

# Fragmentasi DNA Spermatozoa: Penyebab, Deteksi, dan Implikasinya pada Infertilitas Laki-Laki

Silvia W Lestari,<sup>1</sup> Triyana Sari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanegara

## Abstrak

*Prediksi fertilitas laki-laki dapat dilakukan dengan analisis semen. Analisis semen konvensional merupakan pemeriksaan sederhana dan tidak mahal, tetapi memiliki variabilitas yang tinggi. Integritas DNA spermatozoa penting untuk transmisi informasi genetik. Fragmentasi DNA spermatozoa sebagai akibat gangguan spermatogenesis, maturasi spermatozoa, stres oksidatif dan infeksi, dapat menyebabkan infertilitas laki-laki, gangguan perkembangan embrio dan abortus berulang. Hubungan fragmentasi DNA spermatozoa dengan luaran teknologi reproduksi berbantu (TRB) mengarahkan fragmentasi DNA spermatozoa sebagai pemeriksaan infertilitas laki-laki. Dari berbagai metode fragmentasi DNA spermatozoa yang umum dilakukan, sperm chromatin dispersion (SCD) merupakan metode pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa yang sederhana, akurat dan tidak mahal, sehingga dapat dilaksanakan di laboratorium andrologi. Selain menghasilkan diagnosis yang lebih baik, pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa juga menggambarkan prognosis infertilitas termasuk luaran program TRB.*

**Kata kunci:** infertilitas laki-laki, fragmentasi DNA spermatozoa, SCD

## Sperm DNA Fragmentation: Etiology, Detection and Implication to Male Infertility

### Abstract

*The prediction of male fertility is determined by semen analysis. The conventional semen analysis is simple and inexpensive but prone to variability. The integrity of sperm DNA is essential for the transmission of genetic information. Fragmentation of sperm DNA as result of disruption in spermatogenesis and sperm maturation, oxidative stress, and infection may lead to male infertility, abnormal embryonic development and recurrent abortion. The association between sperm DNA fragmentation and diminished reproductive outcomes has led to the introduction of sperm DNA fragmentation testing on the clinical assessment of male infertility. Of all the sperm DNA fragmentation tests, sperm chromatin dispersion (SCD) test is quite simple, accurate, and inexpensive to be conducted on andrology laboratory. Besides having better diagnostic outcome, sperm DNA fragmentation test also give better infertility prognosis including the prediction of assisted reproductive technology (ART) program outcome.*

**Keywords :** male infertility, sperm DNA fragmentation, SCD method

**Pendahuluan**

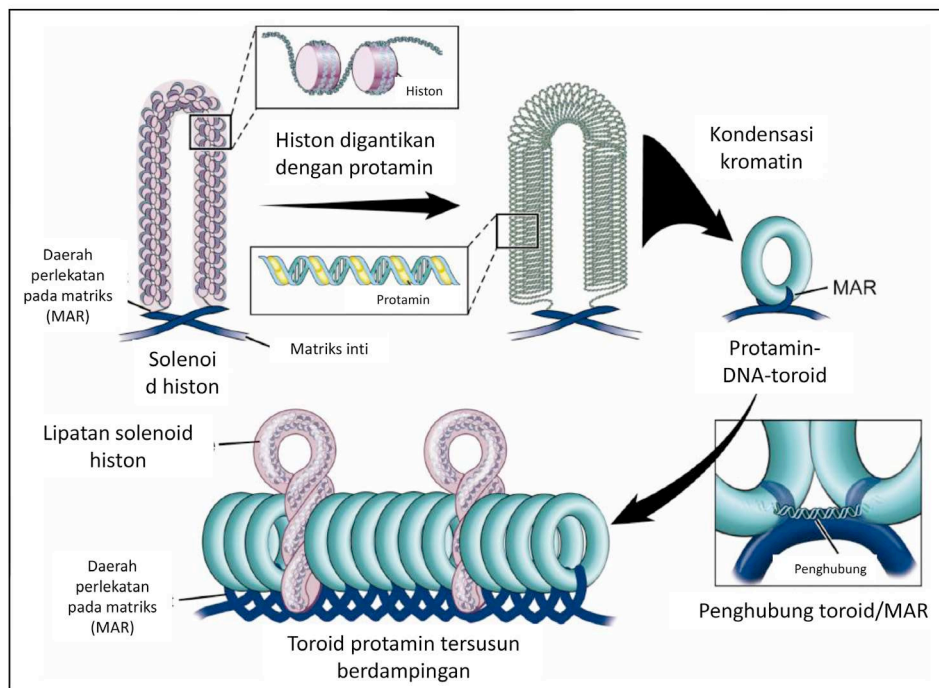
Di Indonesia terdapat 40% pasangan usia subur dan 10% diantaranya mengalami infertilitas. Penyebab infertilitas pada pasangan suami istri dapat diklasifikasikan menjadi 3 golongan dengan proporsi: faktor perempuan 45%, faktor laki-laki 40%, dan faktor idiopatik 15%. Salah satu cara untuk menentukan penyebab faktor laki-laki adalah dengan menilai kualitas semen yaitu analisis semen.<sup>1</sup> Chuang et al<sup>2</sup> menyatakan bahwa hasil analisis semen dari 25% laki-laki infertil adalah asthenozoospermia (abnormalitas pergerakan sperma). Selebihnya adalah gangguan jumlah (oligozoospermia) dan morfologi (teratozoospermia) atau kombinasi antara ketiganya. Parameter analisis semen konvensional yang rutin dilakukan saat ini memiliki variabilitas yang tinggi, kurang terstandar dan tidak dapat dijadikan prediktor yang kuat untuk menilai fertilitas laki-laki.<sup>3</sup>

DNA sel spermatozoa berbeda dengan sel somatik. Integritas DNA spermatozoa penting untuk transmisi informasi genetik.<sup>4</sup> Fragmentasi DNA spermatozoa sebagai akibat gangguan

spermatogenesis, maturasi spermatozoa, stres oksidatif dan infeksi, dapat menyebabkan infertilitas laki-laki. Metode fragmentasi DNA spermatozoa adalah pemeriksaan kualitas spermatozoa yang diharapkan menghasilkan diagnosis dan prognosis yang lebih baik dibandingkan analisis semen konvensional.<sup>5</sup> Berbagai penelitian telah mempelajari penyebaran fragmentasi DNA spermatozoa pada laki-laki fertil dan infertil. Selain itu terdapat penelitian korelasi fragmentasi DNA spermatozoa dengan fertilitas laki-laki dan terhadap luaran teknologi reproduksi berbantu (TRB).

**Struktur DNA dan Kromatin Spermatozoa**

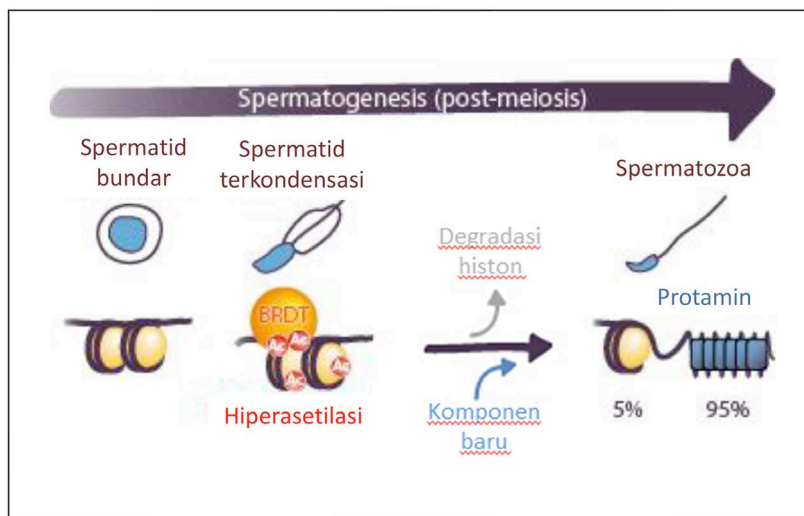
Berbeda dengan sel somatik, spermatozoa manusia memiliki struktur dan integritas fungsional yang dikemas dalam sistem yang unik. Materi DNA spermatozoa manusia dikemas dengan bantuan protein khusus yang mengatur proses kondensasi dan dekompresi melalui mekanisme tertentu. Keseimbangan proses itu disinkronisasi oleh struktur organisasi DNA spermatozoa (Gambar 1).<sup>6</sup>



**Gambar 1. Organisasi DNA Spermatozoa Terorganisir dalam Bentuk Toroid<sup>6</sup>**

Secara struktural, sebagian besar DNA spermatozoa melingkar menjadi toroid, sebagian kecil berikatan dengan histon dan sisanya melekat di matriks inti spermatozoa *matrix attachment regions* (MARs).<sup>6</sup> Organisasi DNA spermatozoa yang paling padat berada di dalam toroid. Selama proses maturasi, sebagian besar protein histon yang berasosiasi dengan DNA digantikan oleh protamin (Gambar 2).<sup>7</sup> Adanya protamin yang berikatan dengan DNA, memungkinkan terjadi proses kondensasi yang lebih erat dan membuat DNA resisten terhadap nuklease.

Protamin terdiri atas pita besar bermuatan positif dan residu arginin yang dinetralkan oleh ikatan fosfodiester DNA. Interaksi tersebut mengurangi *repulsion* antar ikatan DNA, sehingga memungkinkan DNA berlipat-lipat untuk menciptakan toroid yang kompak dan erat. Toroid berbaris berdampingan untuk menghasilkan luas permukaan maksimal.<sup>6</sup> Protamin tidak hanya memberikan pemadatan struktur DNA, tetapi juga memberikan perlindungan dari kerusakan. Ikatan disulfida antar molekul di kromatin sel spermatozoa lebih resisten terhadap kerusakan mekanik dibandingkan dengan sel somatik.<sup>6</sup>



**Gambar 2. Reorganisasi Kromatin Selama Proses Spermatogenesis<sup>7</sup>**

Untuk memperoleh struktur DNA yang padat, proses pengemasan DNA spermatozoa juga merupakan mekanisme kontrol ekspresi gen. Proses tersebut menahan akses ke *reading frame* dan menyebabkan tidak terjadinya ekspresi gen selama spermatogenesis. Saat spermatozoa fusi dengan oosit protamin akan digantikan seluruhnya dengan protein histon yang disediakan oleh oosit saat empat jam pertama. Penggantian tersebut memberikan kesempatan bagi genom paternal untuk meningkatkan akses dalam memproduksi protein. Oleh karena itu, keseluruhan proses pengemasan DNA/kromatin spermatozoa mengindikasikan fungsi struktur toroid untuk melindungi spermatozoa selama perjalanan dalam saluran reproduksi laki-laki dan perempuan hingga terjadinya fertilisasi dan tidak berperan dalam perkembangan embrio.<sup>6</sup>

Struktur DNA spermatozoa lainnya adalah DNA yang terikat dengan histon. Histon terutama berikatan di daerah promotor gen. Seluruh famili

gen yang vital untuk spermiogenesis dan masa fertilisasi awal secara khusus berasosiasi dengan histon di spermatozoa. DNA yang berikatan dengan histon memberikan akses pada *reading frame*. Histon DNA spermatozoa tidak digantikan oleh histon pascafertilisasi yang ditemukan dalam oosit. Hal tersebut memungkinkan kerusakan histon DNA spermatozoa ditransmisikan ke embrio tanpa terdeteksi dan termodifikasi. Kejadian tersebut merugikan karena kebanyakan DNA yang terikat di histon adalah kluster gen yang bertanggungjawab terhadap perkembangan awal embrio.<sup>6</sup>

Selain DNA spermatozoa yang terikat dengan protamin dan histon bentuk terakhir organisasi spermatozoa adalah *matrix attachment region* (MAR). MAR merupakan bagian DNA yang melekat di lingkaran domain kromatin matriks inti kaya protein. MAR berukuran tidak lebih dari 1000 pasang basa dan berada di antara toroid protamin yang menempelkan toroid di tempatnya disebut *toroid linker*. *Toroid linker* berisi histon dan sangat

sensitif terhadap aktivitas nuklease. MAR juga berperan sebagai tempat pemeriksaan integritas DNA spermatozoa setelah fertilisasi. MAR bersama histon terikat DNA lain, langsung berasal dari materi genetik paternal yang diturunkan ke embrio dan penting untuk perkembangan.<sup>6</sup>

**Penyebab Fragmentasi DNA Spermatozoa**

Kerusakan DNA spermatozoa atau struktur kromatinnya dapat terjadi pada tahap manapun pada spermatogenesis. Korelasi positif antara parameter spermatozoa yang jelek dengan kerusakan DNA pada spermatozoa yang matur menunjuk pada masalah spermatogenesis pada individu tertentu.<sup>6,8</sup> Faktor penyebab fragmentasi DNA spermatozoa, terbagi menjadi faktor internal dan eksternal. Faktor internal terdiri atas defek pada proses maturasi spermatozoa, stress oksidatif dan apoptosis abortif

**Defek pada Proses Maturasi Spermatozoa**

Spermatozoa memiliki antioksidan dalam jumlah terbatas sesuai dengan volume sitoplasma yang sedikit. Kondisi tersebut mengakibatkan spermatozoa menjadi rentan terhadap stress oksidatif yang disebabkan *reactive oxygen species* (ROS). Selain itu, plasma membran spermatozoa yang kaya asam lemak tak jenuh untuk menjaga fluiditas membran mengakibatkan spermatozoa mudah berikatan dengan ROS. Mekanisme tersebut menimbulkan stress oksidatif sebagai hasil peroksidasi plasma membran sehingga menyebabkan kerusakan spermatozoa dan mekanisme pertahanannya.<sup>6</sup>

Proses pengemasan DNA spermatozoa unik dan memiliki mekanisme rumit. Kerumitan tersebut dapat memaparkan DNA pada kerusakan yang dapat terjadi pada tahap apapun. Sebagai contoh proses protaminasi tidak teratur mengakibatkan peningkatan stress torsional sehingga menimbulkan kerusakan tambahan yang berimbas pada integritas DNA, produksi protein, dan perkembangan embrio.<sup>6</sup>

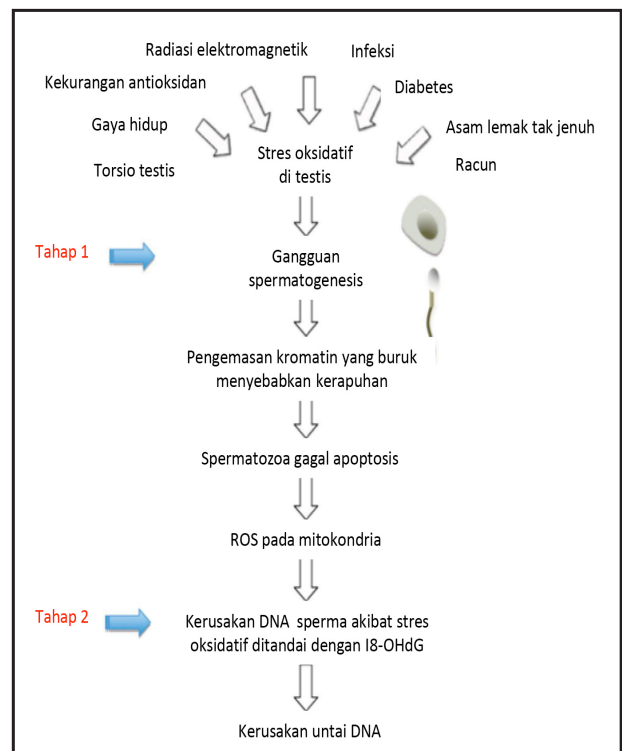
**Stres Oksidatif**

Stres oksidatif terjadi ketika produksi ROS berlebih melampaui kemampuan alami antioksidan untuk menetralkannya. Sebanyak 25-40% laki-laki infertil memiliki semen dengan jumlah ROS meningkat akibat proses kaskade peroksidasi lipid dan degenerasi makromolekul. Komposisi umum

membran sel spermatozoa dengan kemampuan antioksidan terbatas membuat sel sangat rentan terhadap stress oksidatif.<sup>6</sup>

Lekositospermia dan varikokel memiliki korelasi langsung dengan peningkatan kadar ROS dalam semen. Varikokel dapat mempengaruhi tingkat kerusakan DNA spermatozoa melalui dua mekanisme, yaitu secara langsung dengan meningkatkan suhu skrotum atau tidak langsung dengan meningkatkan produksi ROS. IFD dan kadar ROS pada penderita varikokel lebih tinggi dibandingkan yang normal. Pada lekositospermia terjadi peningkatan pelepasan mediator proinflamasi yang mengganggu regulasi spermiogenesis dan berhubungan dengan kerusakan DNA spermatozoa.<sup>6</sup>

Kerusakan DNA spermatozoa akibat stress oksidatif ditandai dengan deteksi 8-hidroksi-2-deoksiganosin (8-OHdG) yang berperan sebagai penanda biologi pada DNA yang rusak dan menggambarkan gangguan struktur DNA yang berpotensi menjadi kerusakan. 8-OHdG dapat digunakan sebagai penanda kerusakan DNA spermatozoa dan kadarnya berkorelasi terbalik dengan kemungkinan terjadinya kehamilan dalam siklus menstruasi tunggal.<sup>6</sup>



**Gambar 3. Hipotesis Asal Usul Kerusakan DNA Spermatozoa<sup>8</sup>**

### Apoptosis Abortif

Apoptosis dalam spermatogenesis merupakan proses alami yang diperlukan untuk menghilangkan spermatozoa tua dan rusak. Selama spermiogenesis, apoptosis berperan penting untuk menyesuaikan jumlah tepat dari sel germinal yang berproliferasi. Protein permukaan sel, yakni Fas membantu mengatur apoptosis di spermatozoa. Protein dan ligand yang berkaitan dengan Fas dapat berperan sebagai penanda tingkat apoptosis.<sup>6</sup>

Pada laki-laki dengan parameter semen abnormal, persentase spermatozoa dengan Fas positif dapat melebihi 50%. Kondisi tersebut berperan terhadap ketidakmampuan sel sertoli untuk merangsang produksi Fas-ligand dan menghasilkan apoptosis. Akibatnya, spermatozoa tersebut dapat menghindari apoptosis, berhasil matang dan membawa kelainan DNA.<sup>6</sup> Selain itu, dapat terjadi defek di jalur apoptosis itu sendiri seperti aktivasi kaspase yang salah. Kaspase merupakan famili dari protease sistein yang berperan dalam tahap awal jalur apoptosis. Kaspase akan memulai kaskade yang mengarah pada kematian sel terprogram. Jika jalur C8/9 ke C3 ke *caspase-activated deoxyribonuclease* (CAD) dilalui dengan benar, maka apoptosis spermatozoa akan dihambat. Mekanisme tersebut mungkin penyebab apoptosis abortif dan meningkatkan proporsi spermatozoa dengan DNA rusak yang seharusnya diarahkan untuk mati.<sup>6</sup>

### Faktor Eksternal

Faktor eksternal juga terlibat sebagai faktor predisposisi untuk kerusakan DNA spermatozoa. Gaya hidup, radiasi, paparan panas, pengobatan dan penggunaan zat terlarang merupakan beberapa contohnya. Gaya hidup seperti merokok, pengobatan dan kafein memiliki dampak terhadap kerusakan DNA spermatozoa.<sup>6</sup>

Merokok merupakan salah satu contoh faktor eksternal yang menyebabkan kerusakan DNA melalui stres oksidatif.<sup>6</sup> Rokok memiliki komponen mutagenik yang dikaitkan dengan penurunan kualitas spermatozoa secara keseluruhan terutama penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa serta peningkatan jumlah spermatozoa abnormal. Dilaporkan bahwa terdapat peningkatan indeks fragmentasi DNA spermatozoa (IFD) pada laki-laki infertil yang merokok.<sup>6,9,10</sup> Penjelasanannya adalah banyaknya metabolit dalam asap rokok yang merangsang pelepasan mediator inflamasi seperti interleukin-6 dan interleukin-8. Mediator tersebut dapat merekrut leukosit sehingga meningkatkan pembentukan ROS di semen. Metabolit rokok juga

berperan dalam *mismatched pairs*, replikasi DNA yang tidak tepat, dan kesalahan sintesis protein.<sup>6</sup>

Lekosit yang terdapat di ejakulat berperan penting untuk imunitas dan fagositosis spermatozoa yang abnormal. Pada keadaan leukospermia, peningkatan konsentrasi leukosit di semen menandakan infeksi atau peradangan saluran genital dan berkaitan dengan peningkatan konsentrasi sel germinal yang imatur.<sup>9</sup>

Banyak pengobatan telah menunjukkan efek negatif terhadap parameter DNA sel-sel di semen. *Alkylating agents* dalam kemoterapi telah diketahui sebagai sumber kerusakan DNA spermatozoa dan efeknya menetap beberapa bulan setelah selesai terapi. Obat seperti *fludarabine*, *cyclophosphamide* dan *busulphan* memiliki efek bervariasi yaitu oligozoospermia, menurunkan volume testis dan kadar testosteron, serta meningkatkan produksi FSH dan LH.<sup>6,9</sup> Kokain dan kafein juga mendegradasi DNA spermatozoa. Paparan kokain meningkatkan kerusakan untai DNA sehingga terjadi apoptosis. Konsumsi kafein berkaitan dengan peningkatan kerusakan DNA untai ganda spermatozoa.<sup>6</sup>

Dalam keadaan normal, plasma semen mengandung faktor yang memiliki berat molekul tinggi dan rendah yang melindungi spermatozoa dari toksisitas radikal bebas. Molekul tersebut termasuk *scavenger* enzimatis dari ROS seperti Cu, Zn, *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase. Oleh karena itu, plasma semen memegang peranan penting sebagai pelindung terhadap ROS dan pembuangannya selama preparasi spermatozoa dapat merusak integritas DNA. Bentuk lain dari pengaruh iatrogenik adalah metoda simpan beku yang digunakan dalam program TRB. Walaupun sesekali terbukti tidak meningkatkan tingkat kerusakan DNA, namun studi lain menemukan bahwa metode simpan beku-pencairan pada TRB secara signifikan merusak DNA spermatozoa laki-laki infertil. Selain itu, beberapa protokol preparasi spermatozoa juga dapat menurunkan integritas kromatin spermatozoa.<sup>6,9,10</sup>

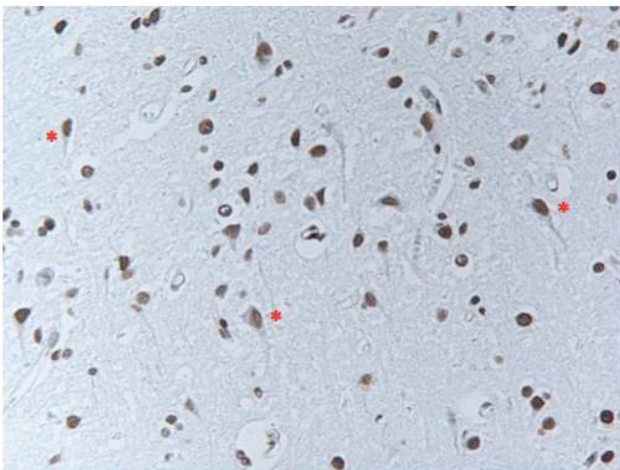
Penyakit yang menyebabkan demam dapat meningkatkan rasio histon protamin dan kerusakan DNA spermatozoa di semen. Varikokel dikaitkan dengan kerusakan DNA spermatozoa. Tingkat kerusakan DNA spermatozoa dikaitkan dengan tingginya stres oksidatif yang ditemukan pada semen laki-laki infertil. Varikokel juga dihubungkan dengan retensi abnormal droplet sitoplasma spermatozoa yang berkorelasi dengan kerusakan DNA spermatozoa pria infertil akan tetapi integritas DNA spermatozoa akan kembali setelah operasi varikokel.<sup>9</sup>

**Pemeriksaan Fragmentasi DNA Spermatozoa**

Terdapat berbagai metode pemeriksaan untuk menganalisis kerusakan DNA spermatozoa.<sup>6</sup> Kerusakan DNA spermatozoa dapat dianalisis menggunakan metode *terminal deoxynucleotidyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate nick end labelling* (TUNEL), *single cell gel electrophoresis assay* (COMET), *in situ nick translation* (ISNT), *sperm chromatin structure assay* (SCSA), dan *sperm chromatin dispersion* (SCD).<sup>6,9</sup>

**Pemeriksaan dengan Metode TUNEL**

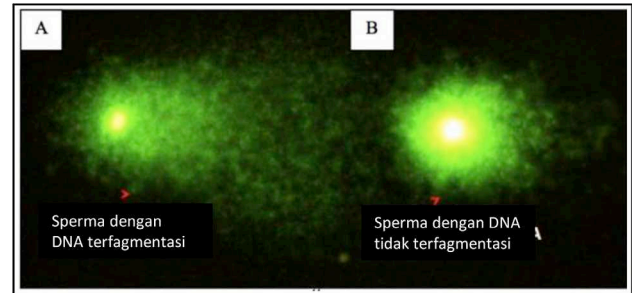
Pada metode TUNEL terjadi penempelan *biotinylated deoxyuridine* (dUTP) ke ujung 3'-OH di untai DNA tunggal dan ganda yang pecah untuk menimbulkan sinyal yang akan meningkat seiring bertambahnya untai DNA yang pecah. Pada metode TUNEL ujung 3'-OH DNA yang terfragmentasi akan dilabel dengan *biotinylated dUTP* menggunakan enzim *recombinant terminal deoxynucleotidyl transferase* (TdT). Nukleotida yang terlabel dapat dideteksi di spermatozoa dengan flowsitometri, mikroskop fluoresens atau mikroskop cahaya. Pada deteksi menggunakan mikroskop fluoresens, DNA spermatozoa normal memiliki kepala telomer di ujung 3' OH yang tidak berfluoresens sedangkan DNA yang terfragmentasi berfluoresens (Gambar 4).<sup>11,12</sup>



**Gambar 4. Hasil Pemeriksaan Metode TUNEL dengan Mikroskop Cahaya. Tanda bintang merah menunjukkan spermatozoa yang terfragmentasi<sup>12</sup>**

**Pemeriksaan dengan Metode COMET**

Metode COMET menggunakan elektroforesis gel untuk menganalisis fragmentasi DNA spermatozoa. Metode tersebut dapat digunakan untuk melihat perbedaan berbagai penyebab fragmentasi DNA, contoh apoptosis atau nekrosis. Sel apoptosis akan membentuk komet karena migrasi dan akumulasi fragmen DNA yang pendek. Intensitas ekor komet menunjukkan tingkat fragmentasi DNA (Gambar 5).<sup>9,13</sup>



**Gambar 5. Hasil Pemeriksaan dengan Metoda COMET.<sup>13</sup> Intensitas ekor komet menunjukkan tingkat fragmentasi DNA. (A) spermatozoa dengan DNA terfragmentasi, (B) spermatozoa dengan DNA tidak terfragmentasi**

**Pemeriksaan dengan Metode ISNT**

ISNT menghitung inkorporasi *biotinylated-dUTP* di potongan DNA untai tunggal pada reaksi katalisasi oleh enzim DNA polimerase I. Pemeriksaan tersebut mengidentifikasi spermatozoa yang memiliki tingkat kerusakan bervariasi namun memiliki nilai klinis terbatas karena tidak terdapat korelasi dengan fertilisasi pada studi *in vivo* serta sensitivitas yang rendah dibandingkan pemeriksaan lain.<sup>9</sup>

**Pemeriksaan dengan Metode SCSA**

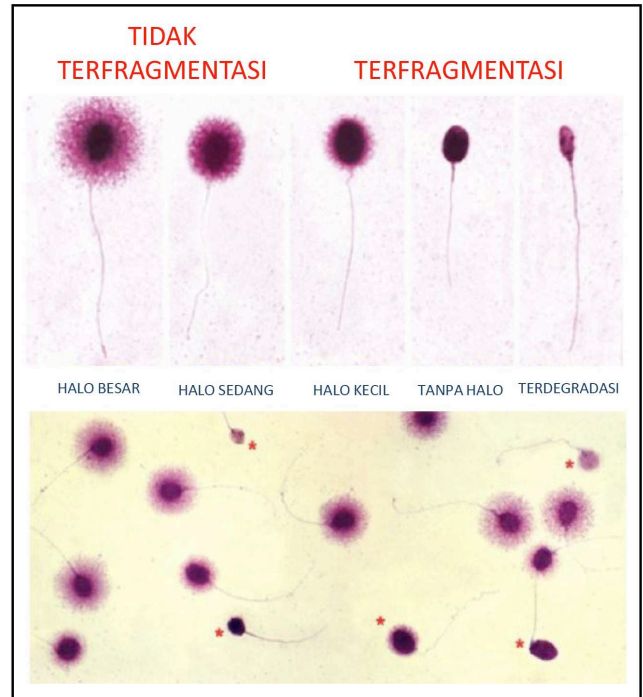
SCSA merupakan teknik untuk mengukur tingkat denaturasi DNA akibat panas atau zat asam. Panas atau zat asam akan mengubah metakromatik fluoresens hijau dengan menambahkan *acridine orange* ke dalam asam nukleat rantai ganda, menjadi fluoresens merah yakni *acridine orange* berasosiasi dengan DNA untai tunggal. Metode tersebut dideteksi dengan flowsitometri.<sup>11</sup> Hasil pemeriksaan dengan metode SCSA seperti pada Gambar 6.<sup>14</sup>



**Gambar 6. Hasil Pemeriksaan SCSA.<sup>14</sup> Fluoresens hijau DNA untai ganda dan merah DNA untai tunggal**

**Pemeriksaan dengan Metode SCD**

SCD memeriksa de kondensasi diferensial kromosom. Spermatozoa dengan fragmentasi DNA akan terlihat lebih kecil dibandingkan spermatozoa DNA yang intak sehingga akan terlihat halo di sekeliling kepala spermatozoa.<sup>15</sup> Tujuan pemeriksaan dengan metode SCD adalah mengukur spermatozoa dengan DNA yang tidak terfragmentasi atau tidak rusak (*non-fragmented*) dengan DNA yang terfragmentasi atau rusak (*fragmented*) berdasarkan ukuran halo. Ukuran halo yang terbentuk pada pemeriksaan ini terbagi menjadi lima yaitu: (1) halo besar, memiliki ukuran yang lebih dari atau sama dengan ukuran diameter terkecil dari inti spermatozoa; (2) halo sedang, memiliki ukuran antara sepertiga hingga setengah diameter terkecil dari inti spermatozoa; (3) halo kecil, memiliki ukuran kurang atau sama dengan sepertiga diameter terkecil dari inti spermatozoa; (4) tanpa halo; (5) tanpa halo dan terdegradasi (Gambar 7).<sup>16</sup> Spermatozoa dengan halo yang berukuran besar dan sedang termasuk dalam spermatozoa dengan DNA yang tidak rusak. Spermatozoa dengan halo yang berukuran kecil, tidak berhalo dan terdegradasi termasuk dalam spermatozoa dengan DNA yang rusak.<sup>16,17</sup>



**Gambar 7. Ukuran Halo pada Pemeriksaan SCD.<sup>16</sup> Tanda bintang merah menunjukkan spermatozoa yang terfragmentasi**

Hasil pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa disebut indeks fragmentasi DNA spermatozoa (IFD). IFD diperoleh dari persentase total spermatozoa dengan DNA yang rusak dibandingkan jumlah spermatozoa yang diamati. Menurut protokol Fernandez, total spermatozoa yang diamati minimal 500 sel.<sup>17</sup> Pengamatan sebaiknya dilakukan secara triplet per hari selama dua hari atau dilakukan oleh dua pengamat yang berbeda. IFD spermatozoa diklasifikasikan menjadi tiga yaitu: baik (IFD 0-15%), sedang (IFD >15 - < 30%) dan buruk (IFD >30%).<sup>18</sup>

**Implikasi Fragmentasi DNA**

**Spermatozoa terhadap Infertilitas Laki-Laki**

Analisis semen konvensional merupakan pemeriksaan infertilitas laki-laki yang sederhana dan tidak mahal, akan tetapi memiliki variabilitas yang tinggi dan kurang terstandar.<sup>3</sup> Pada tatalaksana infertilitas laki-laki, parameter analisis semen konvensional tidak dapat memprediksi

tingkat fertilitas laki-laki setelah terapi. Oleh karena itu, dikembangkan metode lain yang dapat memprediksi fertilitas laki-laki dengan manfaat klinik yang lebih baik yaitu fragmentasi DNA spermatozoa. Hubungan kerusakan DNA spermatozoa dengan luaran program TRB mengarahkan uji integritas DNA spermatozoa sebagai metode pemeriksaan infertilitas laki-laki. Integritas DNA spermatozoa penting dalam transmisi informasi genetik.<sup>4</sup> Fragmentasi DNA spermatozoa sebagai akibat gangguan spermatogenesis, maturasi spermatozoa, stres oksidatif dan infeksi dapat menyebabkan infertilitas laki-laki.

Metode fragmentasi DNA spermatozoa adalah pemeriksaan kualitas spermatozoa independen yang menghasilkan diagnosis dan pendekatan prognosis lebih baik dibandingkan parameter analisis semen konvensional (jumlah, motilitas, morfologi).<sup>5</sup> Walaupun demikian, kisaran hasil pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa masih bervariasi karena perbedaan metoda dan populasi.<sup>19-21</sup> Terdapat korelasi antara faktor-faktor klinik dengan kerusakan DNA spermatozoa. Di antara faktor gaya hidup, merokok merupakan faktor yang menginduksi kerusakan DNA spermatozoa dan menyebabkan penurunan kualitas DNA spermatozoa.<sup>22,23</sup> Selain merokok, konsumsi kafein, alkohol dan kokain juga meningkatkan kerusakan DNA spermatozoa.<sup>6,24</sup>

Metode TUNEL dan SCSA merupakan metode fragmentasi DNA spermatozoa paling kompleks, akurat dan paling banyak digunakan, sehingga dijadikan metode pilihan namun metode SCD merupakan metode sederhana, cepat, akurat, tidak mahal dan tersedia paling banyak.<sup>25</sup> Oleh karena itu, metode SCD cukup potensial dikerjakan secara rutin untuk memeriksa fragmentasi DNA spermatozoa di laboratorium andrologi.

IFD sebagai luaran pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa telah banyak diteliti pada populasi laki-laki fertil dan infertil. Hasil penelitian Fernandez et al<sup>26</sup> menunjukkan bahwa kualitas spermatozoa pada laki-laki infertil lebih rendah dibandingkan laki-laki fertil, terutama dari segi integritas DNA spermatozoa. Kondisi tersebut terlihat hampir pada semua metode pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa yaitu SCSA, TUNEL dan SCD. Fenomena itu juga menjelaskan bahwa pada infertilitas yang tak ter jelaskan dengan hasil analisis semen normal namun infertilitas tetap terjadi mungkin berkaitan dengan tingginya IFD. Dengan kata lain, dapat diasumsikan bahwa bila seorang laki-laki memiliki spermatozoa dengan

jumlah yang cukup, motilitas cepat dengan morfologi yang normal, tetapi IFD tinggi maka perkembangan embrio, implantasi atau bahkan fertilisasi dapat terganggu atau tidak terwujud. Selain itu, terdapat pula penelitian fragmentasi DNA spermatozoa dengan luaran program TRB baik inseminasi intra uterus, fertilisasi in vitro dan *intra cytoplasmic sperm injection*. Penelitian Bungum et al<sup>27</sup> menunjukkan bahwa luaran program TRB, baik kehamilan maupun persalinan pada kelompok IFD<sup>3</sup> 30% lebih rendah dibandingkan dengan kelompok IFD £ 30%. Kondisi tersebut menjelaskan bahwa pada kehamilan alami dan kehamilan dengan program TRB, laki-laki yang termasuk kelompok IFD<sup>3</sup> 30% yang memiliki spermatozoa dengan DNA terfragmentasi dapat tidak mewujudkan kehamilan pasangannya. Penjelasan adalah spermatozoa dengan DNA yang terfragmentasi, kurang atau gagal mengusahakan perbaikan DNA, mulai dari spermiogenesis, fertilisasi, implantasi hingga ke perkembangan embrio.

### Kesimpulan

Analisis semen konvensional yang dapat memprediksi fertilitas laki-laki berupa jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa, tidak lagi dianggap prediktor kuat infertilitas laki-laki. Oleh karena itu, dikembangkan pemeriksaan kualitas spermatozoa yang lebih kuat yaitu pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa. Dari berbagai pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa, SCD merupakan metode sederhana, akurat dan tidak mahal, sehingga memungkinkan untuk dilaksanakan di laboratorium andrologi. Selain menghasilkan diagnosis yang lebih baik, pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa juga menggambarkan prognosis infertilitas berikut luaran program TRB.

### Daftar Pustaka

1. Moeloek N, Ahda Y. Perbandingan kemanjuran dan keamanan beberapa preparat FSH untuk stimulasi ovarium perempuan yang mengikuti program reproduksi berbantu. *Maj Kedokt Indon*. 2001;51:450-4.
2. Chuang WW, Lo KC, Lipshultz LI, Lamb DJ. Male infertility. *Yen and Jaffe's reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology, and clinical management*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia (PA): Elsevier Saunders; 2004.
3. Akashi T, Watanabe A, Komiya A, Fuse H. Evaluation of the sperm motility analyzer system (SMAS) for the assessment of sperm quality in infertile men. *Systems biology in reproductive medicine*. 2010;56(6):473-7.



4. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical utility of sperm DNA integrity testing: a guideline. *Fertility and sterility*. 2013;99:673-7.
5. Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Human reproduction update*. 2003;9(4):331-45.
6. 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.
7. Chromatin dynamics/Chromatin dynamics during gametogenesis. [http://www.epigam.fr/epigam\\_dynamics\\_chromatin.php](http://www.epigam.fr/epigam_dynamics_chromatin.php). Diakses tanggal 7 Mei 2015.
8. Aitken RJ, Koppers AJ. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology*. 2011;13:36-42.
9. Youssry M, Ozmen B, Orif 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.
10. Hekmatdoost A, Lakpour N, Sadeghi MR. Sperm chromatin integrity: etiologies and mechanism of abnormality, assays, clinical importance, preventing and repairing damage. *Avicenna Journal of Medical Ciototechnology*. 2009;1(3):147-60.
11. Shamsi MB, Kumar R, Dada R. Evaluation of nuclear damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction. *Indian J Med Res*. 2008;127:115-23.
12. Diunduh dari [http://iinoprot.com/en\\_productos.asp?idsf=55&id=13&idp=121](http://iinoprot.com/en_productos.asp?idsf=55&id=13&idp=121). Diakses tanggal 4 Juni 2015
13. Shamsi MB, Imam SN, Dada R. Sperma DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and implications in management of infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28:1073-85.
14. Fertility & pregnancy channel. Diunduh dari [http://www.ivanhoe.com/channel/p\\_channelstoroy.cfm?storyid=5126](http://www.ivanhoe.com/channel/p_channelstoroy.cfm?storyid=5126). Diakses tanggal 4 Juni 2015.
15. Lewis SEM, Aitken RJ, Conner SJ, De lullis G, Evenson DP, Henkel R, et al The impact of sperm DNA damage in assisted conception and beyond: recent advances in diagnosis and treatment. *Reproductive BioMedicine Online*. 2013;27:325-37.
16. Fernandez JL. Simple analysis of DNA fragmentation in human sperm cells: the sperm chromatin dispersion test. Diunduh dari [www.elai.upm.es/webantigua/spain/Publicaciones/pub04/testSCD\\_Paris04.pdf](http://www.elai.upm.es/webantigua/spain/Publicaciones/pub04/testSCD_Paris04.pdf). Diakses tanggal 4 Juni 2015.
17. Fernandez JL, Muriel L, Goyanes V, Segrelles E, Gosalvez J, Enciso M, et al Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertility and sterility*. 2005;84(4).
18. Mathwig A, Topfer F, Pfeiffer L, Belitz B. Detection of DNA damage in human spermatozoa with Halosperm Test. *Halosperm Poster*, 2010.
19. Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction*. 2008;23(12):2663-8.
20. Wang YJ, Zhang RQ, Lin YJ, Zhang RG, Zhang WL. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*. 2012;25(3):307-14.
21. Ribas-Maynou J, García-Peiró A, Fernández-Encinas A. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay. *Andrology*. 2013;1(5):715-22.
22. Shen HM, Chia SE, Ong CN. Evaluation of oxidative DNA damage in human sperm and its association with male infertility. *Journal of Andrology*. 1999;20(6):718-23.
23. Zenzes MT. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Human Reproduction Update*. 2000;6(2):122-1.
24. Hansen ML, Thulstrup AM, Bonde JP, Olsen J, Håkonsen LB, Ramlau-Hansen CH. Does last week's alcohol intake affect semen quality or reproductive hormones? A cross-sectional study among healthy young Danish men. *Reproductive Toxicology*. 2012;34(3):457-62.
25. Komiya A, Kato T, Kawauchi Y, Watanabe A, Hideki F. Clinical factor associated with sperm DNA fragmentation in male patient with infertility. *The scientific world journal*. 2014;1-13.
26. Crohan KR, Griffin JT, Lafromboise, De jonge CJ, Carrel DT. Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm. *Journal of Andrology*. 2006;27(1):53-9.
27. Bungum M, Humaidan O, Axmon A, Spano A, Bungum L, Erenpreiss J et al Sperma DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Human reproduction*. 2006;22(1):174-9.