

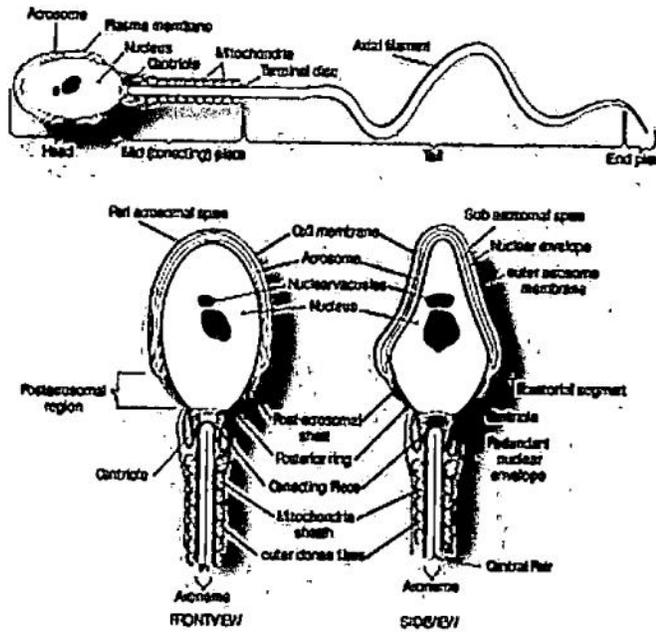
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sperma

1. Definisi

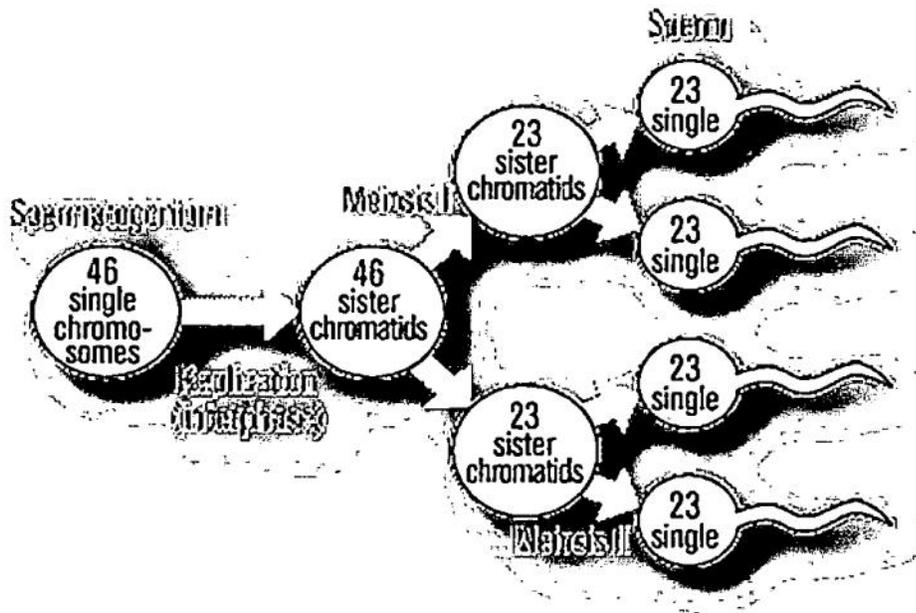
Sperma atau spermatozoon adalah sel germinal jantan matang, hasil khusus testis. Ini merupakan unsur generatif semen yang mengadakan fertilisasi ovum dan mengandung informasi genetik untuk dihantarkan ke zigot. Spermatozoa terdiri dari kepala (atau inti), leher, bagian tengah, dan ekor dengan bagian ujung. Spermatozoa yang dibentuk dalam tubulus seminiferus berasal dari spermatogonia yang pertama kali berkembang menjadi spermatosit, kemudian mengalami meiosis untuk menghasilkan spermatid, spermatid kemudian berdiferensiasi menjadi spermatozoa (Dorland, 2000). Sperma merupakan hasil dari spermatogenesis yang terjadi di tubulus seminiferus selama masa seksual aktif yang diakibatkan karena adanya rangsangan dari hormon gonadotropin hipofisis anterior yang dimulai pada usia sekitar 13 tahun dan akan terus berlangsung sepanjang hidupnya (Guyton, 2003).



Gambar 1. Spermatozoon Manusia

2. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses dimana spermatogonia berkembang menjadi spermatozoa yang matur. Proses ini terjadi di testis dan epididimis dan biasanya berlangsung selama 64 hari. Proses spermatogenesis dimulai saat pubertas dan berlanjut tanpa terganggu sampai mati, meskipun biasanya seiring dengan bertambahnya usia, terjadi sedikit penurunan dalam kuantitas produksi sperma. Keseluruhan prosesnya dapat dibagi menjadi beberapa tahap:



Gambar 2. Proses Spermatogenesis

a. Spermatositogenesis

Merupakan proses gametogenesis pada pria yang menghasilkan spermatisit yang membawa setengah dari komponen genetik normal. Pada spermatositogenesis, spermatogonium yang diploid membelah secara mitosis menjadi sel intermediet yang diploid yang disebut spermatisit primer. Setiap spermatisit primer menduplikasi DNA-nya dan kemudian melakukan meiosis I untuk menghasilkan 2 sel haploid spermatisit sekunder.

Setiap pembelahan dari spermatogonium menjadi spermatid yang belum lengkap terlihat dihubungkan satu sama lain dengan jembatan sitolasma yang menjaga pembelahan agar tetap sinkron.

b. Spermatidogenesis

Spermatidogenesis merupakan pembentukan spermatid dari spermatosis sekunder. Spermatosit sekunder yang telah dihasilkan memasuki tahap meiosis II dan membelah untuk memproduksi spermatid haploid. Karena tahap ini sangat pendek, maka jarang sekali terlihat pada preparasi histologi.

c. Spermogenesis

Selama tahap spermogenesis, spermatid mulai menumbuhkan ekor dan mengembangkan bagian tengah yang tebal dimana mitokondria mengumpul dan membentuk aksonema. Spermatid DNA mulai bersatu menjadi lebih tebal. DNA pertama kali menyatu dengan protein nuclear dasar yang secara bertahap digantikan dengan protamin pada saat elongasi spermatid. Kromatin yang ada secara transkripsional tidak aktif. Apparatus Golgi yang mengelilingi nukleus yang berkondensasi, menjadi akrosom. Salah satu dari sentriol dari sel berelaborasi dan menjadi ekor dari sperma.

Pematangan terjadi, menghilangkan sitoplasma dan organella yang tidak dibutuhkan. Sitoplasma yang berlebih, dikenal dengan *residual bodies*, difagosit oleh sel Sertoli yang mengelilingi testis. Spermatozoa tersebut telah matur namun tidak motil, menyebabkannya steril. Kemudian spermatozoa yang telah matur

tersebut dilepaskan dari perlindungan sel Sertoli ke dalam lumen tubulus seminiferus, proses ini disebut **spermiasi**.

Spermatozoa yang non-motil tersebut ditransportasikan ke epididimis dalam cairan testikular yang disekresi oleh sel sertoli dengan bantuan kontraksi peristaltik. Dalam epididimis, spermatozoa tersebut menjadi mendapatkan motilitas dan menjadi mampu untuk fertilisasi (Anonim, 2008).

B. Infertilitas Faktor Pria

Infertilitas oleh karena faktor pria merupakan salah satu dari etiologi infertilitas yang memiliki prevalensi yang cukup tinggi walaupun masih di bawah prevalensi dari gabungan penyebab infertilitas dari faktor wanita. serta dari *unexplained infertility*.

Tabel 1. Penyebab Infertilitas

Etiologi	Prevalensi Relatif (%)
Faktor Pria	25-40
Faktor Pria dan Wanita	10
Faktor Wanita	40-55
<i>Unexplained Infertility</i>	10

(Berek, Jontahan S, 2002)

Normalnya fertilisasi berlokasi di dalam tuba uteri setelah ovulasi terjadi. Selama pertengahan siklus menstruasi, mucus serviks berubah menjadi lebih banyak, menipis, dan lebih cair. Perubahan tersebut adalah untuk memfasilitasi

masuknya sperma ke dalam uterus dan melindungi sperma dari sekret vagina yang sangat asam. Perubahan fisiologis pada spermatozoa yang disebut kapasitansi terjadi di dalam traktus reproduksi wanita untuk mendukung terjadinya fertilisasi. Saat sel sperma berinteraksi dengan ovum, terjadi inisiasi pergerakan flagel baru yang disebut hiperaktivitas motilitas dan perubahan morfologi pada sperma yang menyebabkan pelepasan enzim litik dan paparan terhadap bagian struktur sperma yang disebut **reaksi akrosom**. Akibat dari perubahan tersebut, sperma dapat mencapai oosit, menembus lapisan-lapisannya, dan masuk ke dalam ooplasma dari ovum (Anonim, 2007).

Pada gangguan fertilitas pada pria, terdapat banyak kausa yang menyebabkan spermatozoa tidak dapat mencapai ovum sehingga tidak memungkinkan terjadinya fertilisasi secara normal. Secara umum, penyebab dari infertilitas faktor pria dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

1. Tidak adanya sperma (azoospermia), terjadi pada sekitar 3-4% dari infertilitas faktor pria.
2. Jeleknya kuantitas sperma (oligospermia) atau kualitasnya, misalnya rendahnya motilitas sperma (asthenozoospermia) atau tingginya persentasi sperma abnormal (teratozoospermia), adanya antibody antisperma, dan lain-lain. Hal ini terjadi pada 90% dari infertilitas faktor pria.
3. Disfungsional sperma, dimana pada semen analisis memberikan hasil normal namun sperma tersebut kurang atau terdapat defek dalam kapasitas

fertilisasinya, menyebabkan kegagalan total fertilisasi. Terjadi pada 3-6% infertilitas faktor pria.

4. Ketidakmampuan untuk ejakulasi ke dalam vagina. Hal ini terjadi pada sekitar 4-6% dari infertilitas faktor pria (Anonim, 2005).

Selain itu, secara anatomis, etiologi dari infertilitas faktor pria dapat dikelompokkan berdasarkan lokasinya, yaitu pre-testikular dan post-testikular.

Tabel 2. Etiologi Dalam Infertilitas Faktor Pria

Pre Testicular	Post Testicular	Testicular
Endokrin <ul style="list-style-type: none"> ○ Hipogonadotropik Hipogonadisme Kelainan Koitus <ul style="list-style-type: none"> ○ Disfungsi Ereksi <ul style="list-style-type: none"> - Psikoseksual - Endokrin, neural, atau vaskular ○ Kegagalan Ejakulasi <ul style="list-style-type: none"> - Psikoseksual - Post operasi genitourinary - Neural - <i>Drug related</i> 	Obstruktif <ul style="list-style-type: none"> ○ Epididimal ○ Kongenital ○ Infektif Vasal <ul style="list-style-type: none"> ○ Genetik : Fibrosis Kistik ○ Acquired : Vasektomi <i>Epididymal Hostility</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ Asthenozoospermia epididimal Infeksi Glandula Aksesorius <ul style="list-style-type: none"> ○ Idiopatik Post vasektomi	Genetik <ul style="list-style-type: none"> ○ Klinefelter's Syndrome ○ <i>Y Chromosome Deletion</i> ○ <i>Immotile Cilia Syndrome</i> Kongenital <ul style="list-style-type: none"> ○ Kriptorchidisme Infektif (Orchitis) Agen antispermatogenik <ul style="list-style-type: none"> ○ Panas ○ Kemoterapi ○ Obat-obatan ○ Irradiasi Vaskular <ul style="list-style-type: none"> ○ Torsi ○ Varikokele Immunologis Idiopatik

(Berek, Jonathan S, 2002)

Tabel 3. Frekuensi Etiologi Infertilitas Faktor Pria

Kausa	Frekuensi
Tanpa penyebab yang jelas	48.5
Semen abnormal yang idiopatik	26.4
Varikokele	12.3
Faktor Infeksius	6.6
Faktor Immunologis	3.1
Faktor Trauma Lain	2.6
Faktor Kongenital	2.1
Faktor Seksual	1.7
Gangguan Endokrin	0.6
	103.9
Varikokele	37.4
Idiopatik	25.4
<i>Testicular Failure</i>	9.4
Obstruksi	6.1
Kriptorchidisme	6.1
Volume semen sedikit	4.7
Aglutinasi semen	3.1
Viskositas semen	1.9
Lain-lain	5.9
	100

(Berek, Jonathan S, 2002)

Dari berbagai penyebab tersebut, salah satu yang akan dibicarakan adalah mengenai adanya antibody antisperma. Antibodi antisperma ini dapat diperiksa dengan menggunakan *Immunobead method* atau dengan *Mixed Antiglobulin Reaction Test* (MAR Test).

C. Pemeriksaan Ketahanan Hidup Sperma (SPERST)

Sperm Survival Test atau Tes Ketahanan Hidup Sperma adalah tes yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan sperma untuk dapat bertahan hidup di dalam media yang dibuat menyerupai lingkungan hidupnya. Dan untuk pengambilan sampel dilakukan dengan tata cara yang telah ditentukan.

Sebelum sampel diambil, penderita diberi penjelasan tertulis tentang tatacara pengumpulan dan membawa semen ke tempat pemeriksaan. Semen diambil setelah abstinensi sedikitnya 48 jam dan tidak lebih lama dari tujuh hari. Nama, masa abstinensi, dan waktu pengambilan dicatat pada formulir yang dilampirkan pada setiap semen yang akan dianalisis. Untuk evaluasi awal, dilakukan pemeriksaan dua sediaan. Waktu antara kedua pemeriksaan tersebut bergantung pada keadaan setempat, tetapi tidak boleh kurang dari tujuh hari atau lebih dari tiga bulan. Semen diantar ke laboratorium dalam waktu satu jam sesudah dikeluarkan. Semen sebaiknya diperoleh dengan cara masturbasi dan ditampung dalam botol kaca bermulut lebar. Semen dilindungi dari suhu yang ekstrim selama pengangkutan ke laboratorium (suhu antara 20-40°C) (Hermawanto & Hadiwidjaja, 2007).

Sebelum dilakukan pemeriksaan, perlu dilakukan beberapa persiapan terhadap sampel sperma tersebut. Sebelumnya sperma perlu dilakukan pencucian untuk menghilangkan beberapa hal yang nantinya akan mengganggu pemeriksaan. Pencucian sperma ini dilakukan dengan menggunakan metode *Swim Up*, dimana pada metode ini dilakukan dengan cara:

1. Masukkan 1 ml sperma ke dalam tabung sentrifus
2. Tambahkan 4 ml medium kultur, campurkan
3. Sentrifugasi pada 500 g selama 10 menit, kemudian buang supernatan
4. Campur kembali pellet dengan 4 ml medium kultur

5. Sentrifugasi pada 250 g selama 5 menit, kemudian buang kembali supernatan
6. Dengan hati-hati tambahkan 1 ml medium kultur di atas pellet. Alternative lain, campurkan pellet dengan 300 μ l medium kultur dan dengan hati-hati letakkan di dasar tabung yang telah berisi 500 μ l medium kultur.
7. Letakkan tabung dengan posisi miring 45°, kemudian inkubasikan pada 37°C selama 1 jam
8. Dengan hati-hati aspirasi cairan bagian atas sebanyak 500 μ l dan masukan dalam tabung yang baru, campur (WHO, 1999).

Setelah pencucian sperma, lalu sperma dimasukkan ke dalam inkubator yang kemudian di diamkan selama 24 jam dan 48 jam. Pada 24 jam pertama setelah didiamkan sperma diperiksa di bawah mikroskop yang kemudian dilihat ketahanan hidupnya. Setelah itu kemudian didiamkan kembali selama 24 jam kedua yang kemudian dicek kembali angka ketahanannya.

Teknik pemisahan sperma yang ideal adalah :

1. Harus cepat, mudah, dan murah
2. Mengisolasi sebanyak mungkin spermatozoa yang motil
3. Tidak menyebabkan kerusakan sperma atau perubahan non-fisiologikal pada sel sperma yang dipisahkan
4. Mengeliminasi spermatozoa yang mati dan sel lain, termasuk leukosit dan bakteri

5. Mengeliminasi toksik atau substansi bioaktif seperti faktor dekapasitasi atau oksigen reaktif
6. Dilanjutkan dengan pemrosesan volume ejakulat yang lebih besar (Henkel RR, Schill WB, 2003).

Sayangnya tidak ada satupun metode yang memenuhi keseluruhan syarat tersebut. Inti dari preparasi sperma ini adalah melakukan seperti yang akan dilakukan oleh serviks dan mukus serviks terhadap semen ejakulasi. Pemisahan seminal plasma penting untuk dilakukan sebab di dalam cairan tersebut mengandung prostaglandin yang apabila diinseminasi ke dalam kavitas uterus akan menyebabkan stimulasi kontraksi uterus yang sangat kuat dan menyakitkan. Lebih jauh lagi, beberapa substansi di seminal plasma menyebabkan stabilisasi membrane sperma dan mencegah kapasitasi (Van der Ven *et al*, 1982).

Teknik pemisahan sperma yang paling banyak digunakan saat ini dapat dibedakan menjadi :

Tabel 4. Perbandingan Metode Pemisahan Sperma

Metode	Manfaat	Kerugian
<i>Swim Up</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Mudah dilakukan - Murah - Biasanya mengembalikan fraksi yang sangat bersih dari spermatozoa yang sangat motil 	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak boleh dilakukan untuk ejakulat dengan motilitas dan hitungan sperma yang tinggi - Hasil produksi sperma yang sedikit - Spermatozoa dapat rusak oleh grup oksigen reaktif - Penurunan signifikan dari persentasi konsentrasi kromatin normal spermatozoa
<i>Density Gradient Centrifugation</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Fraksi bersih spermatozoa yang sangat motil - Spermatozoa dari ejakulat yang memiliki densitas rendah dapat dipisahkan - Produksi bagus - Dapat mengeliminasi leukosit dalam jumlah yang besar - Oksigen reaktif berkurang signifikan 	<ul style="list-style-type: none"> - Menciptakan interfase yang baik diantara media yang berbeda cukup memakan waktu - Sedikit lebih mahal - Berpotensi terhadap resiko endotoksik
<i>Glass Wool Filtration</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Mudah untuk dikerjakan - Normalnya mengembalikan spermatozoa dengan motilitas yang bagus - Spermatozoa dari ejakulat yang memiliki densitas rendah dapat dipisahkan - Produksi bagus - Leukosit dapat dipisahkan dalam jumlah yang besar - Grup oksigen reaktif berkurang secara signifikan 	<ul style="list-style-type: none"> - Sedikit lebih mahal - Filtratnya tidak sebersih metode pemisahan sperma yang lain - Debris tersisa sedikit

(Henkel RR, Schill WB, 2003)

Teknik preparasi yang ideal adalah yang dapat menghasilkan sperma motil yang terbanyak dalam kultur medium fisiologis yang bebas dari cairan seminal plasma, leukosit, dan bakteri (Pardo&Bancells, 1989). Meskipun tidak ada batasan tertentu dari konsentrasi sperma untuk memungkinkan terjadinya kehamilan, namun kebanyakan konsepsi yang terjadi adalah dengan jumlah konsentrasi sperma motil yang diinseminasi $> 1000.000/\text{mL}$.

D. Antibodi Antisperma

1. Pengertian

Kelainan pada sistem imun dapat menyebabkan kegagalan reproduksi pada berbagai tahapan proses reproduksi yang berbeda : *unexplained infertility*, kegagalan IVF atau ICSI berulang, dan keguguran berulang.

Sistem imun terdiri dari sel imun dan sel produk (sitokin). Diantara banyak jenis sel imun, terdapat dua diantaranya yang berkaitan dengan infertilitas, kegagalan implantasi berulang, dan keguguran berulang. Sel tersebut adalah CD 56 (sel NK) yang memproduksi sitokin termasuk TNF- α dan CD 19 yang memproduksi antibody terhadap hormon-hormon, misalnya hCG, progesterone, dan sebagainya.

Antibodi adalah substansi yang diproduksi oleh Limfosit B yang bersirkulasi di dalam darah dan jaringan tubuh, dimana normalnya akan diproduksi oleh tubuh dari invasi benda asing, misalnya bakteri dan virus,

untuk mencegah tubuh dari infeksi. Dan untuk beberapa alasan tertentu yang tidak diketahui, tubuh membentuk antibody terhadap selnya sendiri.

Antibodi antisperma terjadi ketika tubuh menjadi sensitif terhadap sperma, menyebabkan timbulnya respon sistem imun yang menyebabkan rusaknya sperma. Normalnya, sperma terlindungi dari sistem imun oleh barrier dari testis (Anonim, 2005).

Pada pria yang memiliki antibodi antisperma, barrier tersebut rusak dan menyebabkan sel imun memiliki akses ke sperma. Oleh karena sperma memiliki antigen permukaan yang unik, keberadaannya terdeteksi oleh sistem imun dan menimbulkan respon (Anonim, 2005).

Antibodi dapat berefek terhadap sperma dalam beberapa cara yang berbeda tergantung dari dimana lokasi antibodi tersebut. Jika antibodi ditemukan pada bagian ekor, sperma cenderung menjadi imobil atau dapat menggumpal. Antibodi yang terdapat pada bagian kepala, mencegah sperma untuk menyatu dengan ovum dengan tepat, oleh karena itu menyebabkan fertilisasi tidak dapat terjadi (Anonim, 2008). Sedangkan apabila ditemukan dalam cairan ejakulasi, maka akan menyebabkan sperma menjadi inefektif dengan membuat sperma-sperma tersebut menempel satu sama lain dan mencegah mereka dilepaskan (Anonim, 2005).

Pada beberapa kasus, mucus serviks pada wanita dapat mengembangkan antibody juga terhadap sperma pasangannya. Dipercaya, antibodi antisperma

pada mucus serviks menyebabkan 40% dari angka kejadian *unexplained infertility* yang terjadi (Anonim, 2008).

Terdapatnya antibodi antisperma pada spermatozoa merupakan tipikal, dan dipertimbangkan spesifik, terhadap infertilitas imunologis (Jones, 1986). Antibodi antisperma pada semen digolongkan dengan eksklusif menjadi dua kelas imunologis : IgA dan IgG. IgA antibodi mungkin memiliki kepentingan klinik yang lebih besar daripada antibody IgG (Kremer&Jager, 1980). Antibodi IgM, oleh karena ukuran molekulernya yang besar, jarang ditemukan di dalam cairan semen.

Tes screening untuk antibodi dilakukan dengan sample semen segar dan menggunakan baik pemeriksaan *Immunobead method* atau *Mixed Antiglobulin Reaction Test* (MAR Test).

Untuk validitas tes tersebut, diperlukan minimal 100 spermatozoa dengan motilitas progresif (grade a) untuk dihitung. Jumlah mucus yang banyak dalam sample dapat mengganggu tes. Hasil dari *Immunobead method* dan MAR tes tidak selalu sejalan (Scarselli *et al.*, 1987; Hellstrom *et al.*, 1989). Jika didapatkan hasil tes positif, tes tambahan (misalnya *sperm-cervical mucus contact test*, *sperm-cervical mucus capillary tube test*, *titration of sperm antibody in serum*) dapat mempertegas dan mengkonfirmasi diagnosis.

2. Penyebab

Terdapat banyak alasan mengapa antibodi antisperma terjadi. Sebab apapun yang mengganggu barrier alami antara sperma dan sistem imun dapat

menyebabkan seseorang memiliki resiko untuk mendapatkan kelainan tersebut.

Beberapa penyebab timbulnya antibodi antisperma antara lain :

- Infeksi
- Undescensus Testicle (UDT/Undescensus Testiculatorum, tidak turunnya testis ke dalam scrotum)
- Torsi testis
- Biopsi testis
- Kanker testis
- Varicocele
- *Congenital Absence of the Vas Deferens* (CAVD)

Pria yang menjalani vasectomy juga memiliki kecenderungan timbul antibodi antisperma. Hampir sekitar 70% pria yang menjalani prosedur tersebut, ditemukan memiliki antibodi antisperma (Anonim,2008).

Antibodi antisperma dapat didiagnosis dengan mudah pada pria. Analisis sederhana yang langsung dapat menentukan ada tidaknya antibodi antisperma. Sayangnya, untuk menyingkirkan antibodi antisperma tersebut tidaklah mudah. Dengan menggunakan kortikosteroid dosis tinggi dapat menurunkan jumlah antibodi, oleh karena itu dapat mengembalikan fertilitas sementara. Tetapi tingginya dosis yang dibutuhkan untuk mengatasi antibodi antisperma tersebut dapat menyebabkan beberapa efek samping yang serius. Oleh karena itu banyak pasangan memilih untuk melakukan *Assisted Reproductive Technology* untuk mengatasinya. Pencucian sperma sebelum dilakukan IVF telah terbukti

efektif untuk menghasilkan ovum yang fertil untuk implantasi. Teknik pencucian sperma tersebut juga dapat dilakukan pada jenis *Intra Uterine Insemination* (IUI) (Anonim, 2005).

3. Cara Pemeriksaan Antibodi Antisperma

a) *Immunobead method*

Antibodi yang terdapat di permukaan sperma dapat dideteksi dengan menggunakan metode ini. *Immunobead method* merupakan *polyacrylamide speheres* yang berikatan kovalen dengan anti-human immunoglobulin kelinci. Adanya antibodi IgG, IgA, dan IgM dapat diperiksa secara simultan dengan pemeriksaan ini.

Spermatozoa yang telah dicuci dan bebas dari cairan seminal disentrifugasi dan diresuspensi dalam buffer. Suspensi sperma kemudian di campur dengan suspensi dari imunobead. Preparat kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Saat spermatozoa berenang melewati suspensi, imunobead *adhere* pada spermatozoa motil yang memiliki ikatan antibody di permukaannya. Proporsi spermatozoa tersebut serta kelas antibodinya dapat dideteksi dengan pemeriksaan Imunobead yang lain.

Tes dianggap positif apabila 20% dari total spermatozoa memiliki ikatan imunobead. Tetapi, penetrasi sperma ke dalam mucus serviks dan fertilisasi *in vivo* cenderung tidak terlalu terganggu kecuali apabila 50% atau lebih spermatozoa memiliki ikatan antibody dengan Imunobead

(Ayvaliotis *et al.*, 1985; Clark *et al.*, 1985). Berdasarkan hal tersebut, minimal 50% dari spermatozoa motil harus diselubungi oleh imunobead sebelum hasil tes dinyatakan signifikan secara klinis. Ikatan imunobead yang terbatas pada ujung ekor spermatozoa tidak berhubungan dengan gangguan fertilitas pada pria dan dapat dijumpai pada cairan semen beberapa pria fertile.

b) *Mixed Antiglobulin Reaction Test* (MAR Test)

MAR tes IgG dilakukan dengan mencampur semen segar yang belum diperlakukan apa-apa dengan partikel lateks atau sel darah merah domba yang diselubungi human-IgG. Pada campuran tersebut ditambahkan antihuman-IgG antiserum. Formasi dari campuran aglutinasi antara partikel dan spermatozoa motil membuktikan adanya antibody IgG pada spermatozoa. Diagnosis untuk infertilitas imunologis memungkinkan apabila 50% atau lebih spermatozoa motil memiliki partikel adherent. Dicurigai infertilitas imunologis apabila terdapat 10-50% dari spermatozoa motil memiliki partikel adherent (WHO, 1992).

4. Cara Pemeriksaan MAR Test

- a) 10 μ l semen segar yang belum dicuci, 10 μ l partikel IgG-coated lateks dan 10 μ l antiserum terhadap human IgG ditempatkan dalam slide mikroskop.

- b) Tetesan semen dan partikel IgG-coated lateks dicampur lebih dulu, kemudian ditambahkan tetesan antiserum menggunakan coverslip yang lebih besar, yang kemudian diletakkan diatas campuran.
- c) Preparat basah tersebut diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x atau 600x baik dibawah cahaya terang atau dengan *phase contrast* setelah 2-3 menit dan dilakukan lagi setelah 10 menit.
- d) Jika tidak ada antibody yang meyelubungi, spermatozoa dapat dilihat berenang bebas di antara partikel, yang saling menempel di dalam satu grup, membuktikan efektivitas dari preparat.
- e) Jika terdapat antibody pada sperma, pada motil spermatozoa akan dijumpai partikel lateks menempel padanya. Motil spermatozoa itu akan terlihat bergerak mengelilingi sedikit atau segerombolan partikel yang saling menempel. Terkadang, aglutinasi yang terjadi sangat masif sehingga spermatozoa hanya dapat bergerak di satu tempat jika terikat pada partikel.
- f) Paling sedikit harus terdapat 100 spermatozoa untuk dapat dihitung. Persentasi spermatozoa motil yang ditemplei oleh partikel kemudian di kalkulasi (WHO, 1992).

E. Motilitas Awal

Secara anatomis, ekor sperma terdiri dari bagian leher, bagian tengah, bagian utama, dan bagian ujung ekor. Bagian leher merupakan penghubung antara bagian dasar yang cocok pada depresi di aspek posterior dari nucleus.

Bagian dasar dari leher berlanjut ke posterior dengan 9 bagian fiber luar yang diproyeksikan hampir ke seluruh bagian ekor. Regio pada ekor di antara leher dan annulus merupakan bagian tengah. Inti dari bagian tersebut bersama dengan keseluruhan panjang dari ekor membangun aksonema.

Aksonema tersebut terdiri dari 9 pasang mikrotubulus yang tersusun radial mengelilingi 2 filamen di tengah. Susunan 9+2 mikrotubulus ini dikelilingi oleh 9 fiber pada tidak beraturan di bagian luar yang tampaknya berkaitan dengan 9 pasang fiber dari aksonema. Aksonema dan 9 pasang fiber tersebut dilapis mitokondria-mitokondria pada bagian tepinya. Mitokondria tersebut tersusun dalam bentuk heliks mengelilingi fiber longitudinal dari ekor dan menyuplai energi yang dibutuhkan oleh motilitas sperma.

Aksonema merupakan bagian dari sperma yang bertanggung jawab atas motilitas sperma. Bagian luar dari 9+2 mikrotubulus yang terdapat di aksonema tersebut memproduksi bentuk dan gerakan dari ekor dalam gerakan cepat di antara pasangan mikrotubulus yang bersebelahan (Hafez, SD; Hafez ESE, 2005).

Gerakan ekor mendekat dan menjauh yang cepat tersebut (gerakan flagellar) memberikan motilitas pada sperma. Gerakan ini disebabkan oleh gerakan meluncur longitudinal secara ritmis di antara tubulus anterior dan posterior yang

membentuk aksonema. Energi untuk proses ini disuplai dalam bentuk adenosine trifosfat yang disintesis oleh mitokondria badan ekor. Sperma normal bergerak dalam garis lurus engan kecepatan 1-4 mm/menit. Kecepatan ini memungkinkan sperma untuk bergerak melalui traktus genitalis wanita untuk mencapai ovum (Guyton, 2003).

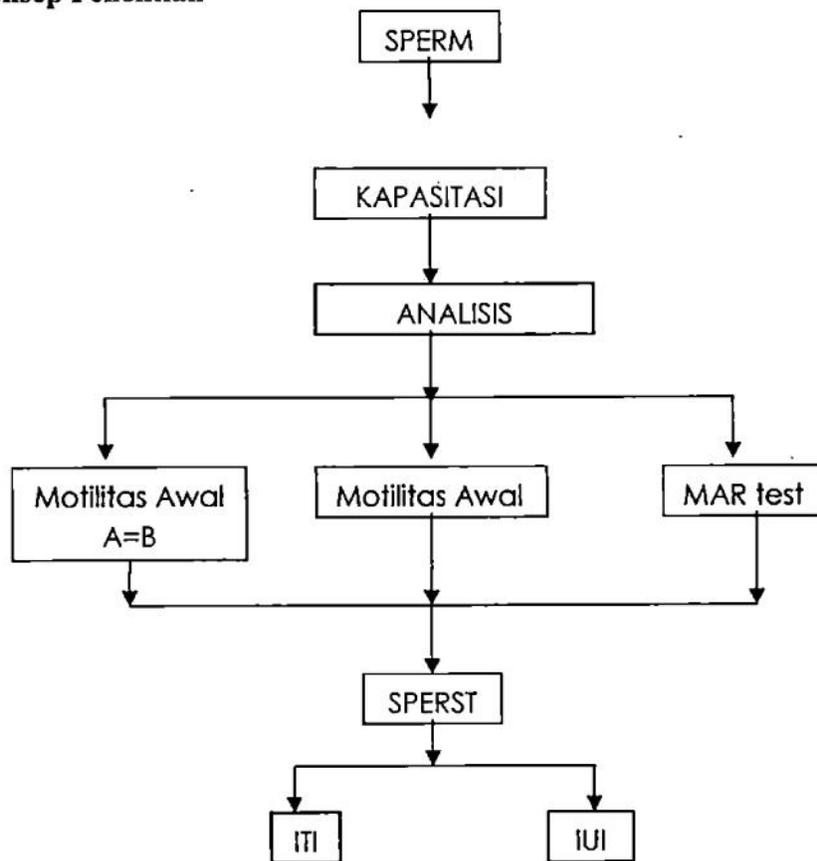
Dalam beberapa tahun belakangan ini, sejumlah teknik baru untuk memeriksa karakteristik pergerakan spermatozoa manusia telah diperkenalkan. Menurut WHO, sistem pengelompokan yang sederhana direkomendasikan untuk menyediakan pemeriksaan terbaik yang memungkinkan untuk menilai motilitas sperma tanpa membutuhkan peralatan yang rumit (WHO,1992).

Preparat semen diletakkan di bawah mikroskop dan diperiksa secara sistematis dan motilitas untuk setiap spermatozoa dilabeli dengan grade 'a', 'b', 'c', atau 'd' dengan keterangan sebagai berikut :

- a : Motilitasnya progresif cepat
- b : Motilitasnya progresif malas atau lambat
- c : Motilitasnya non-progresif
- d : Imotil (WHO, 1992)

Secara umum, nilai normal motilitas awal untuk motilitas A+B adalah ≥ 50 sedangkan untuk motilitas awal A adalah ≥ 25 .

F. Konsep Penelitian



G. Hipotesis

Hasil dari motilitas awal sperma dan status antisperma antibody (MAR Test) memiliki hubungan positif dengan angka Sperm Survival Test 24 jam, 48 jam serta penurunan SPERST.