N	Rerata±s.b	p
KK	7	37.1286±0.1887	<0,001
KP1	7	21.1900±0.323	<0,001
KP2	7	32.1043±0.54	<0,001
KP3	7	35.3771±0.93	<0,001

Analisis One Way Anova

Tabel 2 Hasil uji lanjut antar kelompok

Perbedaan Antar Kelompok			Perbedaan rerata	IK95%		p
				Minimum	Maksimum	
KK	VS	KP1	15.93857*	15.1022	16.7749	<0,001
KK	VS	KP2	5.02429*	4.1879	5.8606	<0,001
KK	VS	KP3	1.75143*	.9151	2.5878	<0,001
KP1	VS	KP2	-10.91429*	-11.7506	-10.0779	<0,001
KP1	VS	KP3	-14.18714*	-15.0235	-13.3508	<0,001
KP2	VS	KP3	-3.27286*	-4.1092	-2.43365	<0,001

Analisis Uji Post Hoc

Dilihat dari hasil penelitian dan kesimpulan dapat dikatakan sesuai dengan teori bahwa kacang Almond mampu memperbaiki jumlah morfologi spermatozoa. Almond merupakan sumber yang sangat baik dari vitamin E, mangan, biotin, dan tembaga, magnesium, molydenum, riboflavin (vitamin B2), dan fosfor. Nutrisi pada Almond juga mengandung karbohidrat, gula, serat larut dan tidak larut, natrium, vitamin, mineral, asam lemak serta asam amino.¹⁰

Kandungan tertinggi kacang almond yaitu Vitamin E yang sangat penting untuk menjaga tingkat kematang sel sperma maupun sel telur.¹⁷ Vitamin E sendiri berfungsi sebagai antioksidan lipofilik dengan jumlah yang banyak di sel sertoli, turut menjaga proses spermatogenesis.

Dikarenakan sifatnya yang larut dalam lemak, vitamin E melindungi membran sel dari bahaya peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan kerusakan spermatozoa akibat apoptosis. Hal ini membuktikan bahwa kacang almond efektif dalam perubahan morfologi sperma.^{7,18}

Kacang almond mengandung antioksidan yang berperan dalam mengurangi efek dari asap rokok. Vitamin E dalam kacang almond memiliki fungsi antioksidan dan dapat berperan sebagai *radical scavenging agents*, agen yang aktif dalam melawan radikal bebas.¹⁷

Simpulan

Ekstrak kacang almond mempunyai efektivitas dalam meningkatkan jumlah morfologi sperma mencit jantan putih yang dipapar asap rokok.

Daftar Pustaka

1. Arthur C Guyton JEH. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 11th ed. Jakarta: EGC; 2012. 1048-1060 p.
2. Jing-Bo Dai, Zhao-Xia Wang and Z-DQ. The hazardous effects of tobacco smoking on male fertility. 2015
3. Dinas Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar 2013. Ris Kesahatan Dasar. 2013;111–6.
4. Ghaffari MA, Rostami M. The effect of cigarette smoking on human sperm creatine kinase activity: As an ATP buffering system in sperm. Int J Fertil Steril. 2013;6(4):258–65.
5. Silberstein, Tali, Iris Har-Vardi Avi Harlev, Michael Friger et all. Antioxidants and Polyphenols: Concentrations and Relation to Male Infertility and Treatment Success. 2016
6. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of oxidative stress on male reproduction. World J Mens Health . 2014;32(1):1–17.
7. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. Adv Exp Med Biol. 2008;636(December):154–71.
8. Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. Oxidative Stress Diagnostics, Prev Ther [Internet]. 2011;1083:1–37.
9. Ros E. Health benefits of nut consumption. Vol. 2, Nutrients. 2010. p. 652–82.

10. Rao HJ, Lakshmi. Therapeutic applications of almonds (*Prunus amygdalus L*): A review. Vol. 6, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2012. p. 130–5.
11. Smith E. Eating at least seven nuts, especially almonds, could improve a man's sperm count and quality, according to a new theory proposed by Italian doctors. 2014
12. Dada, R.; Gupta, N.P., Kucheria K. Deterioration Of Sperm Morphology In Men Exposed To High Temperature. *J Anat Soc India*. 2001;107–11.
13. O'Donnell L. Mechanisms of spermiogenesis and spermiation and how they are disturbed. *Spermatogenesis*. 2015;4(2):e979623.
14. Ahmadnia H, Ghanbari M, Moradi MR, Khaje-Dalouee M. Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats. *Urol J*. 2007;4(3):159–63.
15. Agarwal A., Prabakaran S.A. STM. Prevention of Oxidative Stress Injury to Sperm Minireview. 2005
16. Hosseinzadeh Colagar A, Karimi F, Jorsaraei SGA. Correlation of Sperm Parameters With Semen Lipid Peroxidation and Total Antioxidants Levels in Astheno- and Oligoastheno- Teratospermic Men. *Iran Red Crescent Med J*. 2013;15(9):780–5.
17. George M. *The World's Healthiest Foods: Essential Guide for the Healthiest Way of Eating*. 1st ed. Seattle, Washington: Library of Congress Cataloging; 2006.
18. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*. 2008;4(2):89–96.