POTENSI ANTIBODI SPERMATOZOA TERHADAP SPERMATOGENESIS DAN FERTILISASI PADA TIKUS PUTIH

Indah Norma Triana

Bagian Reproduksi FKH Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRACT

The experiment was conducted the potential of antibody sperm to spermatogenesis and fertility of the male rat. Ten of rat testis have been used in this research, then crushed and added with 10 cc saline and then were filtrated and centrifuged 1800 rpm for ten minutes. Twenty four of the male rat divided in to four groups. Group I: injected with saline 0.1 cc/sc/day for 45 days; group II: injected with testis suspension 0.1 cc/sc/day for 15 days; group III: injected with testis suspension 0.1 cc/sc/days for 30 days; group IV: injected with testis suspension 0.1 cc /sc/days for 45 days. Then each of the male rat were mated with female, then the number of the total of pups were counted. Male rat were killed and testis were collected for preparation of histology and count of the spermatocyt and spermatid. The results show that the number of the spermatocyt and spermatid has significant different in the group and control ($p < 0.05$). The number of the pups significantly differet in the group and control ($p < 0.05$). Implication of this research was injected Antibodisperm on male rat can decrease of the number of spermatocyt, spermatid and the number of the pups.

Key words: antibody sperm, spermatogenesis, fertility

PENGANTAR

Antibodi terhadap sperma terbentuk karena adanya respons imun setelah penyuntikan ekstrak testis dan dapat bereaksi dengan spermatozoa dari spesies yang sama maupun dari spesies yang berbeda. Spermatozoa merupakan faktor utama yang menyebabkan ekstrak testis dapat digunakan sebagai imunogen. *Antibody Immunobilizing spermatozoa* dapat menyebabkan infertilitas baik pada laki-laki maupun pada wanita. Antibodi tersebut tidak hanya mengganggu proses migrasi spermatozoa di dalam saluran kelamin wanita, tetapi juga mengganggu berbagai tahap dalam proses fertilisasi. Antibodi terhadap spermatozoa selain memengaruhi reaksi kapasitasi pada waktu fertilisasi juga memengaruhi spermatogenesis (Hiroaki *et al.*, 1996).

Spermatozoa mempunyai sifat seperti antigen karena adanya autoantigen seperti *Spermatozoa Coating Antigen* (SCA), plasma membrane antigen, akrosomal antigen, sitoplasma, dan mitokondria antigen serta inti sel antigen. Spermatozoa mempunyai protein atau reseptor untuk ikatan dengan zona pelusida yaitu galaktosiltransferase, D manosidase, protein tyrosinkinase, dan lektin (Patricio, 1996). Menurut Albert, *et al.* (1994) ikatan spesifik spermatozoa pada zona pelusida dimediasi oleh molekul galaktosyltransferase pada permukaan kepala spermatozoa yang terikat pada O-linked oligosakarida pada ZP3 dari zona pelusida yang akan menginduksi proses reaksi akrosom pada spermatozoa berupa pelepasan isi akrosom secara eksositosis, hal ini berguna bagi spermatozoa untuk menembus zona pelusida. Pada proses reaksi akrosom terjadi proses eksositosis dari granula-granula di lapisan

membran spermatozoa yang berisi senyawa kimia yang mirip dengan tripsin yang penting untuk menembus zona pelusida (Deborah dan Patricia, 1992).

Imunisasi spermatozoa akan menginduksi produksi antibodi terhadap spermatozoa yang akan menyelubungi antigen pada kepala dan ekor spermatozoa yang akan mengganggu proses kapasitasi sehingga menghambat terjadinya reaksi akrosom, akibatnya kemampuan fertilisasi berkurang. Antibodi terhadap spermatozoa memengaruhi sistem reproduksi yaitu terhadap: spermatogenesis, transpor spermatozoa, daya tahan hidup spermatozoa, interaksi gamet dan daya tahan hidup embrio (Mach *et al.*, 1991; Zhengwei *et al.*, 1990). Pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa imunisasi ekstrak testis tikus pada mencit betina mampu menurunkan jumlah fetus dalam setiap kebuntingan hewan coba (Qatrina, 2000).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin meneliti potensi antibodi terhadap spermatozoa *claim* proses spermatogenesis dan fertilisasi pada tikus.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Sebagai hewan coba digunakan tikus putih jantan sebanyak 10 ekor untuk diambil testisnya, NaCl fisiologis, *Phosphat Buffer Saline* (PBS), 24 ekor tikus jantan, dan 24 ekor tikus betina untuk perlakuan.

Cara Kerja

Sebanyak 10 buah testis tikus putih jantan yang diambil dengan cara tikus jantan dikastrasi, kemudian testis

digerus, diencerkan dengan NaCl fisiologis sebanyak 10 ml selanjutnya disaring dan disentrifugasi dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit hingga terbentuk 3 lapisan yaitu lemak di bagian atas, cairan bening di tengah, dan endapan berwarna merah muda kemudian cairan bening ini ditambah dengan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) dan siap untuk disuntikkan pada hewan coba.

Tikus putih jantan yang berjumlah 24 ekor dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Kelompok kontrol (PO) tikus sebanyak 6 ekor disuntik dengan NaCl fisiologis 0,1 ml/sc/hari selama 45 hari; Kelompok I (P1) tikus sebanyak 6 ekor disuntik dengan suspensi 0,1 ml/sc/hari selama 15 hari. Kelompok II (P2) tikus sebanyak 6 ekor disuntik dengan suspensi 0,1 ml/sc/hari selama 30 hari. Kelompok III (P3) tikus sebanyak 6 ekor disuntik dengan suspensi 0,1 ml/sc/hari selama 45 hari. Selanjutnya masing-masing tikus pada tiap kelompok dikawinkan dan dihitung jumlah anak yang dilahirkan, kemudian tikus jantan tersebut dibunuh untuk diambil testisnya selanjutnya dibuat preparat histologi dan dihitung jumlah sel spermatosit dan spermatidnya, diperiksa dengan mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

Data yang diperoleh dianalisis dengan F hitung, bila terdapat perbedaan antara perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT 5% (Santoso dan Fandy, 1992).

HASIL

Setelah tikus putih jantan perlakuan disuntik dengan ekstrak testis dikawinkan dengan tikus putih betina, kemudian tikus putih jantan dibunuh dan testisnya dibuat preparat histologi dan dihitung jumlah sel spermatosit dan spermatidnya. Hasil pada (P3) menunjukkan jumlah yang terendah. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata jumlah spermatosit dan spermatid

Perlakuan	rerata spermatosit (%)	Rerata spermatid (%)
Po	248,88 ± 17,52 ^a	285,33 ± 20,54 ^a
P1	214,66 ± 13,90 ^b	215,89 ± 10,85 ^b
P2	52,22 ± 14,38 ^c	166,50 ± 13,13 ^c
P3	109,66 ± 17,94 ^d	125,99 ± 5,9 ^d

Angka dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan: PO : kelompok kontrol
P1 : kelompok perlakuan I
P2 : kelompok perlakuan II
P3 : kelompok perlakuan III

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa jumlah spermatosit yang terendah adalah P3 (selama 45 hari).

Dengan analisis statistik antara kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Jumlah spermatid yang terendah adalah P3 (perlakuan selama 45 hari). Dengan analisis statistik antara kelompok perlakuan dan kontrol terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Hasil jumlah anak yang dilahirkan dari tikus putih betina yang telah dikawinkan dengan tikus putih jantan yang mendapat perlakuan penyuntikan ekstrak testis dapat dilihat pada Tabel 2.

Table 2. Rerata jumlah anak yang dilahirkan

Perlakuan	Rerata anak yang dilahirkan
Po	10,83 ± 1,33 ^a
P1	8,5 ± 0,55 ^b
P2	5,17 ± 1,33 ^c
P3	1,17 ± 1,33 ^d

Angka dengan huruf berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan: PO : kelompok kontrol
P1 : kelompok perlakuan I
P2 : kelompok perlakuan II
P3 : kelompok perlakuan III

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah anak yang paling sedikit adalah P3 (perlakuan selama 45 hari). Dengan analisis statistik antara kelompok perlakuan dan kontrol terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Respons imun dalam tubuh mencakup semua mekanisme fisiologis yang membantu tubuh untuk mengenal benda-benda asing, untuk menetralkan dan memetabolisme benda asing tersebut dengan tanpa ada kerusakan pada jaringannya sendiri, tetapi tidak semua antigen menimbulkan respons imun. Respons imun yang timbul tergantung pada dosis, waktu pemberian, dan sifat antigen (Baratawidjaya, 1998).

Hasil yang didapat dari penelitian ini menunjukkan bahwa tikus jantan yang disuntik dengan ekstrak testis selama 45 hari memiliki jumlah spermatosit dan jumlah spermatid paling rendah. Hal ini disebabkan karena waktu pemberian yang lama dan sifat antigen (auto-antigen) sehingga antibodi terhadap spermatozoa yang ditimbulkan memengaruhi proses spermatogenesis. Mach *et al.* (1991) menyatakan bahwa antibodi terhadap spermatozoa dapat mempengaruhi sistem reproduksi terhadap spermatogenesis, transportasi spermatozoa, dan daya tahan hidup spermatozoa.

Antigen bisa terdapat pada tempat-tempat yang berlainan pada permukaan spermatozoa dan efeknya terhadap sistem reproduksi juga bermacam-macam. Autoimun dapat menyebabkan aspermia (tidak ada spermatozoa), oligospermia (jumlah spermatozoa sedikit) atau kelainan dari jumlah maupun morfologi spermatozoa.

Pada penelitian ini, didapatkan jumlah anak yang dilahirkan berkurang pada kelompok perlakuan atau pada P3 ada tikus betina yang tidak beranak sama sekali. Hal ini disebabkan imunisasi spermatozoa akan menginduksi produksi antibodi terhadap spermatozoa yang akan menyelubungi antigen pada kepala dan ekor spermatozoa yang akan mengganggu proses kapasitasi sehingga menghambat terjadinya reaksi akrosom akibatnya berpengaruh pada kemampuan fertilisasi spermatozoa. Menurut Maslich (1992) antibodi terhadap spermatozoa memengaruhi kapasitasi spermatozoa, reaksi akrosom, *binding* spermatozoa atau penetrasi spermatozoa ke dalam zona pelusida, fusi spermatozoa dan sel telur atau pembelahan zigot. Antibodi terhadap spermatozoa dapat bereaksi dengan antigen determinan pada embrio dan menghalangi implantasi atau menyebabkan abortus spontan setelah terjadi implantasi. Hal tersebut di atas sesuai dengan pendapat Hill (1993) yaitu adanya respons imun yang ditimbulkan karena adanya produksi sitokin yang dihasilkan oleh sel T yang diaktivasi oleh makrofag. Sitolin tersebut antara lain IFN- ψ dan TNF- α yang diproduksi oleh Th 1 yang akan menghambat motilitas spermatozoa dan perkembangan embrio. Sementara itu Th 2 juga memproduksi IL 1, IL 2, IL 6, dan IL 8 di mana aktivitas IL 1 diatur oleh konsentrasi hormon steroid. Sitolin tersebut akan memengaruhi steroidogenesis, spermatogenesis dan fungsi spermatozoa (Nabet *et al.*, 1997).

Implikasi dari penelitian ini menunjukkan bahwa spermatozoa yang berasal dari ekstrak testis tikus putih dapat digunakan sebagai bahan bioaktif untuk kontrasepsi.

KEPUSTAKAAN

- Albert B Bray D, Lewis. J dan Raff M, 1994. *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, New York, London, 132–136.
- Baratawidjaja KG, 1998. *Imunologi Dasar*. Edisi Ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Deborah JB dan Patricia MS, 1992. *Molecular Mechanisms of Fertilization and Action of Development*. *Animal Reproduction Science*. 28: 79–86.
- Hiroaki S, Yoshiyuki T, Koji Y, 1996. Production of Human Sperm Immobilizing Antibodies in Severe Combined Immunodeficient (SCID) Mice Reconstituted with Human Peripheral Bloodlymphocytes from Infertile Women. *American Journal of Reproductive Immunology*. 34: 271–284.
- Hill JA, 1993. Production and Effect of Cytokines on Local Immuno Endocrine Reproductive event in Female Reproductive Tract. In *Local Immunity in Reproductive Tract Tissue*. Edited by PD Griffin and PM Johnson Oxford University Press.
- Maslich D, 1992. Peranan Antibodispennatozoa terhadap Timbulnya Infertilitas pada Pria. Laporan Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Mach SR, Zaneveld LJD, De Jounge CJ dan Anderson RA, 1991. Human Sperm Capacitation and the Acrosom Reaction *Journal Human Reproduction* 6: 1265–1274.
- Nabet P, Brigitte D, Hussenet F, Daudin M, Bujan L, Foliquet B, 1997. Parameters and Blood Hormonal Status in Yale. *Infertility Human Reproduction* 12(7): 1476–1479.
- Qatrina BW, 2000. Pengaruh Pemberian Estrak Testis Tikus (*Ratus norwegius*) Terhadap Fertilitas Mencit Betina (*Mus musculus*).
- Santoso S dan Fandy T, 2001. Riset Pemasaran Konsep dan Aplikasi dengan SPSS. PT Gramedia Jakarta.
- Zhengwei Y, Nigel GW dan David MK, 1990. A Quantitative Study of Spermatogenesis in the Developing Rat Testis. *Journal Biology Reproduction*. 43: 629–635.

Reviewer: **Prof. Dr. Win Darmanto, MSi., Ph.D.**