

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Radikal Bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS)

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Clarkson and Thompson, 2000). Kebanyakan radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum menyatu dengan atom lain. Simbol untuk radikal bebas adalah sebuah titik yang berada di dekat simbol atom ($R\cdot$). ROS (*Reactive Oxygen Species*) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* ($O_2\cdot^-$), *hydroxyl radicals* ($OH\cdot$), dan *peroxyl radicals* ($RO_2\cdot$). Yang nonradikal misalnya *hydrogen peroxide* (H_2O_2), dan *organic peroxides* ($ROOH$) (Halliwell and Whiteman, 2004). Senyawa oksigen reaktif ini dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh misalnya pada proses oksidasi makanan menjadi energi. ROS yang paling penting secara biologis dan paling banyak berpengaruh pada sistem reproduksi antara lain *superoxide anion* ($O_2\cdot^-$), *hydroxyl radicals* ($OH\cdot$), *peroxyl radicals* ($RO_2\cdot$) dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2) (Tremallen, 2008). Bentuk radikal bebas yang lain adalah *hydroperoxyl*

(HO₂·), *alkoxyl* (RO·), *carbonate* (CO₃^{•-}), *carbon dioxide* (CO₂^{•-}), *atomic chlorine* (Cl·), dan *nitrogen dioxide* (NO₂·) (Halliwell and Whiteman, 2004).

2.2. Sistem Pertahanan Antioksidan dan Stres Oksidatif

Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah putih yang menghasilkan H₂O₂ untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun ia tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga ia juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, sehingga dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi, 2007). Namun tubuh diperlengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan untuk menangkal serangan radikal bebas atau oksidan sehingga dapat membatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Sistem pertahanan antioksidan ini antara lain adalah enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang terdapat di mitokondria dan sitosol, *Glutathione Peroxidase* (GPX), *Glutathione reductase*, dan *catalase* (Jackson, 2005, Singh, 1992). Selain itu terdapat juga sistem pertahanan atau antioksidan yang berupa mikronutrien yaitu β-karoten, vitamin C dan vitamin E (Hariyatmi, 2004). Sistem pertahanan ini bekerja dengan beberapa cara antara lain berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan, atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan senyawa oksigen reaktif, atau mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Winarsi, 2007). Namun dalam keadaan tertentu, produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif melebihi sistem pertahanan tubuh, kondisi yang disebut sebagai stres oksidatif (Agarwal *et*

al., 2005). Pada kondisi stres oksidatif, imbalan normal antara produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan antioksidan alami tubuh untuk mengeliminasi mengalami gangguan sehingga menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal, sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan jaringan ini juga tergantung pada beberapa faktor, antara lain: target molekuler, tingkat stres yang terjadi, mekanisme yang terlibat, serta waktu dan sifat alami dari sistem yang diserang (Winarsi, 2007).

2.3. Mekanisme Kerja Radikal Bebas, Peroksidasi Lipid, dan Malondialdehyde (MDA)

Penelitian yang ekstensif dengan menggunakan sistem model dan dengan material biologis *in vitro*, secara jelas menunjukkan bahwa radikal bebas dapat menimbulkan perubahan kimia dan kerusakan terhadap protein, lemak, karbohidrat, dan nukleotida. Bila radikal bebas diproduksi *in vivo*, atau *in vitro* di dalam sel melebihi mekanisme pertahanan normal, maka akan terjadi berbagai gangguan metabolik dan seluler. Jika posisi radikal bebas yang terbentuk dekat dengan DNA, maka bisa menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga bisa terjadi mutasi atau sitotoksitas. Radikal bebas juga bisa bereaksi dengan nukleotida sehingga menyebabkan perubahan yang signifikan pada komponen biologi sel. Bila radikal bebas merusak grup *thiol* maka akan terjadi perubahan aktivitas enzim. Radikal bebas dapat merusak sel dengan cara merusak membran sel tersebut. Kerusakan pada membran sel ini dapat terjadi dengan cara: (a) radikal bebas berikatan secara kovalen dengan enzim dan/atau reseptor yang

berada di membran sel, sehingga merubah aktivitas komponen-komponen yang terdapat pada membran sel tersebut; (b) radikal bebas berikatan secara kovalen dengan komponen membran sel, sehingga merubah struktur membran dan mengakibatkan perubahan fungsi membran dan/atau mengubah karakter membran menjadi seperti antigen; (c) radikal bebas mengganggu sistem transport membran sel melalui ikatan kovalen, mengoksidasi kelompok *thiol*, atau dengan merubah asam lemak *polyunsaturated*; (d) radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak *polyunsaturated* dinding sel. Radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksida-peroksida lipid akan terbentuk dalam rantai yang makin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel. (Sikka *et al.*, 1995). Peroksidasi ini akan mempengaruhi fluiditas membran, *cross-linking* membran, serta struktur dan fungsi membran (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008).

Mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu *malondialdehyde* (MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif. Pengukuran ini dilakukan dengan tes *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS *test*) (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008).

2.4. Produksi radikal bebas akibat latihan fisik

Radikal bebas dapat terbentuk selama dan setelah latihan oleh otot yang berkontraksi serta jaringan yang mengalami iskemik-reperfusi (Chevion *et al.*, 2003). Pembentukan radikal bebas terutama dihasilkan oleh otot rangka yang berkontraksi (Powers and Jackson, 2008). Selama melakukan latihan fisik maksimal, konsumsi oksigen tubuh meningkat dengan cepat. Penggunaan oksigen oleh otot selama latihan fisik maksimal dapat meningkat sekitar 100–200 kali dibandingkan saat istirahat (Chevion *et al.*, 2003). Saat fosforilasi oksidatif di dalam mitokondria, oksigen direduksi oleh sistem transport elektron mitokondria untuk membentuk adenosin trifosfat (ATP) dan air. Selama proses fosforilasi oksidatif ini sekitar 2% molekul oksigen dapat berikatan dengan elektron tunggal yang bocor dari karier elektron pada rantai pernafasan, sehingga membentuk radikal superoksida ($O_2^{\cdot -}$). Radikal superoksida yang terbentuk ini akan membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroksil reaktif (OH^{\cdot}) dengan cara berinteraksi dengan logam transisi reaktif seperti tembaga dan besi (Singh, 1992). Secara lengkap proses reduksi oksigen diperlihatkan pada reaksi berikut ini: (Clarkson and Thompson, 2000):

1. $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$ *superoxide radical*
2. $O_2^{\cdot -} + H_2O \rightarrow H_2O^{\cdot} + OH^-$ *hydroperoxyl radical*
3. $H_2O^{\cdot} + e^- + H \rightarrow H_2O_2$ *hydrogen peroxyde*
4. $H_2O_2 + e^- \rightarrow \cdot OH + OH^-$ *hydroxyl radical*

2.5. Vitamin E

Vitamin E pertama sekali ditemukan tahun 1922 dan merupakan vitamin yang larut dalam lemak (Burton, 1994). Vitamin ini secara alami memiliki 8 isomer yang dikelompokkan dalam 4 tokoferol (α , β , γ , δ) dan 4 tokotrienol (α , β , γ , δ). Bentuk vitamin E ini dibedakan berdasarkan letak berbagai grup metil pada cincin fenil rantai cabang molekul dan ketidakjenuhan rantai cabang (Burton, 1994; Brigelius-Flohe, 1999). α -tokoferol merupakan bentuk tokoferol yang paling aktif dan paling penting untuk aktivitas biologi tubuh, sehingga aktivitas vitamin E diukur sebagai α -tokoferol.

Vitamin E merupakan pemutus rantai peroksida lemak pada membran. Vitamin E mengendalikan peroksida lemak dengan menyumbangkan ion hidrogen ke dalam reaksi, sehingga mengubah radikal peroksil (hasil peroksidasi lipid) menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, menyekat aktivitas tambahan yang dilakukan oleh peroksida, sehingga memutus reaksi berantai dan bersifat membatasi kerusakan (Burton, 1994; Brigelius-Fohe, 1999).

Penelitian tentang efek antioksidan vitamin E pada hewan percobaan menggunakan berbagai dosis vitamin E berdasarkan berat badan hewan percobaan atau jumlah vitamin E yang dicampurkan dalam diet. Al-Enazi (2007) meneliti efek antioksidan α -tokoferol sebanyak 100 mg, 200 mg dan 400 mg/kg diet yang dicampurkan dalam pakan dan diberikan selama 5 minggu pada mencit betina dewasa yang mendapat stres panas. Hasilnya menunjukkan bahwa ketiga dosis tokoferol tersebut mampu mengatasi kondisi stres oksidatif pada fungsi reproduksi mencit betina tersebut yang ditandai dengan perbaikan siklus estrus,

peningkatan jumlah implantasi atau fetus, dan peningkatan kadar hormon progesteron. Rusdi *et al.*, (2005) mendapatkan adanya efek antioksidan dengan potensi yang sama antara ekstrak kayu secang, vitamin C, dan vitamin E pada jaringan hati mencit. Dalam hal ini pemberian vitamin E 2 mg/hari per oral selama 15 hari dapat melindungi jaringan hati dan meningkatkan Status Antioksidan Total yang diukur dalam jaringan hati mencit yang terpapar aflatoksin, yaitu toksin yang dihasilkan jamur *A. Flavus* dan *A. Parasiticus* yang dapat bertindak sebagai radikal bebas dan bersifat hepatotoksik. Wresdiyati *et al.*, (2002) melaporkan pemberian α -tokoferol dengan dosis 60 mg/kg/berat badan/hari selama tujuh hari pada tikus yang mendapat perlakuan stres yaitu dengan cara puasa selama 5 hari dan berenang selama 5 menit/hari menunjukkan peningkatan aktivitas SOD (*Superoxide Dismutase*) dan menurunkan kadar MDA dalam jaringan hati tikus. Verma *et al.*, (2001) mendapatkan pemberian vitamin E 2 mg/hari per oral selama 45 hari mampu meningkatkan aktivitas enzim *superoxide dismutase*, *glutathione peroxidase*, dan *catalase*, serta menurunkan kadar MDA testis mencit yang dipaparkan aflatoksin 25 g/hari per oral selama 45 hari.

2.6. Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan

Sistem reproduksi mencit jantan terdiri atas testis dan kantong skrotum, epididimis dan vas deferens, sisa sistem ekskretori pada masa embrio yang berfungsi untuk transport sperma, kelenjar asesoris, uretra dan penis. Selain uretra dan penis, semua struktur ini berpasangan (Rugh, 1968).

2.6.1. Testis

Setiap testis ditutupi dengan jaringan ikat fibrosa, tunika albuginea, bagian tipisnya atau septa akan memasuki organ untuk membelah menjadi lobus yang mengandung beberapa tubulus disebut tubulus seminiferus. Bagian tunika memasuki testis dan bagian arteri testikular yang masuk disebut sebagai hilus. Arteri memberi nutrisi setiap bagian testis, dan kemudian akan kontak dengan vena testiskular yang meninggalkan hilus (Rugh, 1968).

Epitel tubulus seminiferus berada tepat di bawah membran basalis yang dikelilingi oleh jaringan ikat fibrosa yang tipis. Antara tubulus adalah stroma interstisial, terdiri atas gumpalan sel Leydig ataupun sel sertoli dan kaya akan darah dan cairan limfe. Sel interstisial testis mempunyai inti bulat yang besar dan mengandung granul yang kasar. Sitoplasmanya bersifat eosinofilik. Diyakini bahwa jaringan interstisial mensintesis hormon jantan testosteron. Epitel seminiferus tidak hanya mengandung sel spermatogenik secara eksklusif, tetapi mempunyai sel nutrisi (sel Sertoli) yang tidak dijumpai di tubuh lain. Sel Sertoli bersentuhan dengan dasarnya ke membran basalis dan menuju lumen tubulus seminiferus. Di dalam inti sel Sertoli terdapat nukleolus yang banyak, satu bagian terdiri atas badan yang bersifat asidofilik di sentral dan sisanya badan yang bersifat basidofilik di perifer. Sel Sertoli diperkirakan mempunyai banyak bentuk tergantung aktivitasnya. Pada masa istirahat berhubungan dekat dengan membran basalis di dekatnya dan inti ovalnya paralel dengan membran. Sel Sertoli sebagai sel penyokong untuk metamorfosis spermatid menjadi sperma dan retensi sementara dari sperma matang, panjang, piramid dan intinya berada tegak lurus

dengan membran basalis. Sitoplasma dekat lumen secara umum mengandung banyak kepala sperma yang matang sedangkan ekornya berada bebas dalam lumen (Rugh, 1968).

2.6.2. Spermatogenesis

Sel germinal primordial mencit jantan muncul sekitar 8 hari kehamilan, dengan jumlah hanya 100, yang merupakan awal dari jutaan sperma yang akan diproduksi dan masih berada di daerah ekstra gonad. Karena sel germinal kaya akan alkaline fosfatase untuk mensuplai energi pergerakannya melalui jaringan embrio, maka sel germinal dapat dikenal dengan teknik pewarnaan. Pada hari ke 9 dan 10 kehamilan sebagian mengalami degenerasi dan sebagian lain mengalami proliferasi dan bahkan bergerak (pada hari ke 11 dan 12) ke daerah genitalia. Pada saat itu jumlahnya mencapai sekitar 5000 dan identifikasi testis dapat dilakukan. Proses proliferasi dan differensiasi berlangsung di daerah medulla testis. Pada kasus steril, kehilangan sel germinal berlangsung selama perjalanan dari bagian ekstra gonad menuju daerah genitalia. Menuju akhir masa fetus, aktivitas mitosis sel germinal primordial dalam bagian genitalia berkurang dan beberapa sel mulai degenerasi menjelang hari ke-19 kehamilan. Tidak berapa lama setelah kelahiran, sel tampak lebih besar, yaitu spermatogonia. Setelah itu akan ada spermatogonia dalam testis mencit sepanjang hidupnya. Ada 3 jenis spermatogonia : tipe A, tipe intermediate dan tipe B (Rugh, 1968).

Tipe A adalah induk *stem cell* yang mampu mengalami mitosis sampai menjadi sperma. Spermatogonia tipe A yang paling besar dan mengandung inti

kromatin yang mirip partikel debu halus dan nukleolus kromatin tunggal terletak eksentrik. Kromosom metafasanya panjang dan tipis. Dapat meningkat, melalui spermatogonia intermediate menjadi spermatogonia B yang lebih kecil, lebih banyak, dan mengandung inti kromatin serpihan kasar di atas atau dekat permukaan dalam membran inti. Terdapat plasmosom mirip nukleolus yang terletak di tengah. Kromosom metafase biasanya pendek, bulat, dan mirip kacang. Spermatogonia tipe B membelah dua untuk meningkatkan jumlahnya atau berubah menjadi spermatosit primer, lebih jauh dari membran dasar. Diperkirakan lamanya dari metafase spermatogonia menjadi profase meiosis sekitar 3 sampai 9 hari, menuju metafase kedua selama 4 hari atau kurang, dan menuju sperma imatur selama 7 hari atau lebih. Maka, waktu dari metafase spermatogonia menjadi sperma imatur paling sedikit 10 hari (Rugh, 1968).

Sel tipe A pertama kali muncul 3 hari setelah kelahiran. Ketika jumlahnya meningkat, sel germinal primordial yang merupakan asalnya dan kemudian berada di samping membran dasar, akan berkurang jumlahnya. Pembelahan meiosis dalam testis mulai 8 hari setelah kelahiran. Tanda pertama bahwa spermatogonia B akan metamorfosis menjadi spermatosit primer adalah pembesaran dan bergerak menjauhi membran dasar. Spermatosit primer membelah menjadi 2 spermatosit sekunder yang lebih kecil, yang kemudian membelah menjadi 4 spermatid. Mereka mengalami metamorfosis radikal menjadi sperma matur dengan jumlah yang sama, kehilangan sitoplasmanya dan berubah bentuk (Rugh, 1968).

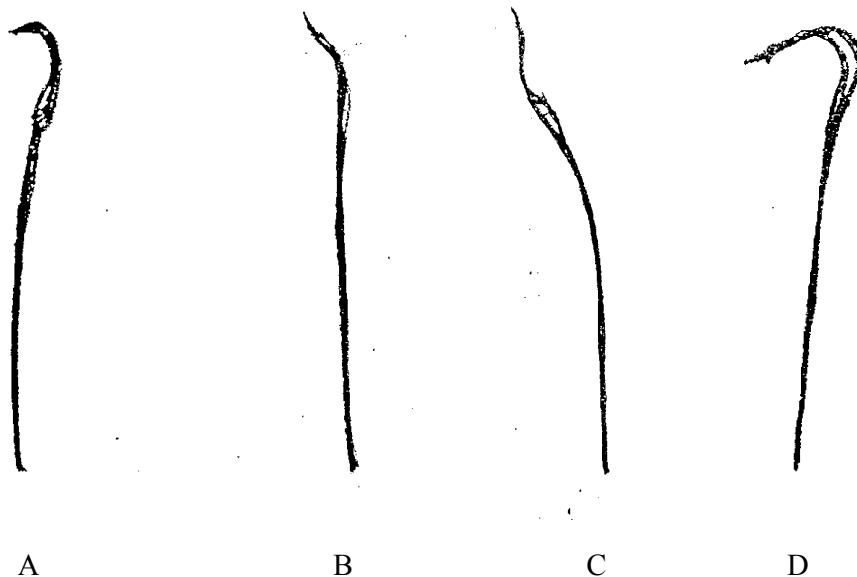
Antara tahap spermatosit primer dan sekunder, materi kromatin harus membelah. Sintesa premeiotik DNA terjadi di spermatosit primer selama fase istirahat dan berakhir sebelum onset profase meiosis, rata-rata selama 14 jam. Tidak ada pembentukan DNA terjadi pada tahap akhir spermatogenesis. Proses spermatogenesis mencit pada dasarnya sama dengan mamalia lain. Satu siklus epitel seminiferus selama 207 ± 6 jam, dan 4 siklus yang mirip terjadi antara spermatogonia A dan sperma matur. Testis dan khususnya sperma matur, merupakan sumber hyaluronidase terkaya, dan enzim ini efektif membubarkan sel cumulus sekitar ovum matur pada saat fertilisasi. Setiap sperma membawa enzim yang cukup untuk membersihkan jalan melalui sel cumulus menuju matriks sel ovum. Bahan asam hialuronik semen cenderung bergabung ke sel granulosa sel cumulus, agar kepala sperma dapat disuplai dengan enzim melimpah (Rugh, 1968).

2.6.3. Spermiogenesis

Tahap akhir dalam spermatogenesis adalah diferensiasi spermatid menjadi spermatozoa matang, disebut spermiogenesis. Dalam proses ini terjadi perubahan dramatis pada sperma yaitu perubahan bentuk sperma, namun tidak terjadi lagi pembelahan sel. Sel sperma mencapai karakteristik morfologinya dengan jelas dalam proses spermiogenesis. Adanya defek pada proses ini dapat mengakibatkan abnormalitas morfologi sperma (Yavetz *et al.*, 2001).

Sperma matang memiliki sebuah kepala, akrosom, bagian tengah dan ekor. Bagian kepala, terutama terdiri dari nukleus, yang mengandung informasi genetik

sperma. Akrosom, suatu vesikel berisi enzim di ujung kepala, digunakan sebagai “bor enzimatik” untuk menembus ovum. Akrosom dibentuk dari agregasi vesikel-vesikel yang dihasilkan oleh kompleks Golgi/retikulum endoplasma sebelum organel-organel ini dibuang. Mobilitas spermatozoa dihasilkan oleh ekor yang panjang. Pergerakan ekor dijalankan oleh energi yang dihasilkan oleh mitokondria yang terkonsentrasi di bagian tengah sperma (Sherwood, 2007). Ciri sperma normal yaitu mempunyai bentuk kepala seperti kait pancing dan ekor panjang lurus, Sedangkan sperma abnormal mempunyai bentuk kepala tidak beraturan, dapat berbentuk seperti pisang, atau tidak beraturan (amorphous), atau terlalu bengkok, dan ekornya tidak lurus bahkan tidak berekor, atau hanya terdapat ekornya saja tanpa kepala.



Gambar 3. Morfologi Sperma Mencit (Hayati *et al.*, 2005). Gambar A adalah sperma normal, dengan kepala seperti kait pancing, gambar B, C dan D adalah sperma abnormal (B = sperma dengan kepala seperti pisang, C = sperma tidak beraturan, dan D = sperma terlalu bengkok)

Pada manusia, spermatogenesis memerlukan waktu sekitar 64 hari, dari spermatogonia menjadi sperma matang dengan produksi sperma sekitar 30 juta sperma per hari sedangkan pada mencit proses ini berlangsung sekitar lima minggu (Rugh, 1968; Sherwood, 2007). Robb *et al.* (1978) melaporkan bahwa tikus jantan yang telah mencapai kematangan seksual memproduksi sekitar 24×10^6 sperma per gram testis per hari. Efisiensi spermatogenik pada mamalia, yang diukur melalui produksi sperma harian per gram testis bervariasi dari $2,65 \times 10^7$ pada kelinci, hingga lebih dari $1,9 \times 10^7$ sperma per gram testis per hari pada kebanyakan spesies lainnya (Peirce and Breed, 2001).

2.7. Efek Stres Oksidatif terhadap Fungsi Reproduksi Pria

Infertilitas pria merupakan masalah yang makin meningkat dalam dekade terakhir ini. Di beberapa negara menunjukkan gejala penurunan kualitas sperma yang cukup menyolok pada pria dewasa muda (Hinting, 1996). Di Australia, infertilitas pada pria mengenai 1 dari 20 laki-laki, dan 50 persen dari seluruh kasus infertilitas penyebabnya berasal dari pria (McLachlan dan de Kretser, 2001). Di Indonesia, angka kejadian infertilitas telah meningkat mencapai 15-20 persen dari sekitar 50 juta pasangan di Indonesia. Penyebab infertilitas sebanyak 40% berasal dari pria, 40% dari wanita, 10% dari pria dan wanita, dan 10% tidak diketahui (Hinting, 1996). Banyak faktor yang dapat mengakibatkan hal tersebut. Berbagai gangguan mulai dari masalah gangguan hormonal, stres fisik, sampai stres psikososial dapat menyebabkan infertilitas pada pria. Olahraga dengan intensitas tinggi merupakan salah satu contoh stres fisik yang dapat

mempengaruhi kualitas sperma. Kerusakan ini dimediasi oleh meningkatnya produksi ROS akibat latihan fisik dengan intensitas tinggi (Eliakim dan Nemet, 2006).

Sperma mamalia kaya akan asam lemak tidak jenuh ganda dan karena itu sangat rentan terhadap serangan ROS. Kemampuan ROS dalam menurunkan motilitas sperma melalui peroksidasi membran sel sperma yang diinduksi oleh ROS menyebabkan penurunan fleksibilitas dan pergerakan ekor sperma. Peroksidasi lipid membran sel sperma ini dapat terjadi secara enzimatis dan nonenzimatis. Secara enzimatis melibatkan enzim *NADPH-cytochrome P450 reductase* dan bereaksi dengan kompleks *perferryl* ($ADP-Fe^{3+}O_2^-$). Selain peroksidasi lipid, kerusakan langsung mitokondria sperma oleh ROS yang menyebabkan penurunan ketersediaan energi juga menyebabkan penurunan motilitas sperma (Tremallen, 2008).

ROS juga mampu secara langsung merusak DNA sperma dengan menyerang basa purin dan pirimidin. ROS juga dapat menginisiasi terjadinya apoptosis dalam sperma, menyebabkan aktifnya enzim-enzim *caspase* untuk mendegradasi DNA sperma (Tremallen, 2008).

Penelitian dengan menggunakan hewan percobaan tikus menunjukkan terjadi penurunan pada parameter sperma (Manna *et al.*, 2004), kerusakan dalam jaringan testis (Laksmi, 2010), peningkatan biomarker penanda stres oksidatif dalam jaringan testis (Manna *et al.*, 2003; Mishra *et al.*, 2005) akibat latihan fisik maksimal yaitu berenang sampai hampir tenggelam. Stres oksidatif yang terjadi pada fungsi reproduksi jika tidak dikoreksi pada akhirnya akan menimbulkan

gangguan dan bahkan dapat menyebabkan kemandulan atau infertilitas pada pria
(Sikka *et al.*, 1995)