

UJI VIABILITAS SPERMA PRIA PASANGAN INGIN ANAK PADA 3 MACAM MEDIUM

Erma Mexcorry* & Anna Maria D.**

Abstract

Technology of reproduction is very beneficial for infertile couples or persons with reproductive organ problem. Test of motility and viability sperms by using three mediums in order to determine the best medium for insemination process is one aspect of in vitro fertilization process. Sperm specimens analyzed using WHO criteria. Sperms used were sperms of normospermia criteria. Test were divided into 3 groups based on medium, that is group I : BWW + BSA, group II : BWW + calf serum, group III : BWW + white egg; examination were done step by step, BWW + BSA (1 hour); then BWW + calf serum, finally BWW + white egg. Sperms were observed and compared with SST results in some test medium group.

Statistical result by using correlation of Spearman'S shows there is no significant differences between médium BSA 10% : CS 10 % : white egg 1%, and between BSA 20 % : CS 20 % : white egg 20% and also between BSA 30 % : CS 30 % : white egg 30%.

PENDAHULUAN

Infertilitas merupakan masalah yang kompleks, tidak saja menyangkut bidang kedokteran, tetapi juga masalah sosial, budaya, ekonomi, pendidikan, hubungan antara keluarga, perkawinan, kejiwaan dan agama. Dengan demikian pemeriksaan dan pengobatan infertilitas merupakan tanggung jawab dari berbagai disiplin ilmu di masyarakat.

Tidak semua pasangan dapat melakukan proses reproduksi secara normal. Sebagian kecil di antaranya memiliki berbagai kendala yang tidak memungkinkan mereka memiliki ketu-

runan. Pada wanita, kendala ini dapat berupa hipofungsi ovarium, gangguan pada saluran reproduksi. Sedangkan pada pria, antara lain berupa abnormalitas spermatozoa, azoospermia, dan rendahnya kadar testosteron.^(1,4)

Manfaat teknologi reproduksi terutama dirasakan oleh pasangan-pasangan infertil atau orang-orang yang memiliki masalah kesehatan reproduksi. Oleh karena itu, kami ingin meninjau salah satu aspek dalam proses *in vitro fertilization (IVF)*, yaitu pengujian berbagai medium untuk motilitas dan viabilitas sperma. Dari pene-

* Dosen Bagian Histologi FK Ukrida

** Dosen Bagian Biokimia FK Ukrida

litian ini, diharapkan dapat dipilih medium terbaik dari 3 medium yang diuji untuk digunakan pada proses inseminasi.

Sebagian pasangan suami istri memiliki masalah infertilitas yang disebabkan berbagai faktor imunologis maupun non-immunologis. Gangguan fertilitas pria antara lain pada seminal plasmanya mengandung antibodi antisperma (autoantibodi), maka dicoba untuk mengganti seminal plasma dengan medium lain. Untuk uji motilitas dan viabilitas sperma dapat digunakan bermacam-macam medium dengan berbagai kelebihan dan kekurangan.

Ada perubahan pada motilitas dan viabilitas sperma pria pasangan ingin anak sesudah *sperm survival test (SST)* dalam medium yang berbeda.

Reproduksi manusia merupakan masalah pria dan wanita. Hal ini disebabkan proses fertilisasi melibatkan sperma dan ovum. Ditinjau dari pihak pria, semen terdiri dari sperma dan plasma semen. Semen yang dikeluarkan akan dapat ditentukan kualitasnya sehingga dapat digunakan untuk menilai tingkat kesuburannya.⁽⁶⁾

Infertilitas faktor pria dapat didefinisikan yaitu adanya masalah-masalah yang meliputi jumlah sperma rendah (< 20 juta/ml), motilitas sperma kurang dari 40 %, gerakan sperma berkelok-kelok atau sperma kurang mampu untuk penetrasi ke dalam sel telur.⁽⁷⁾

Ada sekitar 40% kasus-kasus infertilitas disebabkan oleh pria, dan 20% kasus infertilitas disebabkan oleh kombinasi faktor-faktor pria dan wanita. Infertilitas pria mungkin disebabkan oleh sejumlah faktor meliputi produksi sperma, transportasi sperma dan motilitas sperma juga

masalah-masalah anatomis, hambatan dari vas deferens dan infeksi.⁽³⁾

Analisis semen memberikan informasi mengenai produksi sperma dan motilitasnya yang berpotensi untuk fertilisasi, tetapi tidak dapat memberikan informasi mengenai kemampuan sperma untuk memfertilisasi sel telur.⁽⁹⁾

Lebih dari 90% infertilitas pria disebabkan jumlah sperma kurang dari 20 juta/ml, kualitas sperma yang rendah, atau keduanya. 30% - 40% dari kasus abnormalitas sperma merupakan sebab-sebab yang tidak diketahui. Produksi sperma abnormal dikategorikan dengan istilah: oligospermia (kurang dari 10 juta/ml semen), azoospermia (tidak ada sperma), dispermia (sperma dengan kualitas rendah), atau aspermia (tidak ada ejakulasi). Masalah umum produksi dan kualitas sperma dapat dijelaskan sebagai berikut ⁽⁷⁾ :

Kualitas sperma seringkali lebih signifikan daripada jumlah sperma. Motilitas sperma adalah kemampuan untuk bergerak. Jika motilitas lambat, berjalan tidak lurus, atau keduanya, sperma akan sukar melewati kanal serviks atau penetrasi ke dalam sel telur. Jika kurang dari 40% sperma dapat bergerak pada garis lurus, kondisi ini dianggap sebagai abnormal. Motilitas sperma dapat dipengaruhi oleh adanya infeksi-infeksi pada semen.

Menurut beberapa peneliti terdahulu penurunan kecepatan gerak spermatozoa disebabkan oleh beberapa faktor penghambat yang mungkin terdapat dalam plasma semen. Pencucian dengan beberapa media buatan, seperti BWW, dapat meningkatkan kecepatan gerak sperma. Peningkatan kecepatan gerak sperma

tersebut mungkin disebabkan faktor-faktor penghambat dalam plasma semen tersebut telah disingkirkan.⁽⁸⁾

Plasma semen di samping berperan sebagai media nutrisi juga sebagai media transpor yang memungkinkan pergerakan sperma ke traktus reproduksi wanita. Bilamana kondisi pada plasma semen ini berubah kental dan asam, maka akan menimbulkan hambatan khususnya terhadap kehidupan dan pergerakan sperma di dalam plasma semen. Untuk mempertahankan kehidupan dan pergerakan sperma normal, maka plasma semen tersebut perlu diganti dengan media lain yang dapat memberikan kondisi lebih baik (*favourable*).⁽⁸⁾

Pada proses pencucian sperma, sperma yang diejakulasi harus dicuci bersih dari seminal plasma untuk menjalani kapasitasi; hal ini diperlukan sebelum sperma dapat menjalani reaksi akrosom (AR) dan penetrasi zona pelusida. Larutan *Biggers Whitten & Withinghams* (BWW) selain dipakai sebagai medium pemisah spermatozoa dengan metoda *swim up* juga digunakan sebagai medium kapasitasi spermatozoa maupun pencuci spermatozoa.^(2, 8)

Morfologi mungkin lebih penting daripada jumlah atau motilitas sperma dalam menentukan kemampuan fertilitas. Bentuk sperma abnormal tidak dapat memfertilisasi sel telur. Sekitar 60% sperma seharusnya berukuran dan berbentuk normal untuk fertilisasi yang adekuat. Penentuan morfologi sperma merupakan bagian yang penting untuk keberhasilan *fertility treatments in vitro fertilization* (ART) dan *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Struktur yang sempurna adalah kepala oval dan ekor panjang.

Preparasi Sperma

Untuk melakukan inseminasi intra uterin (IUI), sperma pertama kali harus diproses atau dicuci. *Sperm washing* meliputi memisahkan sperma motil dari sperma mati, sel-sel terkontaminasi, debris dan kuman-kuman yang terdapat pada seminal plasma. Komponen-komponen ini biasanya difilter oleh serviks selanjutnya hanya sperma motil yang masuk uterus. Terdapat beberapa prosedur laboratorium yang digunakan untuk pencucian sperma. Semua prosedur bertujuan untuk menghasilkan produk akhir dengan jumlah sperma motil yang memadai. Hanya volume kecil dari sperma aktif yang digunakan.⁽⁹⁾

Agar dapat berfungsi dengan baik spermatozoa hasil ejakulasi harus dipisahkan dari plasma semen. Prostaglandin yang banyak terdapat dalam plasma semen dapat menyebabkan kontraksi rahim. Plasma semen mengandung beberapa substansi dan faktor-faktor yang dapat menurunkan kemampuan sperma membuahi, baik melalui gangguan motilitas sperma atau reaksi akrosom. Suatu reaksi yang sangat penting dalam menentukan kemampuan membuahi sperma, atau menghalangi kontak penetrasi sperma terhadap zona pelusida. Selain itu, plasma semen juga mungkin mengandung mikroorganisme atau substansi toksik limfosit yang dapat mengganggu proses fertilisasi.⁽⁵⁾

Tujuan pencucian sperma antara lain adalah untuk menghilangkan faktor-faktor penghambat motilitas dan viabilitas yang mungkin ada dalam plasma semen. Untuk itu, prosedur preparasi sperma pada prinsipnya harus mampu memisahkan spermatozoa dari plasma semen

dan kontaminan lainnya seperti sel-sel mati, sel-sel immature, leukosit dan bakteri. Hasil preparasi ini seminimal mungkin menghindari penurunan motilitas, viabilitas, dan morfologi bahkan menghasilkan sperma motil dengan morfologi normal dalam jumlah yang tinggi.⁽⁵⁾

BAHAN DAN METODE

Spesimen sperma diperoleh dengan masturbasi dan dimasukkan ke dalam botol spesimen. Sampel semen dianalisis menurut kriteria WHO (volume, jumlah dan motilitasnya). Analisis semen dilakukan oleh Bagian Biologi FKUI. Sperma yang digunakan adalah sperma dengan kriteria normospermia. Uji ini dibagi dalam 3 kelompok berdasarkan medium yang digunakan (Tabel 1).

Tabel 1
Pembagian kelompok medium

Kelompok 1	BWW +	BSA 10%	BSA 20%	BSA 30%
Kelompok 2	BWW +	Calf serum 10%	Calf serum 20%	Calf serum 30%
Kelompok 3	BWW +	Putih telur 1%	Putih telur 2%	Putih telur 3%

0,2 ml semen dimasukan ke dalam tabung sentrifus kemudian ditambahkan 0,4 ml medium dari masing-masing kelompok, dilakukan secara perlahan-lahan melalui dinding tabung. Pemeriksaan dilakukan bertahap, BWW + BSA 1 jam kemudian dilanjutkan dengan *calf serum*, yang terakhir BWW + putih telur. Kemudian diinkubasi 1 jam. Setelah itu sperma diamati di bawah mikroskop. Kemudian dibandingkan hasil SST (*survival sperm test*) pada beberapa kelompok medium uji.

HASIL DAN DISKUSI

Tabel 1
Pembagian kelompok medium

Sampel	Medium BSA						Medium Calf Serum						Medium Putih telur					
	10%		20%		30%		10%		20%		30%		1%		2%		3%	
	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati	Motil	Mati
1	97	0	54	0	367	0	37	0	116	0	44	0	13	0	9	0	36	0
2	126	165	60	58	75	174	28	31	100	24	23	253	50	89	48	134	42	118
3	41	38	15	22	86	111	17	132	43	370	0	187	30	164	24	75	25	75

Tabel 3
Rata-rata kecepatan sperma (n = 5 sperma)

Semen	No	Medium BSA			Medium Calf Serum			Medium putih telur		
		10%	20%	30%	10%	20%	30%	1%	2%	3%
I	1	7.5	6.5	6.5	9.5	8	9	4.5	5.6	5.5
	2	5	5.5	7.2	8.5	7	8.2	5.7	5.8	6.5
	3	6.5	7	6	6.7	8.5	9	5.3	9	7
	4	6	6.8	6.5	7	6.7	7	5.6	6.5	6.7
	5	5	5.6	5.5	5.8	6.5	6.4	7	7	6
	x	30	31.4	31.7	37.5	36.7	39.6	28.1	33.9	31.7
II	1	5.6	6.5	5.5	10	10	9	7	7.5	7.5
	2	5.6	7.5	6.3	11.7	10.2	12	8	7	6.5
	3	10	7	7.2	8.5	12	12	5.5	7	7
	4	7	8	7.2	9.5	12	13	12	6	5.5
	5	6.5	6.8	8.2	12	9	12	7.8	6	7.5
	x	34.7	35.8	34.4	51.7	53.2	58	40.3	33.5	34
III	1	5	12	6	6.8	6	4.8	3	6	5
	2	9	6	4.5	9.5	6.9	6	5	6	4.5
	3	7	6	6	6.2	6.3	7.3	4.5	4.5	5
	4	6	5	4.5	7.1	4.1	7	4.5	6	5.5
	5	8.5	7	8	8.5	7.5	6.5	6.5	4.5	5.5
	x	35.5	36	29	38.1	30.8	31.6	23.5	27	25.5

Dari hasil perhitungan statistik dengan korelasi Spearman's, menunjukkan bahwa antara media BSA 10% : CS 10% : putih telur 1%, dan BSA 20% : CS 20% : putih telur 20% serta antara BSA 30% : CS 30% : putih telur 3% tidak ada perbedaan bermakna. Hal ini berarti tidak ada perbedaan antara media BSA, CS dan putih telur pada ketiga tingkat konsentrasi dalam meningkatkan jumlah sperma yang hidup setelah pencucian sperma.

Pada perhitungan statistik dengan korelasi Spearman's, menunjukkan bahwa di antara media BSA 10% : BSA 20% : BSA 30% tidak

ada perbedaan bermakna di antara ketiganya. Hal ini berarti konsentrasi BSA (10%, 20%, 30%) tidak berpengaruh dalam meningkatkan jumlah sperma yang hidup setelah pencucian. Sedangkan pada media CS 10% : CS 20% : CS 30% terdapat perbedaan bermakna di antara ketiganya. Hal ini menunjukkan pada media calf serum konsentrasi yang paling baik adalah 20% seperti tampak pada tabel 4, dengan angka signifikan korelasi yaitu 0,008. Pada media putih telur 1% : 2% : 3%, hanya putih telur 1% : 3% yang berbeda bermakna.

KESIMPULAN & SARAN

Walaupun media BWW + (BSA, CS, putih telur) dapat dianggap telah memenuhi syarat untuk kehidupan dan pergerakan sperma. Tetapi kemungkinan akibat proses pencucian dengan medium yang telah dibuat lama (lebih dari 10 hari), telah mengubah pH dan banyak kuman/tidak steril lagi sehingga dapat menurunkan aktivitas sperma terutama kehidupannya (pada pengamatan banyak sperma yang mati).

Kecepatan sperma tidak dianalisis dengan statistik oleh karena pada pengamatan terakhir, banyak sperma yang sudah mati sehingga dianggap tidak mewakili kecepatan sperma pada sampel semen.

1. Tidak ada perbedaan bermakna antara medium BSA, *Calf serum* dan putih telur pada 3 macam tingkat konsentrasi.
2. Tidak ada perbedaan bermakna antara BSA 10% : 20% : 30%.
3. Di antara medium *Calf serum* 10% : 20% : 30% yang terbaik adalah CS 20%.
4. Pada medium putih telur hanya konsentrasi 1%: 3% yang berbeda bermakna.
5. Pada penelitian selanjutnya disarankan medium tidak terlalu lama disimpan, karena kemungkinan akan mengganggu viabilitas sperma (pH berubah dan tidak steril).

DAFTAR PUSTAKA

1. Berger, Goldstein, & Fuerst. 2002. International council on infertility information Dissemination. www.inciid.org/fact.html
2. Esteves dkk. Improvement in motion characteristics and acrosome status in cryopreserved human spermatozoa by swim up processing before freezing. **Human Reproduction** 2000 vol 15 (10): 2123-29.
3. Humpre, H.H. 2000. **Male factor infertility**. Michigan Reproductive and IVF Center. www.michiganivf.com/male.html
4. Malpani, A. & Anjali M. 2002. **The case of the man with a low sperm count. How to have a baby: overcoming infertility**. www.fertilethoughts.net/malpani/new/chap7.htm
5. Maze laboratory. 2001. *Sperm washing*. www.mazelabs.com
6. Nidus information services. 2001. **What are assisted reproductive technologies?** www.ucdmc.ucdavis.edu/
7. Peckham, C. 1999. **Infertility in men**. http://wellness.ucdavis.edu/medical_conditions_az/infertility/67.htm
8. Sahir, E. 1983. *Pengaruh pencucian dengan beberapa media buatan terhadap kecepatan gerak dan viabilitas sperma*. Tesis S2 Fakultas Pascasarjana UI, Jakarta.
9. Strong fertility and Reproductive Science Center. 2001. **Infertility in men**. www.stronghealth.com/services/womanshealth/ivf/infoseekers/infertilitymen.cfm