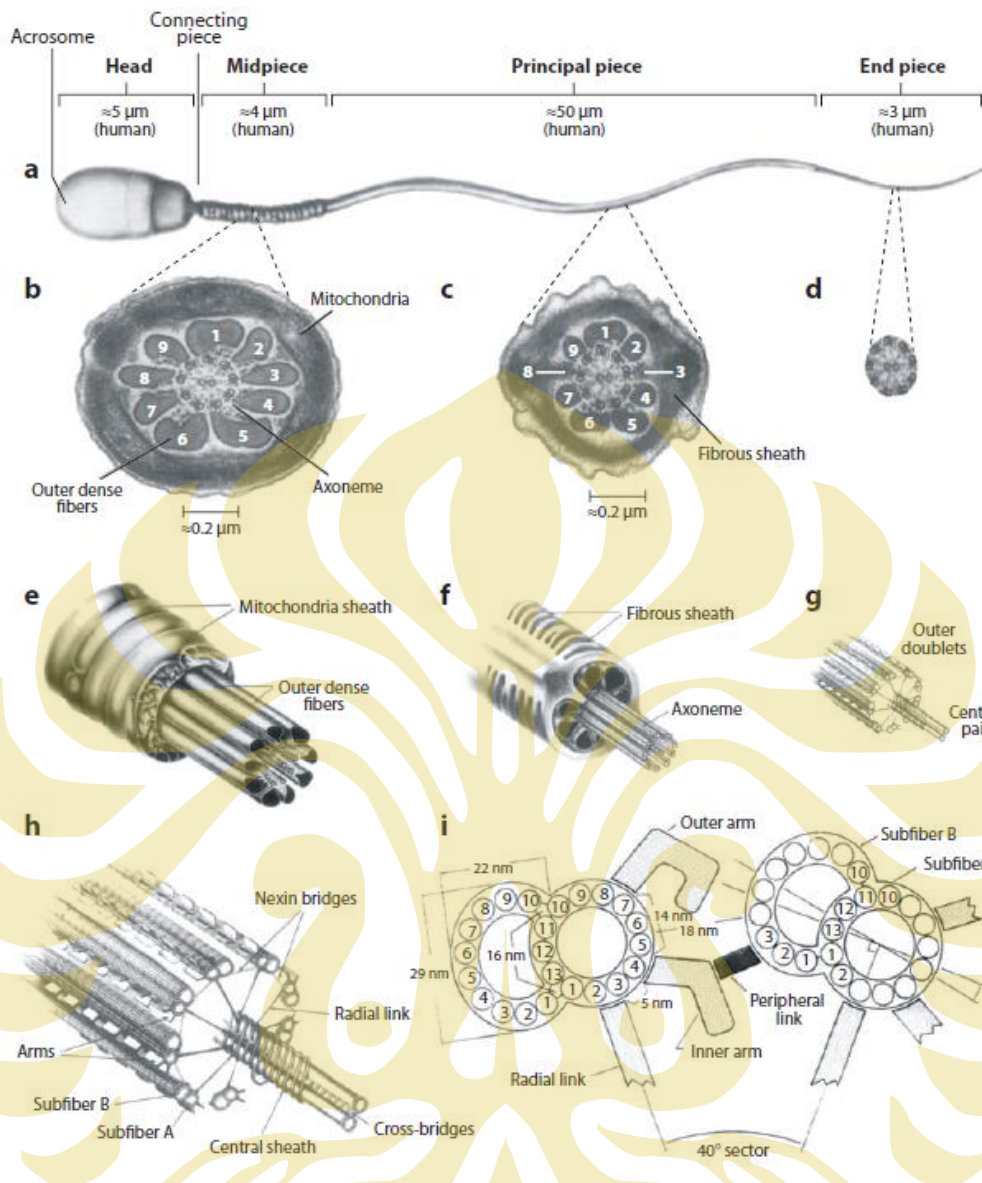


## SPERMATOLOGI MANUSIA

### Struktur spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel germinal laki-laki yang terbentuk dari proses yang sangat kompleks dan panjang. Spermatozoa merupakan sel yang spesial, karena membawa genom paternal untuk bersatu dengan oosit (Kumar & Sharma, 2017). Secara garis besar, spermatozoa terdiri dari kepala dan ekor, yang dihubungkan oleh *connecting piece*, selanjutnya disebut sebagai leher. (Gambar 1.a) Ekor atau flagelum sperma terdiri dari *mid piece*, *principal piece* dan *end piece*. Flagelum yang disebut juga sebagai aksonem, terdiri dari *mitochondrial sheath* (MS), *outer dense fiber* (ODF) dan *fibrous sheath* (FS). (Gambar 1.b,c,d) Aksonem tersusun berdasarkan formasi mikrotubul (9+2) di sepanjang flagelum. Aksonem dikelilingi oleh ODF, mulai dari *connecting piece* memanjang hingga bagian posterior *principal piece*. *Mid piece* ditandai oleh MS, yang mengelilingi ODF pada segmen *mid piece* (Gambar 2.1e). Selain itu, *principal piece* ditandai oleh FS, karena eksistensinya mengelilingi ODF pada segmen tersebut. (Gambar 2.1f). (EA Gaffney, 2011) Bila diwarnai, bagian kepala, leher, dan sebagian ekor spermatozoa terwarnai, sedangkan bagian *end piece* ekor tidak terwarnai. Perbedaan teknik pewarnaan dapat menyebabkan perubahan penampilan morfologi spermatozoa (Maree, *et al.*, 2010; Aksoy, *et al.*, 2012).



Gambar 1. Gambar skematik struktur spermatozoa manusia. Spermatozoa terdiri atas kepala dan flagelum, yang dihubungkan oleh *connecting piece* (a). Flagelum terdiri dari beberapa segmen yaitu *mid piece*, *principal piece* dan *end piece* (a). Komponen utama flagelum adalah aksonem, *mitochondrial sheath*, ODF dan FS (b,c,d). Karakteristik dari segmen *mid piece* adalah *mitochondrial sheath* (e); *principal piece* adalah FS (f); *end piece* adalah ODF (g). Aksonem tersusun dari 9 mikrotubul ganda yang mengelilingi 2 mikrotubul sentral (formasi 9+2) (h). Tiap mikrotubul doublet terdiri dari subfiber A dan subfiber B serta diberi nomor 1-9 (i). (EA Gaffney, 2011)

## Kepala Spermatozoa

Kepala spermatozoa berbentuk oval, dengan ukuran diameter sekitar 5  $\mu\text{m}$  (Falcone & Hurd, 2017; Kumar & Sharma, 2017), mengandung nukleus dan akrosom. Nukleus memiliki jumlah kromosom haploid dengan mengandung protamin sehingga pengemasan kromatin berlangsung padat. Akrosom merupakan kantong dengan membran dua lapis, yang terletak pada ujung bagian anterior dan meliputi dua pertiga bagian dari kepala sperma. Akrosom mengandung enzim akrosin, hyaluronidase dan *Corona Penetrating Enzyme* (CPE), yang terlibat dalam proses fertilisasi.

## *Connecting piece*

*Connecting piece* atau leher sperma berukuran sekitar 0,5  $\mu\text{m}$ , membentuk plat basal, sentriol. Plat basal kemudian berlanjut ke posterior dengan 9 serabut luar padat/kasar yang berproyeksi ke seluruh ekor (Kumar & Sharma, 2017).

## Ekor Sperma

Ekor sperma terdiri dari *mid*, *principal*, dan *end piece*.

### 1. *Mid Piece*

*Middle piece* berukuran sekitar 7  $\mu\text{m}$  (Kumar & Sharma, 2017). Bagian ini mengandung selubung mitokondria, yang nantinya akan membentuk 75-100 mitokondria yang tersusun memanjang dan terkondensasi. Adanya selubung mitokondria inilah yang menjadikan bagian ini menjadi tempat penyimpanan energi, berupa ATP, yang dibutuhkan untuk motilitas sperma.

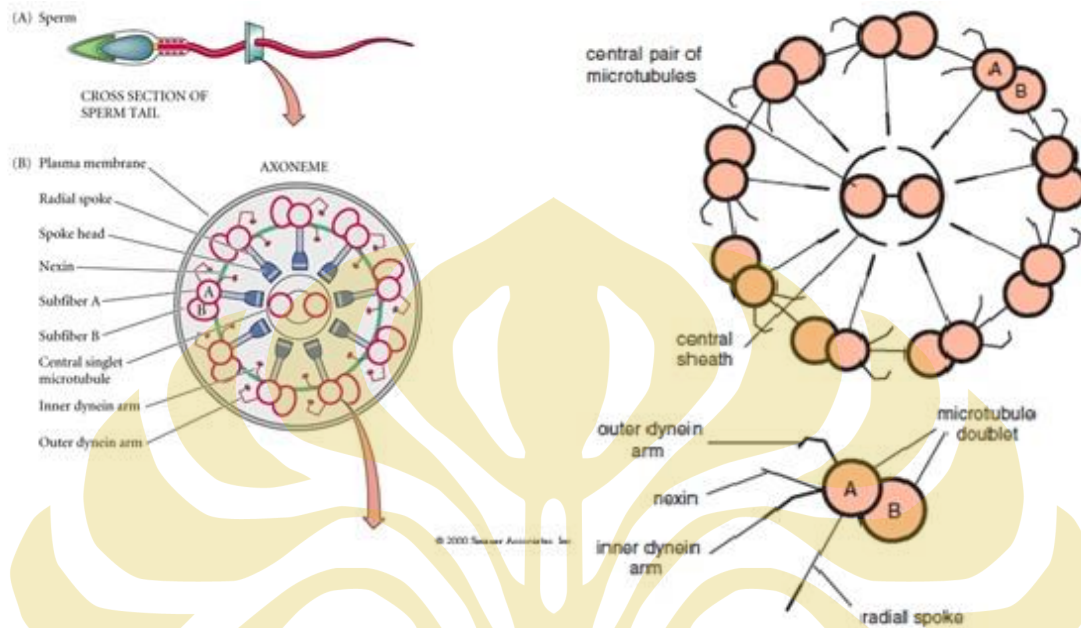
### 2. *Principal Piece*

*Principal piece* merupakan bagian yang paling panjang dari ekor spermatozoa. Bagian ini berukuran 40  $\mu\text{m}$  (Kumar & Sharma, 2017), dan merupakan kelanjutan posterior dari anulus dan menyebar hingga mendekati bagian ujung ekor, tersusun dari aksonem sentral dan serat kasar. Selaput fibrous memberikan stabilitas untuk elemen kontraktile dari ekor.

### 3. *End Piece*

*End piece* berukuran sekitar 5-7  $\mu\text{m}$  (Kumar & Sharma, 2017), merupakan kelanjutan posterior dari bagian akhir selubung fibrous yang hanya mengandung aksonem sentral yang diselubungi oleh membran plasma. Aksonem merupakan aparat motilitas sperma,

yang terdiri dari 9 pasang mikrotubul doublet mengelilingi 2 mikrotubul tunggal, dilengkapi dengan lengan dinein, dan saling dihubungkan dengan jembatan nexin. (Gambar 2)



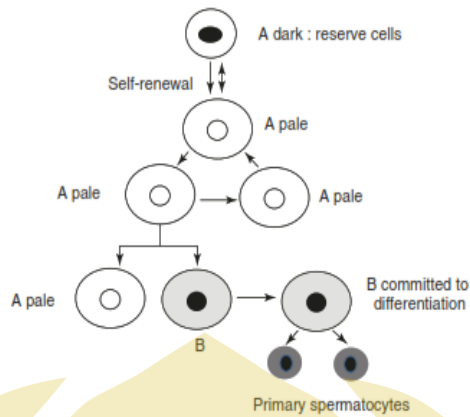
Gambar 2. Struktur skematis aksonem. Kompleks aksonem terdiri atas 9 pasang mikrotubulus yang saling terkait oleh jembatan nexin dan dihubungkan dengan 2 mikrotubul sentral oleh radial spokes (Cooper and Yeung, 2010)

### Tahapan Spermatogenesis

Proses pembentukan sperma disebut spermatogenesis, dimulai dari pembelahan sel germinal yang diploid dan berakhir dengan pembentukan spermatozoa matur yang haploid, yang berlangsung secara bersinambungan di dalam tubulus seminiferous testis. Proses spermatogenesis dibagi menjadi empat fase, yaitu :

1. Proliferasi mitosis dan diferensiasi spermatogonia (spermatogoniogenesis dan spermatositogenesis)

Tahapan ini adalah tahapan proliferasi spermatogonium Ad menjadi sermatogonium Ap, kemudian spermatogonium Ap berproliferasi dan atau berdiferensiasi menjadi spermatogonium B, lalu spermatogonium B berkembang menjadi spermatisit primer (Di Persio et al., 2017). (Gambar 3)



Gambar 3. Skema Pembelahan Mitosis (Kumar & Sharma, 2017)

## 2. Pembelahan meiosis.

Pembelahan meiosis pada spermatogenesis yaitu ketika spermatosit berubah menjadi spermatid. Spermatosit primer mengalami dua kali meiosis. Pada proses ini akan terjadi reduksi kromosom dari diploid menjadi haploid, dan pembentukan keanekaragaman genomik dari pengacakan informasi antara pasangan kromosom yang homolog.

### a. Meiosis 1.

Spermatosit primer yang dihasilkan dari proses mitosis akan memasuki tahapan meiosis. Pada meiosis 1, profase merupakan fase yang paling lama, terdiri dari beberapa subfase, yaitu leptoten, zigoten, pakiten, dan diakinesis. Profase 1 ini kemudian akan dilanjutkan ke fase metafase 1, anafase 1, dan telofase 1. Profase 1 berlangsung selama 1 – 3 minggu, sementara keseluruhan fase meiosis 1 lainnya terjadi dalam waktu 1 – 2 hari.

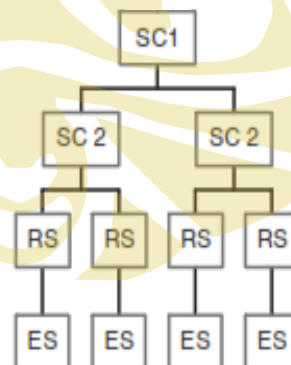
Spermatosit pada awal meiosis 1 dikenal dengan sebutan spermatosit preleptoten, atau spermatosit interfase 1. Spermatosit ini akan membesar selama meiosis 1, dan mengalami duplikasi kromosom ( $2n / 4C$ ), kemudian ketika memasuki fase leptoten, kromosom pada spermatosit ini akan berkondensasi, dan pasangan kromosom yang homolog akan saling mendekat. Pada fase zigoten, kromosom akan semakin berkondensasi. Kromosom homolog yang sudah mendekat akan saling berpasangan, yang disebut dengan *tetrad* atau kromosom bivalen. Pasangan kromosom ini akan saling melekat di bagian telomer. Kemudian pada fase pakiten, akan terjadi pertukaran materi genomic (*crossing over*). Lalu pada fase diploten, pasangan kromosom ini saling

memisahkan diri, tetapi masih mempertahankan persatuannya di daerah kiasma. Spermatisit primer pada profase-diploten 1 ini merupakan sel germinal yang terbesar. Kemudian pada fase diakinesis, nukleolus menghilang, dan diikuti dengan disintegrasi dari membran nukleus.

Pada metafase 1, terjadi pergeseran pasangan kromosom di sepanjang plat metafase, dan tersusun di daerah ekuator. Pada anafase 1 terjadi pemisahan sentromer, dan menarik pasangan kromosom homolog ke arah yang berbeda. Akhirnya pada telofase 1, kromosom yang haploid akan mencapai kutub sel yang berbeda, lalu kromosom mengalami dekondensasi, dan kemudian terjadi pembentukan ulang membran nucleus untuk membungkus kromosom yang haploid tersebut. Hasil akhir meiosis 1 adalah spermatisit sekunder ( $n/2C$ ) (Gilbert, 2010).

b. Meiosis 2.

Pada dasarnya, proses yang terjadi pada meiosis 2 sebenarnya sama dengan yang terjadi pada meiosis 1. Hanya saja, profase 2 berlangsung sangat singkat, lalu diikuti dengan fase-fase yang sama persis dengan meiosis 1. Hasil akhir dari meiosis 2 ini adalah spermatid yang bersifat haploid ( $n/C$ ), yang memiliki semua informasi yang dibutuhkan untuk fertilisasi. Pada *Intra Cytoplasmic Sperm Injection* (ICSI), *round* spermatid dapat digunakan untuk diinjeksikan pada oosit, meskipun lebih sulit dan memiliki angka keberhasilan yang lebih rendah. (Tanaka et al., 2015)

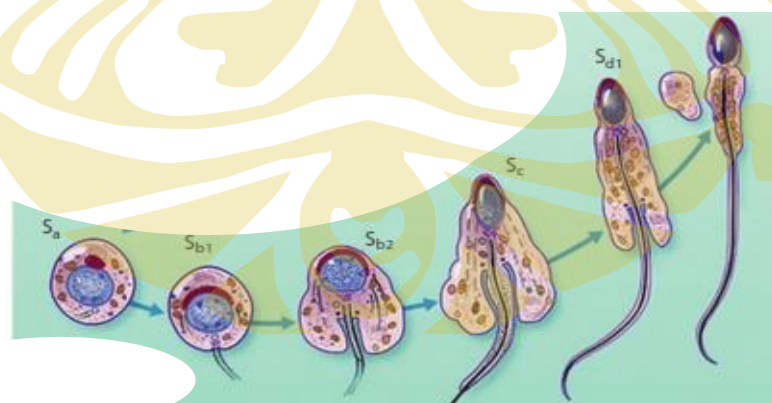


Gambar 4. Skema Pembelahan Meiosis (E. Nieschlag et al., 2010), dengan modifikasi

### 3. Spermiogenesis

Spermiogenesis adalah diferensiasi sel dari spermatid menjadi spermatozoa. Spermiogenesis berlangsung kira-kira tiga minggu. Proses ini terdiri dari empat fase, yaitu golgi, cap, akrosom dan maturasi, seperti yang tergambar pada Gambar 5.

- a. Fase golgi. Pada fase ini, spermatid mulai membentuk polaritas. Di ujung proksimal akan muncul gelembung akrosom yang dibentuk dari granul pro-akrosom dengan aparatus golgi, berisi enzim-enzim yang diperlukan untuk fertilisasi. Pada ujung distal, membentuk penebalan bagian mid-piece, tempat berkumpulnya mitokondria, dan mulai membentuk aksonem. Selain itu, DNA spermatid juga mengalami pengepakan yang sangat padat (terkondensasi) melalui pergantian histon ke protamin.
- b. Fase cap, apparatus golgi akan mengelilingi nuklues yang terkondensasi, menjadi cap akrosom.
- c. Pada fase akrosom, nukleus menjadi semakin terkondensasi, dan pemanjangan sel terus berlanjut, membentuk ekor. Sel-sel menjauhi epitel germinal dan mendekati lumen tubulus. Pada fase ini, transkripsi gen berhenti dan histon menghilang.
- d. Pada fase maturasi, kelebihan sitoplasma membentuk *residual body*, yang nantinya akan difagosit oleh sel Sertoli.

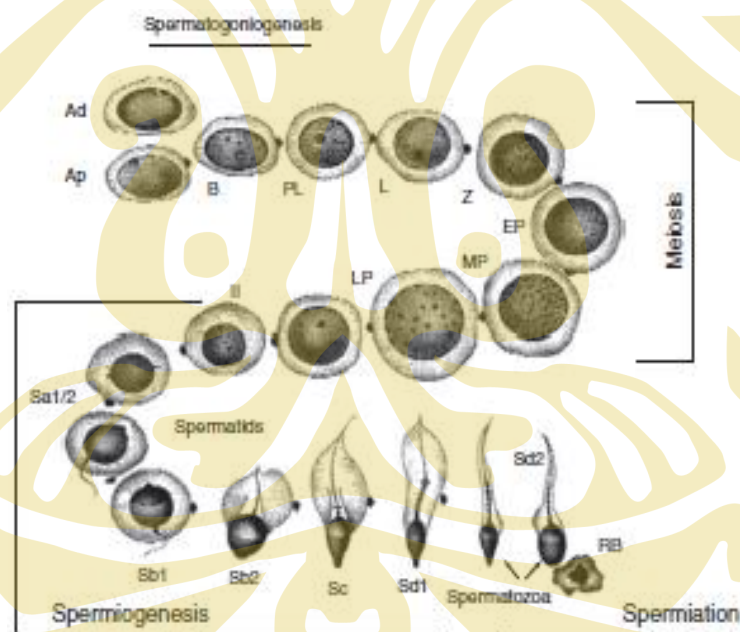


Gambar 5. Gambar Skematis Spermiogenesis (Falcone & Hurd, 2017)

#### 4. Spermiasi

Spermiasi merupakan pelepasan sperma dari perlindungan sel Sertoli di epitel germinal menuju lumen tubulus. Sperma yang dihasilkan ini sudah lengkap secara struktur, tapi belum fungsional (motil/bergerak). Sperma non motil ini diangkut ke epididimis oleh cairan testis yang disekresikan oleh Sertoli, dengan bantuan peristaltik testis. Di epididimis, sperma selanjutnya akan mengalami maturasi sehingga menjadi motil.

Waktu yang dibutuhkan seorang laki-laki untuk menyelesaikan satu siklus spermatogenesisnya adalah  $\pm 72$  hari. (Gambar 6) Pada tiap saat dalam kehidupannya, seorang laki-laki dapat memiliki setiap jenis sel spermatogenik. Proses spermatogenesis yang berlangsung selama kehidupan inilah yang membedakan laki-laki dengan perempuan yang dapat mengalami menopause.



Gambar 6. Skema tahapan spermatogenesis manusia (Weinbauer, Luetjens, Simoni, & Nieschlag, 2010)

#### Regulasi Hormonal pada Spermatogenesis

Regulator terpenting dari perkembangan sel germinal adalah hormon. Hormon yang sangat berpengaruh dalam proses spermatogenesis adalah gonadotropin, testosteron, dan

estrogen. Regulasi endokrin secara lokal yaitu melalui hormon testosteron, dan secara eksternal melalui poros Hipotalamus-Hipofisis-Testis.

a. Hormon *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH)

Hipotalamus menghasilkan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), yang akan merangsang hipofisis anterior untuk menghasilkan FSH dan LH. Sekresi GnRH oleh hipotalamus ini tidak kontinu, melainkan pulsatil, dan diatur oleh sistem kisspeptin-GPR54. Kisspeptin adalah protein hasil ekspresi dari gen *KISS*, yang terletak di kromosom 1q32.1. Gen ini awalnya dijelaskan sebagai gen supresor tumor, karena mampu menghambat pertumbuhan melanoma dan metastasis kanker payudara. Akan tetapi, baru diketahui bahwa kisspeptin merupakan ligand alami dari reseptor *G protein coupled receptor* (GPR54) yang memiliki peran dalam inisiasi sekresi GnRH saat pubertas. Kisspeptin sendiri dihasilkan oleh neuron di nukleus anteroventral periventricular (AVPV), nukleus periventrikular, nukleus anterodorsal preoptik dan nukleus arkuatus (ARC). Selain itu, kisspeptin juga diekspresikan pada plasenta, testis, pankreas, dan usus. Bila diinjeksikan, kisspeptin akan menstimulasi sekresi LH, melalui interaksi dengan reseptor GPR54 yang terletak di permukaan neuron sekretor GnRH. Gen *GPR54* ini terletak pada kromosom 19p13.3.

b. Hormon gonadotropin

Hormon gonadotropin dihasilkan oleh kelenjar hipofisis bagian anterior. Gonadotropin terdiri dari dua macam hormon, yaitu *Luteinizing Hormone* (LH), dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). LH akan merangsang sel Leydig yang berada pada kompartemen interstitial testin untuk memproduksi testosteron, sedangkan FSH akan mengaktifkan sel Sertoli.

c. Hormon Testosteron

Testosteron dihasilkan oleh sel Leydig sebagai akibat rangsangan oleh hormon LH. Sebagian testosteron akan diikat oleh *androgen binding protein* (ABP) yang diproduksi oleh sel Sertoli, sedangkan lainnya akan masuk ke sirkulasi. Testosteron bekerja melalui reseptor (AR), walaupun AR tidak ditemukan pada sel germinal. AR ditemukan pada sel Sertoli dan peritubular. Di lain pihak, spermatisit memiliki reseptor ABP. Dengan demikian, peran testosteron dalam spermatogenesis dimediasi oleh sel Sertoli dan sel peritubular. Pada spermatogenesis, testosteron yang berperan adalah testosteron intratestikular yang berperan secara parakrin, bukan yang beredar di dalam

darah. Fenomena ini menjelaskan pemberian testosteron eksogen yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sperma dalam ejakulat. Peran testosteron terhadap spermatogenesis dibuktikan melalui penelitian *knock-out* gen reseptor androgen seperti yang terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Manifestasi klinis *knock out* reseptor androgen pada beberapa sel

Knock out	Manifestasi Klinis
Sel Sertoli	Infertil, tidak ditemukan sel germinal post meiotik
Sel peritubular	Infertil, reduksi semua tahap sel germinal
Sel Leydig	Fertil, sel Leydig imatur

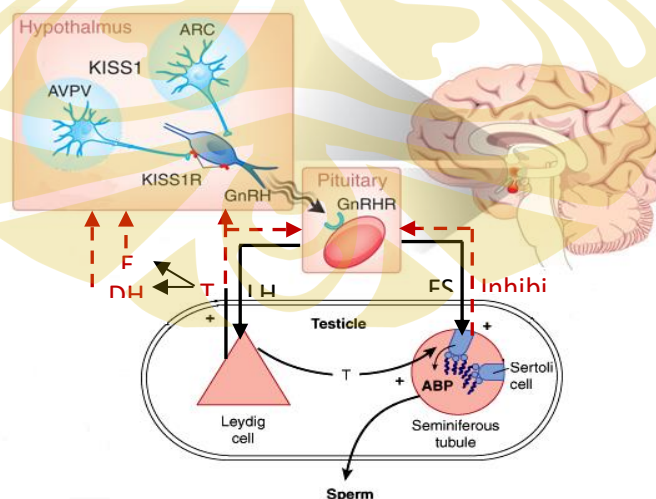
Referensi : (E. Nieschlag et al., 2010)

d. Hormon Estrogen

Estrogen merupakan hasil konversi testosteron oleh enzim aromatase. Testosteron, DHT dan estradiol akan memberikan umpan balik negatif kepada hipotalamus untuk mengurangi frekuensi pulsasi GnRH. Namun, umpan balik negatif ke hipofisis hanya dapat dilakukan oleh testosteron dan estradiol.

e. Hormon lainnya

Selain hormon-hormon yang telah dijelaskan sebelumnya, terdapat pula inhibin B yang diproduksi oleh sel Sertoli yang memberikan umpan balik kepada hipofisis untuk mengurangi sekresi FSH.

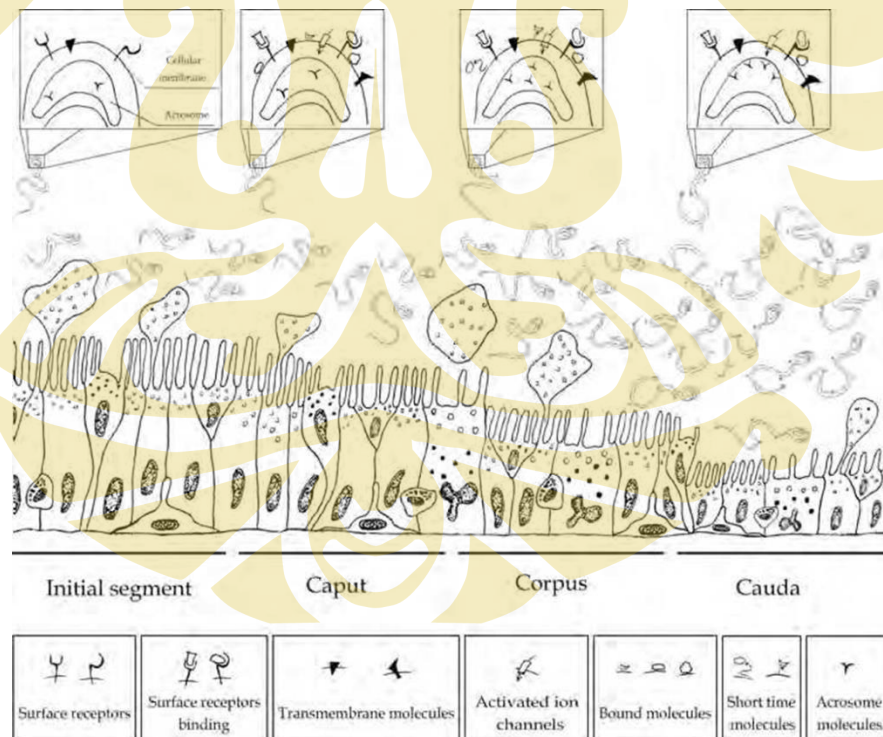


Gambar 7. Aksis hipotalalamus hipofisis testis dan peranannya dalam spermatogenesis Garis putus-putus merah menandakan umpan balik negatif (dimodifikasi dari <https://brainandgender.files.wordpress.com/2011/04/kissfigure31.jpg> dan Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology, edisi 10 (Gardner & Shoback, 2017).

## Maturasi

Setelah spermiasi, spermatozoa belum mampu melakukan pembuahan. Oleh karena itu, spermatozoa perlu diproses terlebih dahulu di kaput epididimis sehingga mampu untuk melakukan fertilisasi. Proses ini dikenal dengan nama maturasi spermatozoa, berlangsung selama 2 hingga 11 hari. Pada proses ini akan terjadi perubahan fisiologis, biokimia, dan morfologi pada spermatozoa (E. Nieschlag et al., 2010).

Dalam proses maturasi spermatozoa, sel spesifik dari segmen epididimis yang berbeda mensekresikan molekul fungsional ke cairan luminal. Molekul-molekul ini berinteraksi secara berurutan dengan permukaan spermatozoa atau akrosom dan memengaruhi fungsi molekul spermatozoa. (Robaire B, 2000; Robaire B, 2006; Gatti JK, 2004; Daecheux JL, 2005, Sullivan R, 2004) (Gambar 6). (Cornwall GA, 2009) Penelitian yang dilakukan oleh Aitken dkk, menggambarkan profil protein yang berbeda antara protein pada spermatozoa imotil di kaput epididimis dibandingkan dengan spermatozoa motil di kauda epididimis. (Aitken RJ, 2007)



Gambar 8. Ilustrasi skematis perubahan profil protein pada permukaan spermatozoa selama maturasi di seluruh epitel epididimis. (Kellen FA, 2012)

Dalam proses ini, beberapa spermatozoa mengikat protein dan mungkin memengaruhi fungsi spermatozoa secara langsung. (Von Hersten HH, 2007) Selain itu, terdapat pula

sejumlah protein yang dapat ditransfer dari epitel epididimis ke spermatozoa oleh mekanisme yang sangat spesifik dan tidak sepenuhnya dijelaskan dimediasi oleh epididimosom. Hampir semua protein ini cepat diserap atau terdegradasi di segmen pertama epididimis. Telah diketahui bahwa protein yang disekresikan epididimis ini menunjukkan aktivitas transportasi, fungsi mengikat atau mempunyai aktivitas enzimatik. Mereka berkontribusi pada kapasitas fertilisasi spermatozoa dengan memfasilitasi pertukaran protein atau lipid antara spermatozoa dan cairan sekitarnya selama maturasi di epididimis. (Dacheux JL, 2005)

Selain itu, di epididimis juga terjadi proses induksi gerak spermatozoa, terutama pembentukan pola gerak yang matur, yang ditandai oleh peningkatan nilai parameter kinematik seperti persentase gerak, kecepatan gerak maju (*straight-line velocity/VSL*) dan kelurusannya. Ditambah pula, di epididimis juga terjadi peningkatan kadar kelarutan oksigen, yang dapat meningkatkan kemampuan hidup spermatozoa. Spermatozoa dalam epididimis manusia dapat mempertahankan kemampuannya membuahi secara *in vitro* sampai setidaknya 30 jam setelah kematian (Shefi et al., 2006).

### **Kapasitasi**

Walaupun telah mengalami maturasi sperma dan menjadi motil 'terbatas', akan tetapi sperma tetap belum dapat membuahi ovum. Oleh karena itu, setelah diejakulasikan, sperma mengalami perubahan-perubahan di dalam saluran reproduksi perempuan sehingga menjadi sperma yang sangat motil dengan amplitudo kecepatan yang tinggi, peristiwa ini disebut dengan kapasitasi. Perubahan-perubahan yang terjadi selama kapasitasi berupa perubahan pada metabolisme, homeostasis ion dan akrosom sperma. (Susilawati T, 2011)

Pada kapasitasi, metabolisme sperma meningkat berupa konsumsi oksigen atau glikolitik. Peningkatan konsumsi oksigen pada respirasi sperma meningkat ketika berada di saluran reproduksi perempuan dikarenakan terpapar oleh substrat-substrat yang teroksidasi di awal kapasitasi. Selain itu, kapasitasi juga menyebabkan perubahan berupa fosforilasi di membran plasma sehingga memperoleh energi yang lebih untuk digunakan aparat motilitas sperma.

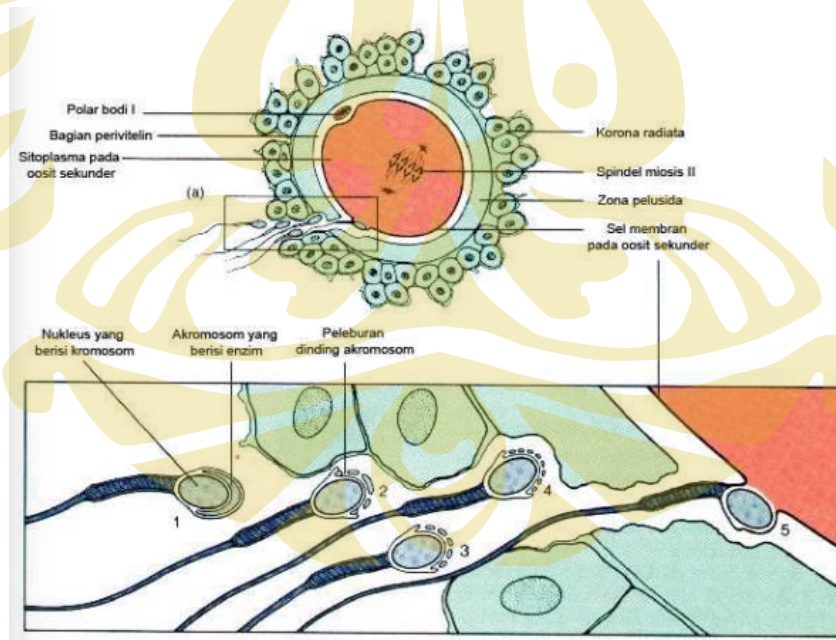
Homeostasis ion dilakukan dengan menjaga gradien ion di sepanjang membran plasma sperma. Mirip dengan sel somatik, konsentrasi  $K^+$  di dalam sel sperma lebih tinggi, sedangkan  $Na^+$  lebih tinggi di luar sel sperma. Gradien ion dipertahankan oleh pompa ATPase yang mengatur pertukaran  $Na^+$  dan  $K^+$ . Selain  $Na^+$  dan  $K^+$ , terdapat pula ion yang penting untuk diatur konsentrasinya, yakni  $Ca^{2+}$  yang dimediasi oleh pompa  $Ca^{2+}$ -ATPase. Belum jelas peran

homeostasis ion pada kapasitas sperm. Akan tetapi sudah jelas untuk menyelenggarakan suatu fungsi yang normal, dibutuhkan sperm dengan membran plasma yang gradien ionnya normal pula. Ditambah pula ada penelitian yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi  $Ca^{2+}$  intraseluler saat kapasitas, memicu adenilat siklase yang penting untuk cAMP.

Selain terdapat perubahan pada biokimia sperm, terdapat pula perubahan pada struktur sperm, seperti membran plasma, nukleus ataupun akrosom. Membran plasma yang langsung terpapar pada lingkungan kapasitas mengalami perubahan material pelapis pada permukaan sperm, seperti antigen atau glikoprotein. Nukleus sperm merupakan struktur yang sangat stabil. Penelitian yang dilakukan oleh Lelannou menunjukkan bahwa pada semen terdapat  $Zn^{2+}$  dari kelenjar prostat yang bertugas mengikat radikal bebas dari protein di nukleus, yang pada kapasitas terjadi kehilangan  $Zn^{2+}$ . (Lelannou et al,1985)

### Fertilisasi dan Reaksi akrosom

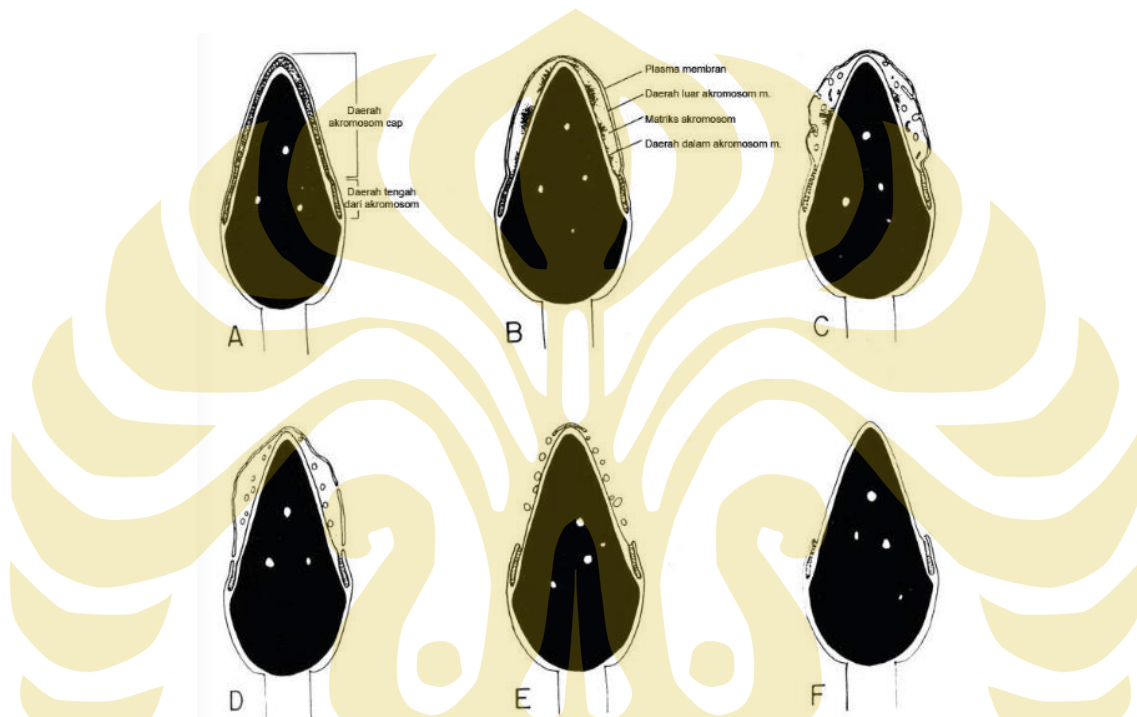
Proses fertilisasi merupakan suatu seri peristiwa yang didahului oleh kontak antara sperm dengan telur, dilanjutkan masuknya sperm ke dalam oosit, bergabungnya materi genetik sperm dengan oosit serta diakhiri berkembangnya zigot. (Hinsch dkk, 1994) Ilustrasi fertilisasi dapat dilihat pada gambar di bawah ini. (Gambar 9)



Gambar 9. Ilustrasi fertilisasi (Susilawati T, 2011)

Pada fertilisasi, sperm harus menembus beberapa lapisan yang menyelubungi oosit terlebih dahulu dengan bantuan enzim-enzim yang terdapat di dalam kantong akrosom. Enzim hialuronidase mencerna sel-sel kumulus pada lapisan kumulus oophorus, sedangkan enzim

*corona penetrating enzyme* (CPE) mencerna lapisan korona radiata, dan enzim akrosin bereaksi dengan zona pelusida, sehingga akhirnya sperma dapat masuk ke dalam oosit. Reaksi akrosom terjadi setelah sperma menembus lapisan-lapisan oosit, kemudian meleburkan oolema oosit. Perubahan struktural pada kantong akrosom ketika terjadi reaksi akrosom dapat dilihat pada gambar di bawah ini. (Gambar 9) (Nagae dkk, 1984)



Gambar 10. Perubahan struktural kantong akrosom saat reaksi akrosom (Nagae dkk, 1984)

Mekanisme seluler reaksi akrosom dimulai dengan reseptor membran sperma yang berikatan dengan ZP3, salah satu dari glikoprotein zona. ZP3 dapat mengikat beberapa molekul galaktosil transferase 1 (GaLT-1), yang merupakan enzim intramembran yang mengikat residu karbohidrat pada ZP3. (Miller dkk, 1992) Adanya ikatan ini mengaktifkan protein G spesifik pada membran sperma yang menyebabkan depolarisasi membran dan membuka kanal ion Ca. Akibatnya, konsentrasi Ca<sup>2+</sup> intrasel meningkat dan menyebabkan eksositosis akrosom. Selain protein G, terdapat pula komponen sinyal transduksi lain yang terlibat dalam inisiasi reaksi akrosom yakni, inositol-3,4,5 trifosfat (IP3), reseptor IP3, fosfolipase C, dan kanal Ca<sup>2+</sup>. (Florman dkk, 1998) Eksositosis akrosom mengeluarkan berbagai enzim yang menimbulkan pori-pori pada oolema sehingga dapat disisipi sperma.

## Fragmentasi DNA spermatozoa

Kromatin sel spermatozoa bersifat unik dibandingkan dengan sel somatik, proses pengemasan DNA berlangsung sangat padat, namun tetap terlindung dari kerusakan dari luar dan muat berada dalam kepala spermatozoa yang sangat kecil. Materi DNA spermatozoa manusia dikemas dengan bantuan protein khusus pengganti histamin, yakni protamin sehingga proses kondensasi dan dekompresi DNA berlangsung sangat padat. Organisasi DNA spermatozoa berada dalam struktur melingkar yang disebut toroid, berikatan dengan histon yang selanjutnya digantikan oleh protamin, dan *matrix attachment regions* (MARs). (Singh dan Agawal, 2011) Selain itu, untuk menjaga proses pengemasan DNA spermatozoa, terdapat pula mekanisme yang mengontrol ekspresi gen berupa penghambatan terhadap aktivasi *reading frame* sehingga ekspresi gen tidak terjadi selama spermatogenesis.

Fragmentasi DNA sperma dapat disebabkan oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal dapat berupa 1) gangguan pada proses maturasi sperma, 2) stres oksidatif dan 3) apoptosis abortif. Kandungan asam lemak tak jenuh pada membran sperma menyebabkan sperma mudah berikatan dengan *reactive oxygen species* (ROS) menimbulkan peroksidasi membran dan merusak sperma. Kondisi patologis yang menyebabkan ROS diproduksi dalam jumlah berlebihan ini misalnya pada leukospermia dan varikokel. Leukosit telah diketahui sebagai sumber ROS ketika melakukan aksinya melawan infeksi, yang menyebabkan mediator inflamasi meningkat dan kerusakan DNA sperma. (Singh dan Agawal, 2011) Varikokel juga merupakan sumber produksi ROS pada sperma melalui peningkatan suhu skrotum.

Fragmentasi DNA sperma dapat dideteksi melalui beberapa pemeriksaan, seperti *single cell gel electrophoresis assay* (COMET), *terminal deoxynucleotidyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate nick end labelling* (TUNEL), *sperm chromatin structure assay* (SCSA) dan *sperm chromatin dispersion* (SCD). (Singh dan Agawal, 2011; Youssry M, 2007) Walaupun SCSA merupakan standar baku emas untuk pemeriksaan fragmentasi DNA sperma, akan tetapi SCSA sulit dilaksanakan karena membutuhkan alat canggih seperti flow cytometer. Pemeriksaan fragmentasi DNA sperma yang lebih memungkinkan untuk digunakan di laboratorium andrologi adalah SCD. Pada pemeriksaan ini, sperma yang normal atau tidak, berdasarkan halo yang dihasilkan pada sel sperma. Sperma yang normal memiliki DNA utuh atau tidak terfragmentasi, memiliki halo berukuran besar dan sedang. Sperma yang tidak normal memiliki DNA tidak utuh atau terfragmentasi, memiliki halo berukuran kecil, tidak

berhalo atau bahkan terdegradasi. Nilai yang dihasilkan dari pemeriksaan SCD adalah indeks fragmentasi DNA sperma (IFD), yang diperoleh dari prosentase sperma dengan DNA tidak utuh atau terfragmen dari total sperma yang diperiksa (500 ekor). (Lestari dan Sari, 2015)

## Referensi

- Aitken RJ, Nixon B, Lin M, Koppers AJ, Lee YH, Baker MA. Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation. *Asian J Androl.* 2007;9:554-64
- Cooper, TG and Yeung, CH. 2010. Physiology of sperm maturation and fertilization. Dalam: E. Nieschlag, HM. Behre & S. Nieschlag. *Andrology: Male reproductive health and dysfunction.* 3rd. Verlag Berlin Heidelberg: Springer, pp. 61-85
- Dacheux JL, Castella S, Gatti LJ and Dauchex F. Epididymal cell secretory activities and the role of the proteins in boar sperm epididymis. *Theriogenology.* 2005;63:319-41
- Di Persio, S., Saracino, R., Fera, S., Muciaccia, B., Esposito, V., Boitani, C., Vicini, E. (2017). Spermatogonial kinetics in humans. *Development, 144*(19), 3430–3439. <https://doi.org/10.1242/dev.150284>
- EA Gaffney, Gade'lha, DJ Smith, JR Blake and JC Kirkman-Brown. Mammalian Sperm Motility : Observation and Theory. *Annual Review of Fluid Mechanics.* 2011;43:501-28
- Falcone, T., & Hurd, W. W. (Eds.). (2017). *Clinical reproductive medicine and surgery: a practical guide* (3rd edition). New York, NY: Springer Science+Business Media.
- Florman HM, Arnoult, C., Kazam I.G, Li.C and O'toole,C.M.B, 1998. A Perspective on the control of mammalian fertilization by egg-activated ion channels in sperm : A tale of two channels. *Biol Reprod.* 59: 12-17.
- Gardner, D. G., & Shoback, D. M. (2017). *Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology* (10th edition). McGraw-Hill Education.
- Gatti JL, Castella S, Dacheux F, Ecroyd H, Meetayer S, Thimon V, and Dauchex JL. Post-testicular sperm environment and fertility. *Animal Reproduction Science.* 2004;82-82:321-39
- Gilbert, S. F. (2010). *Developmental Biology* (Ninth edition). Sinauer Associates, Inc.
- Kellen FA, Patrick VG, Mainara FB, Marilia LJ and Luis AVP. Epididymis: Embryology, Structure, Function and Its role in fertilization and infertility. 2012. State university of Campinas Brazil.
- Kumar, A., & Sharma, M. (Eds.). (2017). *Basics of human andrology: a textbook* (1st edition). New York, NY: Springer Berlin Heidelberg.
- Lestari S dan Sari T. Fragmentasi DNA spermatozoa : Penyebab, deteksi dan implikasinya pada infertilitas laki-laki. *eJKI.* 2015;3(2):152-160.
- Miller,D.J., Macek,M.B., and Shur,B. 1992 Complementarity between sperm surface  $\beta$ -1,4-galactosyltransferase and egg-coat ZP3 mediates sperm-egg binding. *Anim Sci,* 37-73
- Nagae T, Yanagimachi R, Srivastava PN and Yanagimachi H 1986. Acrosome Reaction in Human Spermatozoa.*Fertil.Steril* 45 :701-707. Test in equine spermatozoa. *Theriogenology.* 51: 721-727

Nieschlag, E., Behre, H. M., & Nieschlag, S. (Eds.). (2010). *Andrology: male reproductive health and dysfunction* (3rd ed). Heidelberg ; New York: Springer.

Robaire B, Sintin P, Jervis K. The coming of age of the epididymis. In : Testis, epididymis and technologies in the year 2000, Jegou B, Pineau C, Saez J (Ed). Springer: Hildenberg, New York, EUA. 2000;229-62

Robaire B, Hinton BT and Orgebin-Christ, MC. The epididymis. In : The physiology of reproduction, Knobil and J Neil (Ed), Elsevier. New York, EUA. 2006;1071-148

Shefi, S., Raviv, G., Eisenberg, M. L., Weissenberg, R., Jalalian, L., Levron, J., ... Madgar, I. (2006). Posthumous sperm retrieval: analysis of time interval to harvest sperm. *Human Reproduction*, 21(11), 2890–2893. <https://doi.org/10.1093/humrep/del232>

Singh A, Agarwal A. The role of sperm chromatin integrity and DNA damage on male infertility. *The Open Reproductive Science Journal*. 2011;3:65-71.

Sullivan R. Male infertility markers, myth or reality. *Animal reproduction science*. 2004;82-82:341-7

Susilawati T. Fertilisasi. Dalam : Spermatology. Malang: UB Press. 2011:65-91

Tanaka, A., Nagayoshi, M., Takemoto, Y., Tanaka, I., Kusunoki, H., Watanabe, S., Yanagimachi, R. (2015). Fourteen babies born after round spermatid injection into human oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(47), 14629–14634. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517466112>

Weinbauer, G. F., Luetjens, C. M., Simoni, M., & Nieschlag, E. (2010). Physiology of Testicular Function. In Eberhard Nieschlag, H. M. Behre, & S. Nieschlag (Eds.), *Andrology* (pp. 11–59). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-78355-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-540-78355-8_2)

Von Hersten HH, Johnson SS, San Fransisco SK, Harstet MC, Whelley SM and Cornwall GA. Oligomerization and transglutaminase cross-linking of the cystatin CRES in the mouse epididymal lumen: Potential mechanism of extracellular quality control. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007;282:32912-23.

Youssry M, Ozmen B, Orief Y, Zohni K, Al-Haan S. Human sperm DNA damage in the context of assisted reproductive techniques. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 2007;5(4):137-50.