

PERAN ROS TERHADAP FUNGSI SPERMATOZOA

Taufiqurrachman

Bagian Biokimia dan Andrologi

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sutan Agung

Abstrak

Penurunan motilitas sperma, defek morfologi, kondensasi kromatin yang buruk, fragmentasi DNA, dan gangguan fusi terhadap oosit, terbukti berhubungan dengan infertilitas pria. Sejak dibentuk di dalam testis sampai diejakulasikan, spermatozoa berada dalam lingkungan yang bersifat oksidatif. Di sisi lain spermatozoa sangat sensitif terhadap ROS akibat kandungan asam lemak tidak jenuh pada membran spermatozoa yang sangat tinggi.

ROS didefinisikan sebagai atom atau kelompok atom yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu sangat reaktif. ROS terdiri dari $O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$, $ROO^{\cdot}$, $OHCL$, dan H_2O_2 . ROS dalam konsentrasi rendah mempunyai peran yang sangat penting dalam mengendalikan motilitas, fertilisasi, hyperaktivasi, reaksi akrosom, dan kapasitas. 30% - 80% pria infertil disebabkan oleh *stress oxidative* spermatozoa yang berhubungan dengan faktor predisposisi seperti kapasitas antioxidant yang rendah, Inflamasi, dan spermatozoa immatur. Untuk mengimbangi peningkatan ROS diperlukan antioksidan preventif dan antioksidan pemecah rangkaian reaksi. Antioksidan tersebut adalah catalase, peroksidase, glutathion peroksidase, superoksid desmutase, asam urat, bilirubin, albumin, vitamin C, vitamin E, carotenoid, ubiquinol, polifenol, melatonin, dan asam cafeat.

Antioksidan bekerja dengan memberi donor hydrogen pada ROS aktif, dengan konsekuensi pembentukan ROS baru. Oleh karena itu pemberian antioksidan sebaiknya tidak dalam bentuk tunggal, melainkan dalam bentuk kombinasi. Kombinasi antioxidant yang terdiri dari lycopene, vitamin E, vitamin C, Zinc, selenium, dan asam folat, atau vitamin E, vitamin C, dan melatonin merupakan terapi antioxidant yang baik. Sebelum menggunakan antioksidan, perlu ditetapkan sumber primer penyebab peningkatan ROS. Meskipun demikian anti oksidan dapat langsung diberikan pada pria dengan kualitas spermatozoa buruk, atau pria infertil yang terpapar oleh senyawa yang dapat meningkatkan ROS.

Kata kunci: ROS, stress oksidatif, antioksidan, fungsi spermatozoa

Pendahuluan

Motilitas sperma yang buruk, defek morfolog, pematangan kromatin yang jelek, peningkatan insiden fragmentasi DNA, dan penurunan kemampuan mengenali dan fusi terhadap oosit, terbukti sangat berhubungan dengan infertilitas pria.¹ WHO pada tahun 1982 – 1985 melalui penelitian multicenter menyebutkan bahwa 20% kasus infertilitas adalah berasal dari faktor pria, 38% berasal dari faktor wanita, 27% merupakan faktor yang berasal dari keduanya, sedangkan 15% sisanya tidak dapat dianggap berasal dari salah satu anggota pasangan.² Muratori et al pada th 2008 juga melaporkan bahwa infertilitas faktor pria murni atau kombinasi dengan faktor wanita mempunyai sumbangan

terhadap infertilitas sampai 50%,³ dengan satu di antara 20 pria dalam populasi umum menunjukkan kualitas spermatozoa yang buruk.⁴ Angka infertilitas tersebut kemungkinan makin meningkat, akibat penurunan fungsi spermatozoa yang disebabkan oleh *reactive oxygen species* (ROS).^{5,6,7}

Spermatozoa adalah sel yang diproduksi oleh testis dan menjalankan metabolisme secara aerobik, oleh karena itu sangat membutuhkan oksigen. Sejak dibentuk di dalam testis sampai diejakulasikan ke dalam traktus reproduksi wanita, spermatozoa berada dalam lingkungan yang bersifat oksidatif.¹ Di sisi lain spermatozoa sangat sensitive terhadap ROS terutama $OH^{\cdot}$,

akibat kandungan asam lemak tidak jenuh pada membran spermatozoa yang sangat tinggi.⁸ Kandungan asam lemak tidak jenuh yang sangat tinggi sebenarnya berfungsi untuk membantu fertilisasi dan acrosom reaksi dari spermatozoa. Jumlah sitoplasma yang sangat sedikit, juga menyebabkan spermatozoa mempunyai kemampuan proteksi diri melalui produksi antioxidant dan reparasi DNA yang sangat terbatas.^{7,8} Oleh karena itu keberadaan ROS dalam spermatozoa, traktus reproduksi pria, ejakulat, dan traktus reproduksi wanita sangat berpotensi mengganggu fertilitas pria melalui penurunan fungsi spermatozoa. Secara fisiologis ROS adalah produk sampingan yang dihasilkan oleh sel hidup selama respirasi dalam mitochondria. ROS yang terdiri dari anion superoksida (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), radikal peroxy ($ROO^\cdot$), hypochlorid radicals ($OHCL$), dan radikal hydroxyl (OH) adalah oksidant yang sangat kuat dan cepat bereaksi.^{7,8,9} Dalam hitungan nanosecond ($OH^\cdot$) dan millisecond (O_2^-) jumlah oksidant tersebut hanya tinggal setengahnya.⁹ Sasaran dari ROS adalah membran plasma, mitochondria, protein, glukosa, basa purin dan pirimidin dari spermatozoa, yang dapat menimbulkan kerusakan, apoptosis, dan penurunan fungsi bila konsentrasinya sangat tinggi.⁴

ROS dalam konsentrasi rendah mempunyai peran yang sangat penting dalam mengendalikan fungsi spermatozoa seperti motilitas, fertilisasi, hyperaktivasi, acrosom reaksi, dan kapasitasi.^{8,9} Selama proses kapasitasi berlangsung konsentrasi calcium intrasel, ROS, NO, dan tyrosin kinase meningkat yang kemudian diikuti oleh peningkatan kadar cAMP. Peningkatan kadar cAMP selanjutnya memacu hyperaktivasi, acrosome reaksi, dan akhirnya fertilisasi.^{3,8} Peningkatan ROS dimaksudkan untuk mengatur redox pada fosforilasi tyrosin yang secara erat berhubungan dengan transduksi

signal selama kapasitasi dan acrosom reaksi.⁸ ROS dalam dosis rendah juga mempunyai peran penting dalam fusi spermatozoa dengan oosit melalui modifikasi membran plasma yang difasilitasi oleh pembentukan peroksidasi lipid.¹⁰ Selain ROS, NO juga mempunyai peran dalam memacu kapasitasi dan akrosom reaksi.¹¹ Oleh karena itu perlu dijaga keseimbangan yang akurat antara produksi ROS dalam kadar rendah (fisiologis) dan dalam kadar yang berlebihan. Berbagai upaya untuk menghindarkan paparan spermatozoa dari ROS selama spermatogenesis, perjalanannya di dalam saluran reproduksi pria, semen, maupun saluran reproduksi wanita perlu dilakukan. Di sisi lain terhadap pria infertile jika diketahui mempunyai potensi untuk menghasilkan ROS yang tinggi pemberian antioxidant perlu dipertimbangkan.

Pembentukan ROS

Sebagai organisme aerobik dalam 24 jam manusia bernafas kurang lebih sebanyak 23 ribu kali dan menghirup oksigen sebanyak 352.8 l untuk menjalankan metabolisme basal.¹² Konsekuensi dari proses metabolisme tersebut, system biokimiawi dalam tubuh mampu menghasilkan ROS sebanyak 2.5% dari total kebutuhan oksigen atau sebanyak 3.4 kg/24 jam. Secara sederhana ROS didefinisikan sebagai atom atau kelompok atom yang mempunyai electron tidak berpasangan, oleh karena itu sangat reaktif.^{13,14} ROS terdiri dari O_2^- , $OH^\cdot$, $ROO^\cdot$, $OHCL$, dan H_2O_2 .^{1,2,7} Radikal O_2^- disintesis dari reduksi satu electron oksigen oleh berbagai reaksi yang dikatalisis oleh enzim oksidase yang meliputi: autooksidasi hemoglobin, cytochrom P450 reduktase, xanthine oksidase, NADPH oksidase, cyclooksigenase, dan transport elektron selama reaksi fosforilasi oksidatif dalam mitochondria untuk menghasilkan ATP. Radikal

ROO[•] bersama dengan malondialdehid (MDA), dihasilkan dari reaksi antara OH[•] dengan gugus H asam lemak tidak jenuh fosfolipid membran membentuk lipid radikal yang kemudian bereaksi dengan O₂. Radikal OH[•] sendiri dibentuk dari dekomposisi H₂O₂ yang diinduksi oleh Fe⁺⁺ atau copper yang dikenal dengan reaksi Fenton dan Heberweis.^{7,8,9,14} Sedangkan H₂O₂ dibentuk dari reaksi yang dikatalisis oleh enzyme oksidase, atau oleh reaksi penambahan electron dan gugus hydrogen (1H) pada molekul O₂. H₂O₂ juga disintesis oleh peroksisom dengan mentransfer dua electron dari FADH₂ ke O₂ yang kemudian dengan mudah di konversi menjadi radikal OH[•]. Selain itu H₂O₂ juga dapat dibentuk oleh sel phagosit selama proses inflamasi yang melibatkan enzim cytochrome b dengan mentransfer electron dari NDPH ke O₂ membentuk superoksida kemudian H₂O₂ yang segera dirubah menjadi OH[•] oleh reaksi Fenton.^{14,15,16} ROS juga dapat dibentuk oleh radiasi kosmis, asap, dan obat, atau zat kimia lain yang dimakan. Di antara berbagai ROS tersebut yang penting, paling reaktif, dan berbahaya adalah radikal OH[•]. Hal ini disebabkan karena radikal OH[•] mampu bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid, dan molekul lain sehingga dapat menyebabkan perubahan struktur dan kerusakan sel.^{14,15} Setelah radikal OH[•], ROS yang paling reaktif adalah radikal O₂⁻. Hal ini disebabkan oleh kemampuan radikal O₂⁻ untuk menstimulasi pengeluaran Fe dari feritin, lactoferin, dan transferin. Fe kemudian merubah H₂O₂ dan kelebihan asam ascorbat menjadi radikal OH[•] yang sangat reaktif melalui reaksi fenton.¹⁷ Selain ROS masih ada subclass lain yang dikenal dengan Reactive nitrogen species (RNS) yang terdiri dari nitric oxide, peroxyxynitrite, nitroxyl ion, dll adalah derivat dari nitrogen, yang juga mempunyai perilaku seperti ROS.^{18,19} Berbagai ROS/RNS tersebut dapat menyebabkan sel soma

atau spermatozoa dapat mengalami stress oksidative.

Sumber dan Implikasi ROS dalam Saluran Reproduksi Pria

30% sampai 80% pria infertil disebabkan oleh *stress oxidative* spermatozoa yang berhubungan dengan berbagai faktor predisposisi.²⁰ Faktor predisposisi yang dimaksud adalah:⁴ i. Kapasitas antioxidant yang rendah. Pria infertil sering mempunyai kapasitas antioxidant rendah pada seminal plasma dan spermatozoa, akibatnya membuat spermatozoa lebih rentan terhadap risiko stress oksidative. ii. Inflamasi. Sebagian besar pria infertil terbukti mengalami inflamasi pada saluran reproduksi secara bermakna dibanding pria fertil. Dalam kondisi inflamasi, neutrophyl adalah sel leukosit paling dominan yang terkandung dalam semen dan mempunyai kapasitas produksi ROS yang tinggi bila teraktivasi. Indikator aktivitasi neutrophyl adalah peningkatan kadar IL-1, IL-6, IL-8, dan TNF- α .⁷ Peningkatan berbagai interleukin tersebut, sebenarnya mempunyai peran penting dalam induksi kapasitas dan akrosom reaksi. Namun bila terjadi peningkatan yang berlebihan menyebabkan kerusakan membran spermatozoa melalui pembentukan peroksidasi lipid. Bukti menunjukkan bahwa IL-6 terdapat dalam kadar tinggi pada seminal plasma pria infertil, dan mempunyai korelasi positive dengan jejas spermatozoa, terutama pada lipid membran.^{21,22,23} Lebih lanjut IL-1, IL-6, IL-8, dan TNF α juga terbukti meningkatkan kadar ROS dan menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid membran spermatozoa. iii. Spermatozoa immatur. Semen pria infertil sering mengandung spermatozoa immatur yang secara morfologi tidak normal, sehingga mempunyai kapasitas pembentukan ROS lebih tinggi dibanding

spermatozoa matur.^{4,9} Peningkatan kapasitas produksi ROS disebabkan oleh peningkatan aktivitas NADPH oksidase dalam membran spermatozoa.⁷ Peningkatan aktivitas NADPH oksidase disebabkan oleh peningkatan NADPH yang dibentuk oleh enzim glucose 6 fosfat dehidrogenase yang terdapat dalam sejumlah besar residu sitoplasma sel immatur yang gagal diekspulsi.^{7,9} Selain melalui peningkatan NADPH oksidase, pembentukan ROS juga dapat melalui NADPH dependent oksidoreduktase (diphorase) pada mitochondria. ROS dan mitochondria mempunyai pengaruh timbal balik.⁹ ROS di satu sisi menyebabkan kerusakan membran mitochondria, di sisi lain kerusakan mitochondria menyebabkan peningkatan produksi ROS. Ketiga faktor predisposisi yang diuraikan di atas menyebabkan spermatozoa dapat dengan mudah terpapar oleh ROS baik yang berasal dari intrinsik maupun ekstrinsik. ROS intrinsik adalah ROS yang diproduksi oleh spermatozoa, sedangkan ROS ekstrinsik adalah ROS yang dihasilkan oleh leukospermia. ROS ekstrinsik lebih merusak struktur luar spermatozoa, sehingga menghasilkan penurunan motilitas, jumlah, dan morfologi. Sedangkan ROS intrinsik lebih berhubungan dengan jejas atau fragmentasi DNA.^{7,8} Fragmentasi DNA juga dapat terjadi akibat paparan ROS pada saat penggantian histon oleh protamin selama proses spermatogenesis.⁴

Sepanjang spermatogenesis normal, fase yang paling rawan oleh pengaruh ROS yang berakibat pada fragmentasi DNA adalah fase perubahan spermatid menjadi spermatogonia (spermiogenesis). Dalam fase ini sebanyak 85% histon diganti dengan protamin.²⁴ Penggantian ini bertujuan untuk memperkuat pengemasan chromatin sehingga tidak mudah diserang oleh ROS.²⁵ Namun 15% pria infertile mengalami defisiensi protamin

untuk pengemasan chromatin, akibatnya menjadi sangat rentan terhadap serangan ROS dan kerusakan DNA. Pada saat penggantian histone oleh protamin, DNA mengalami pemecahan sementara yang kemudian diikuti oleh penyambungan kembali. Pemecahan dan penyambungan kembali DNA dimediasi oleh enzim topoisomerase II.²⁶ Oleh karena itu kerusakan atau perubahan aktivitas enzim topoisomerase II menyebabkan defek reparasi DNA dan menyisakan fragmentasi DNA. Selain itu oksidasi protamin pada saat perjalanan spermatozoa dari testis menuju epididimis juga menentukan kerentanan DNA terhadap ROS. Selama perjalanan tersebut gugus thiols dari protamin mengalami oksidasi untuk membentuk dan memperkuat hubungan silang intra dan intermolekul disulfide, sehingga DNA spermatozoa menjadi lebih stabil.⁴ Oksidasi gugus thiol dari protamin tersebut difasilitasi oleh protein seleno fosfolipid hydrogen glutathion peroksidase (PHGPx). Bukti menunjukkan bahwa tikus yang tidak mengandung PHGPx mempunyai gugus thiols yang tidak teroksidasi dalam jumlah yang tinggi, gagal membuat jembatan disulfide, dan defek kondensasi chromatin.²⁷ Namun hal yang lebih menarik adalah pada pria infertile dengan oligoasthenoteratozoospermia (OAT) ditandai oleh distribusi thiol yang bifasik. Di satu sisi terjadi oksidasi thiol yang tidak lengkap, sedangkan pada sisi lain terjadi oksidasi thiol yang berlebihan. Bukti menunjukkan bahwa, konsentrasi gugus thiol bebas yang sangat rendah, secara konsisten berhubungan dengan keadaan stress oksidative dan fragmentasi DNA yang diukur dengan TUNEL.²⁸ Fragmentasi DNA juga dapat berlangsung akibat abortive apoptosis.²⁹ Apoptosis mempunyai peran penting selama proses spermatogenesis berlangsung karena dua alasan. Pertama, antioksidan preventif dan antioksidan pemecah rangkaian reaksi (*chain breaking*

reaction).¹⁷ Antioksidan preventif adalah antioksidan yang mampu menekan atau menghambat pembentukan ROS pada fase inisiasi seperti enzim catalase, peroksidase, dan glutathion peroksidase.^{8,9} Meskipun demikian aksi antioksidan preventif, tetap dapat menyisakan ROS ketika pembentukan ROS berlangsung secara berlebihan. Jumlah ROS yang tersisa akan bertambah besar apabila ditambah oleh ROS yang berasal dari luar. Oleh karena itu diperlukan *Chain breaking* antioksidan yang berguna untuk memecah rangkaian reaksi ROS pada fase propagasi.

Antioksidan yang termasuk golongan *Chain breaker* terbagi menjadi dua bagian. Bagian yang pertama adalah antioksidan yang larut dalam air seperti superoksida desmutase (SOD), asam urat, bilirubin, albumin, thiols, dan vitamin C. Sedangkan vitamin E, carotenoid, ubiquinol, polifenol (flavonoid), dan asam caffeat phenetyl ester (CAPE) yang merupakan senyawa komponen propolis,³⁷ adalah antioksidan yang larut dalam lemak. Aktivitas antioksidan sangat ditentukan tidak saja oleh sifat kimiawi dan konsentrasi, tetapi juga oleh mobilitas dan lokasi antioksidan dalam lingkungan mikro.¹⁷ Mengacu pada sifat kimiawi dan kondisi lingkungan mikro tersebut, maka vitamin E dan antioksidan lain yang larut lemak adalah suatu antioksidan yang sangat efektif untuk melawan ROS. Hal ini disebabkan karena selain bersifat lipofilik, juga mempunyai mobilitas vertikal dalam membran, serta mempunyai kemampuan mereduksi yang tinggi. Selain vitamin E polifenol juga merupakan antioksidan lipofilik yang efektif dan banyak tersedia dalam makanan. Makanan yang banyak mengandung polifenol adalah lignin (walnut/sejenis kenari, sereal); proantocyanin (anggur); antocyanin (buah, sayuran); isoflavons (kedelai); catechin (teh, anggur); tannin (teh, kacang),

quercetin (anggur, bawang); naringenin (buah citrus); dan CAPE.³⁸

Mengingat cara kerja antioksidan adalah memberi donor hydrogen pada ROS aktif, maka hasil reaksi ini akan menghasilkan ROS baru. Oleh karena itu keberhasilan antioksidan ini dipengaruhi tidak saja oleh kadar ROS tetapi juga oleh agen pereduksi lain dalam tubuh. Antioksidan hidrofilik seperti vitamin C adalah antioksidan yang bekerja pada fase cair, oleh karena itu tidak dapat bekerja pada membran dan tidak dapat bertindak sebagai antioksidan pemecah rantai. Namun demikian keberadaan vitamin C tetap penting mengingat sebagian ROS dibentuk dalam fase cair yang kemudian melakukan penetrasi ke membran, yang merusak dan memperberat kerusakan sel.^{7,9} Cara kerja antioksidan sebagaimana tersebut di atas, menyebabkan pemberian antioksidan sebaiknya tidak dalam bentuk tunggal, melainkan dalam bentuk kombinasi.³⁹ Sebagai contoh pemberian vitamin E pada ROS selain dapat mengikat radikal bebas, juga mengakibatkan pembentukan radikal vitamin E. Radikal vitamin E oleh pemberian asam ascorbat selain dapat membentuk kembali radikal vitamin E menjadi vitamin E, juga menghasilkan dehidro ascorbat yang juga suatu radikal bebas. Dehidroascorbat oleh glutathione tereduksi, selain dapat dirubah menjadi asam ascorbat kembali, juga menghasilkan glutathione teroksidasi. Selanjutnya glutathione teroksidasi oleh enzim glutathione reductase dikembalikan ke dalam bentuk glutathione tereduksi dengan bantuan selenium sebagai cofaktor. Selain itu, selenium bersama dengan zinc dan asam folat juga terbukti mempunyai peran penting dalam sintesis DNA spermatozoa dan pembentukan protamin. Mengacu pada uraian tersebut, maka pemberian kombinasi antioxidant yang terdiri dari lycopene, vitamin E, vitamin C, Zinc,

selenium, dan asam folate, atau vitamin E, vitamin C, dan melatonin merupakan terapi antioxidant yang cukup menjanjikan.^{4,40-42}

Strategi Pengelolaan Penurunan Fungsi Spermatozoa akibat Peningkatan ROS.

Dalam kondisi tertentu keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan dalam traktus reproduksi bergeser ke arah prooksidan. Konsekuensi dari pergeseran ini, sel spermatozoa mengalami stress oksidatif dan kerusakan yang memacu penurunan fungsi spermatozoa sebagaimana tersebut di atas. Dalam kondisi seperti itu pemberian antioksidan merupakan pilihan yang penting. Namun sebelum membuat keputusan memberi antioksidan perlu dipertimbangkan beberapa hal sebagai berikut.^{43,44}

1. Dalam banyak kasus kejadian oksidatif stress lebih disebabkan oleh peningkatan pembentukan ROS daripada penurunan kadar antioksidan.
2. Berapa rasio yang tepat kadar prooksidan dan antioksidan, mengingat sampai saat ini belum ada patokan baku.
3. Dalam batas tertentu prooksidan sangat berguna untuk meningkatkan motilitas, kapasitas, dan akrosom reaksi, sementara oversupply antioksidan juga dapat memicu sintesis ROS.

Mengacu pada berbagai pertimbangan tersebut maka yang perlu dilakukan pertama kali adalah mengidentifikasi sumber primer pembentukan ROS, kemudian menghilangkan sumber tersebut sesuai penyebab. Setelah diketahui penyebab primernya maka dapat ditetapkan untuk menggunakan atau tidak menggunakan antioksidan. Bagaimana dengan penderita infertil yang belum teridentifikasi penyebab primernya, apakah dapat langsung diberikan antioksidan. Meskipun dalam hal ini belum didasari oleh *evidence based*, namun bukti telah menunjukkan bahwa kualitas spermatozoa yang buruk berhubungan

dengan stress oksidatif dan kadar ROS yang tinggi. Selain itu untuk pasien yang mempunyai kualitas spermatozoa yang buruk tetapi jelas menggunakan bahan yang dapat menyebabkan peningkatan ROS dan stress oksidative seperti perokok, olahragawan berat, dan pengguna telepon genggam maka dapat langsung diberi antioksidan. Menurut studi Repacholi, bahwa telepon genggam yang mempunyai kekuatan frekuensi 900 MHz mengeluarkan radiasi elektromagnetik, yang mempunyai efek terhadap tubuh.⁴⁵ Irmak melaporkan bahwa menurut hasil studi yang dilakukan pada kelinci menunjukkan bahwa, telepon genggam terbukti dapat menginduksi pembentukan ROS pada jaringan.⁴⁶ Koyu A dkk kemudian melanjutkan studi tersebut pada tikus Sprague Dawley dan mendapatkan hasil bahwa antioksidan golongan CAPE dan polifenol yang merupakan constituent propolis ternyata terbukti mampu menurunkan kadar lipoperoksida, meningkatkan SOD, dan glutathione peroksidase setelah mendapatkan paparan gelombang electromagnetic 900 MHz.³⁷

Kesimpulan

Berdasar pada uraian di atas maka dapat disimpulkan bahwa ROS dibentuk dalam tubuh sebagai konsekuensi dari metabolisme. Peningkatan prooksidan (ROS) dapat menyebabkan stress oksidatif bila tidak diimbangi oleh antioksidan secara memadai. Bila stress oksidatif terjadi pada saluran reproduksi maka dapat mengakibatkan penurunan fungsi spermatozoa. Oleh karena itu di dalam tubuh terdapat mekanisme pertahanan terhadap ROS yang meliputi antioksidan preventif dan antioksidan pemecah rantai reaksi. Antioksidan preventif meliputi glutathione peroksidase dan catalase, sedangkan antioksidan pemecah rantai terdiri dari SOD, asam urat, bilirubin, vitamin E, vitamin A, vitamin C, polifenol, dan CAPE,

dan melatonin. Sebelum pemberian antioksidan pada penderita infertile dengan fungsi spermatozoa yang buruk perlu ditetapkan dulu sumber primer penyebab peningkatan ROS. Meskipun demikian antioksidan langsung dapat diberikan pada pria yang mempunyai kualitas spermatozoa buruk jika menggunakan senyawa yang dapat meningkatkan ROS.

Daftar Pustaka

1. Aitken J. Oxidative stress in the male germ line and its role in the etiology of male infertility & genetic disease. *RBM online* 2003; 7, (1): 2003; 65 - 70
2. Swerdloff RS, Wang C. Causes of male infertility. In Snyder JP, Matsumoto AM, Martin KA. Eds. *Uptodate*, September; 2011
3. Muratori M, Luconi M, Marchiani S, et al. Molecular markers of human sperm functions. *International Journal of Andrology* 2008; 32: 25-45
4. Tunc O. Improvement in sperm DNA quality using an oral antioxidant therapy. *RBM online* 2009; 18 (6): 761 - 768
5. Auger J, Eustache F, Andersen AG *et al*. Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities. *Hum. Reprod.* 2001; 16: 2710 - 17.
6. Kenkel S, Rolf C, Nieschlag E. Occupational risks for male fertility: An analysis of patients attending a tertiary referral centre. *Int. J. Androl.* 2001; 24: 318-26.
7. Kefer JC, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology* 2009; 16: 449 - 57
8. Henkel R. The impact of oxidants on sperm function. *Journal Compilation*, Blackwell Publishing Ltd *Andrologia*, 2005; 37: 205-206
9. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress and male infertility. *Indian J Med Res* 2009; 129: 357 - 67
10. Kodama H, Kuribayashi Y, Gagnon C. Effect of sperm lipid peroxidation on fertilization. *J Andrology* 1996; 17 : 151-57. Cited from ref no. 9
11. Griveau JF, Dumont E, Renard P, Callegari JP, Le Lannou D. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa. *J Reprod Fétil* 1995; 103: 17-26.
12. Guyton & Hall. Volume Paru. In: fisiologi Kedokteran. Ed 9th penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta 1996; 604
13. Wilson RL. Free Radical Redox Chemistry and Antioxidants: From NAD and Vitamin C to CCl₄ and Vitamin E, to Thiols, Myoglobin, and Vitamin A and D. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU. *Free Radical: From Basic Science to Medicine*. Birkhauser Verlag, Switzerland 1993; 2-14
14. Devlin TM. Reactive Oxygen Species (ROS). In: Devlin TM *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation* Ed. 5th Willey-List New York 2002; 590 - 91
15. Agarawal A, Alamaneni SSR. Role of Free Radical in Female Reproductive Disease and Asisted Reproduction. *Reproductive BioMedicine Online* 2004; 9 (3): 338 - 3347
16. Pyari JS, Rekha S, Sing RK, Monica A. Free Radicals in Female Infertility. *J Obstet Gynecol India* 2006; 56, 1: 64 - 67

17. Niki E. Antioxidant Defens in Eukariotic Cells: an Overview. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU. Free Radical: From Basic Science to Medicine. Birkhauser Verlag, Switzerland 1993; 365 -71
18. Sikka SC. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem* 2001 ; 5 : 851 -62.
19. Darley-Usmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett* 1995; 369: 131-35.
20. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility, a clinical perspective. *Human reproduction update* 2008; 14: 243 - 58
21. Martinez P, Proverbio F, Camejo MI. Sperm lipid peroxidation and pro-inflammatory cytokines. *Asian J. Androl.* 2007; 9: 102-7.
22. Nandipati KC, Pasqualotto FF, Thomas AJ, Agarwal A. Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in vasectomy reversal patients. *Andrologia* 2005; 37: 131-4.
23. Rajasekaran M, Hellstrom WJ, Naz RK, Sikka SC. Oxidative stress and interleukins in seminal plasma during leukocytospermia. *Fertil. Steril* 1995; 64: 166-71.
24. Carrell DT, Liu L. Altered protamin2 expression in uncommon in donors of known fertility, but common among men with poor fertilizing capacity, and may reflect other abnormalities of spermatogenesis. *Journal of Andrology* 2001; 22: 604 - 10
25. Aoki VW, Moskovtev SI, Willis J, et al. DNA integrity is compromised in protamine deficient human sperm. *Journal of Andrology* 2005; 26: 741 - 48
26. Tarozzi N. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction. *Reproductive BioMedicine Online* 2007; 14: 746 - 59
27. Conrad M, Moreno SG, Sinowatz F, et al. The nuclear form of phospholipid hydrogenperoxide glutathion peroxidase is a protein thiol peroxidase contributing to sperm chromatin stability. *Molecular & cellular Biology* 2005; 25: 7637 - 44
28. Ramos L, van der Heijden GW, Derijck A, et al. Incomplete nuclear transformation of human spermatozoa in oligoasthenoteratozoospermia: characterization by indirect immunofluorescence of chromatin and thiol status. *Human Reproduction* 2008; 23: 259 - 70
29. Sakkas D, Seli E, Bizzaro D, et al. Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling during spermatogenesis. *Reproductive BIOMedicine Online* 2003; 7: 428 - 32
30. Smith R, Kaune H, Parodi D, Madariaga M, Rios R, Morales I, et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod* 2006; 21 : 986-93,
31. Chen SS, Huang WJ, Chang LS, Wei YH, 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in leukocyte DNA of spermatic vein as a biomarker of oxidative stress in patients with varicocele, *J Urol* 2004; 172: 1418-21
32. Schoor RA, Elhanbly SM, Niederberger C, The pathophysiology of varicocele-associated male infertility, *Curr UrolRep* 2001; 2 : 432-6,
33. Mitropoulos D, Delicostantinos G, Zervas A, et al. Nitric oxide synthase and xanthine oxidase activities in the spermatic vein of patients with

- varicocele: a potential role for nitric oxide and peroxynitrite in sperm dysfunction, *J Urol* 1996; 156 : 1952-58,
34. Romeo C, Ientile R, Santoro G, et al. Nitric oxide production is increased in the spermatic veins of adolescents with left idiopathic varicocele, *J Pediatr Surg* 2001; 36:289-93.
35. Allamaneni SS, Naughton CK, Sharma RK, et al. Increased seminal reactive oxygen species levels in patients with varicoceles correlate with varicocele grade but not with testis size. *Fertil Steril* 2004; 82 : 1684- 86,
36. Mostafa T, Anis TH, El-Nashar A, et al. Varicocelectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele, *Int J Androl* 200; 24: 261-65,
37. Koyu A, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Cesur G, Ozcelik N. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on oxidative stress in rat liver exposed to the 900 MHz electromagnetic field. *Toxicology and Industrial Health* 2009; 25: 429 - 34
38. Hlavackova L, Janega P, Cerna A, et al. Red Wine Polyphenol Affect the collagen Composition in the aorta after Oxidative Damage Induced by Chronic Administration of CCl₄. *Physiol Res* 2009; 58: 337 – 44
39. Lanzame F. Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reproductive BioMedicine Online* 2009; 19, 5: 638 - 59
40. Chabory E, Damon C, Lenoir A, et al. Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. *The Journal of Clinical Investigation* 2009; 119(7), 2074 – 85
41. Milczarek R, Hallmann A, Sokolowska E, et al. Melatonin enhances antioxidant action of α -tocopherol and ascorbate against NADPH- and iron dependent lipid peroxidation in human placental mitochondria. *J Pineal Res* 2010; 49, 149 - 53
42. Plessis SS, Hagenaar K, Lampiao F. The in vitro effects of melatonin on human sperm function and its scavenging activities on NO and ROS. *Andrologia* 2010; 42, 112 - 16
43. Agarawal A, Alamaneni SSR. Role of Free Radical in Female Reproductive Disease and Asisted Reproduction. *Reproductive BioMedicine Online* 2004; 9 (3): 338 – 3347
44. Pyari JS, Rekha S, Sing RK, Monica A. Free Radicals in Female Infertility. *J Obstet Gynecol India*. 56; (1). 2006. P. 64 - 67
45. Repacholi MH. Health Risk from the use of mobile phone. *Toxicol Lett* 2001; 120: 323 – 331.
46. Irmak MK, Fadillioglu E, Gullec M et al. Effect of electromagnetic radiation from a cellular phone on the oxidant and antioxidant level in rabbits. *Cell Biochem Funct* 20. 2002. P. 279 – 283.