**PENGARUH FRAGMENTASI DNA SPERMA TERHADAP
ANGKA FERTILISASI DAN EMBRIOGENESIS*****EFFECT OF SPERM DNA FRAGMENTATION ON
FERTILIZATION AND EMBRYOGENESIS RATE*****Batara Imanuel Sirait**

Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia

E-mail: batara.sirait@uki.ac.id

Abstrak

Latar Belakang: Pemeriksaan fragmentasi DNA sperma sudah mulai banyak digunakan dalam upaya memperoleh keturunan pada pasangan subfertil yang mengikuti program bayi tabung. Pemeriksaan Sperm Chromatin Dispersion (SCD) merupakan salah satu pemeriksaan dengan metodologi yang simpel dan relatif mudah dilakukan untuk kepentingan klinis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh fragmentasi DNA sperma terhadap angka fertilisasi dan embriogenesis. Metode: Penelitian observasional ini dilakukan dengan mengambil sampel semen pria dari pasangan infertil yang mengikuti program IVF-ICSI, dilakukan pemeriksaan analisis sperma sesuai kriteria WHO dan penilaian indeks fragmentasi DNA sperma. Setelah dilakukan ICSI kemudian dilakukan penilaian fertilisasi dan embriogenesis, dilanjutkan dengan analisis menghitung korelasi. Rancangan penelitian adalah cross sectional untuk melihat korelasi antara indeks fragmentasi DNA sperma dengan angka fertilisasi dan embriogenesis. Hasil: Pada periode penelitian selama 10 bulan, Dari analisis indeks fragmentasi DNA sperma dengan angka fertilisasi terlihat bahwa fertilisasi yang baik (Z1 dan Z2) lebih banyak terdapat pada kelompok dengan indeks fragmentasi DNA sperma 30%, dan berbeda bermakna secara statistik dengan $p < 0.05$, dan dari analisis indeks fragmentasi DNA sperma dengan skoring embrio terlihat skoring embrio yang lebih baik (grade A dan B) pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma 30%, yang tidak bermakna secara statistik. Kesimpulan: Angka fragmentasi DNA sperma dapat menunjukkan hubungan negatif dengan angka fertilisasi tetapi tidak dapat menunjukkan hubungan yang bermakna secara statistik dengan angka embriogenesis. Terlihat hubungan yang bermakna secara statistik antara parameter analisis sperma sesuai kriteria WHO dengan indeks fragmentasi DNA yang diperiksa menggunakan metode SCD.

Kata kunci: Indeks fragmentasi DNA sperma, Fertilisasi, Embriogenesis**Abstract**

Background: Sperm DNA fragmentation testing has begun to be widely used in efforts to obtain offspring in subfertile couples participating in IVF programs. Sperm Chromatin Dispersion (SCD) examination is one of the examinations with a simple and relatively easy methodology for clinical purposes. The purpose of this study was to determine the effect of sperm DNA fragmentation on fertilization and embryogenesis rates. Methods: This observational study was conducted by taking male semen samples from infertile couples who participated in the IVF-ICSI program, sperm analysis according to WHO criteria and sperm DNA fragmentation index assessment. After ICSI was carried out, fertilization and embryogenesis assessments were carried out, followed by correlation analysis. The research design was cross sectional to see the correlation between sperm DNA fragmentation index with fertilization and embryogenesis rates. Results: In the study period of 10 months, from the analysis of sperm DNA fragmentation index with

fertilization rate, it was seen that good fertilization (Z1 and Z2) was more in the group with 30% sperm DNA fragmentation index, and statistically significant with $p < 0.05$, and from the analysis of sperm DNA fragmentation index with embryo scoring, it was seen that better embryo scoring (grade A and B) in the 30% sperm DNA fragmentation index group, which was not statistically significant. Conclusion: Sperm DNA fragmentation index can show a negative relationship with fertilization rate but cannot show a statistically significant relationship with embryogenesis rate. There was a statistically significant relationship between sperm analysis parameters according to WHO criteria and DNA fragmentation index examined using the SCD method.

Key words: *Sperm DNA fragmentation index, Fertilization, Embryogenesis*

PENDAHULUAN

Infertilitas dapat disebabkan baik oleh faktor wanita, pria dan keduanya. Merupakan keadaan yang kompleks dimana sering kali gabungan dari beberapa faktor memegang peranan penting. Secara tradisional infeksi genital, gangguan endokrin dan faktor imunologi dianggap sebagai penyebab terbanyak dari subfertilitas pria. Akan tetapi saat ini sering kali penyebab genetik/molekuler ditemukan sebagai faktor yang berperan, seperti kerusakan kromatin yang dinilai sebagai defragmentasi pada DNA sperma. Akan tetapi nyatanya 60-75% kasus menurunnya kualitas semen tidak dapat dijelaskan dan karenanya didiagnosis sebagai infertilitas idiopatik. Baku emas diagnosis infertilitas atau subfertilitas pria ialah analisis sperma yang meliputi konsentrasi, motilitas dan morfologi sesuai standar yang ditentukan oleh WHO. Selama dekade terakhir ini beberapa pemeriksaan fungsi sperma telah dianjurkan untuk digunakan, termasuk *vital staining*, *hemizona assay*, *biochemical analysis of semen*, *antisperm antibody test*, *hypoosmotic swelling test*, *sperm penetration assay*, *Reactive Oxygen Species (ROS) tests*, dan *computer-assisted sperm analysis (CASA)*.(Dohle et al., 2002; Taylor et al., n.d.).

Beberapa teknik pemeriksaan telah diajukan untuk mempelajari kelainan tersebut. Beberapa yang sampai sekarang masih digunakan ialah teknik TUNEL, Comet, oranye akridin, dan *Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA)*. Selanjutnya terdapat juga pemeriksaan *Sperm Chromatin Dispersion (SCD)* yang ternyata merupakan pemeriksaan yang cukup akurat untuk menilai fragmentasi DNA sperma. Pemeriksaan ini didasarkan pada ada-tidaknya halo dengan cara memberikan cairan asam pada sperma yang kemudian dilanjutkan dengan *lysis buffer*, halo dispersi DNA dapat terlihat pada inti sperma dengan DNA yang tidak terfragmentasi setelah hilangnya protein inti dan pada sperma dengan DNA yang terfragmentasi halo ini terlihat kecil atau tidak terbentuk sama sekali. (Benchaib et al., 2003; Evenson & Wixon, 2006; Hourcade et al., 2010; Shaman et al., 2007)

Pengertian kita mengenai fungsi reproduksi wanita dan pentingnya faktor pria pada infertilitas meningkat secara bermakna selama dekade terakhir ini. Dahulu pasangan wanita merupakan fokus perhatian utama dan faktor suami

dianggap penyebab infertilitas yang relatif tidak lazim. Sekarang telah diketahui bahwa abnormalitas pada pria dapat merupakan penyebab tunggal infertilitas pada kira-kira 20% pasangan infertilitas dan berperan penting pada 20–40% pasangan dengan kelainan reproduksi. (Gil-Villa et al., 2009; Simon et al., 2011; Tamburrino et al., 2012; Taylor et al., n.d.)

Efek dari Fragmentasi DNA sperma pada infertilitas telah menjadi subyek dari beberapa penelitian. Sebelumnya 10-20% fragmentasi DNA sperma telah dilaporkan pada sperma ejakulat. Pria infertil dengan motilitas dan morfologi yang buruk telah diduga mengalami peningkatan fragmentasi DNA sperma bila dibandingkan dengan pria dengan parameter sperma yang normal. Pria dengan parameter sperma yang normal juga dapat memiliki fragmentasi DNA sperma yang tinggi, yang dapat merupakan alasan terjadinya infertilitas yang tidak terjelaskan. *Aberrant chromatin packaging* pada saat spermatogenesis, *defective apoptosis* sebelum ejakulasi atau produksi berlebih dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) menyebabkan fragmentasi DNA sperma, akan tetapi mekanisme yang mendasari keadaan tersebut belum jelas. Masih terdapat kontroversi pada efek kerusakan DNA sperma pada luaran reproduksi. Beberapa pemeriksa menemukan bahwa kehamilan klinis dipengaruhi secara terbalik dengan kerusakan DNA sperma pada kasus ICSI. Terlebih lagi fertilisasi yang diperoleh melalui sperma yang memiliki fragmentasi DNA dapat menyebabkan perkembangan embrionik yang buruk, berkurangnya angka implantasi dan kehamilan. Pemeriksa lain menemukan bahwa kerusakan DNA sperma menyebabkan inefektivitas pada fertilisasi, penurunan kualitas embrio dan angka kehamilan pada IVF dan ICSI. (Brazil, 2010; Khalili et al., 2006; Manicardi et al., 1995; Moustafa et al., 2004; Shaman et al., 2007)

Banyak penelitian menunjukkan bahwa efek paternal dapat menyebabkan kegagalan berulang proses tehnik reproduksi berbantu. Banyak penulis telah menunjukkan bahwa efek paternal tersebut dapat ditelusuri sampai kepada anomali organisasi kromatin sperma. Sperma dari pria subfertil memiliki ciri yaitu rentan terhadap denaturasi insitu yang diinduksi oleh asam, berkurangnya kondensasi kromatin, anomali kromosom dan/atau peningkatan fragmentasi DNA. Terlihat banyak sperma dengan perubahan stuktur kromatin memiliki

efek negatif pada luaran prosedur TRB. Penelitian-penelitian tersebut memfokuskan diri pada pemeriksaan kemungkinan korelasi antara perubahan kromatin paternal dan angka fertilisasi, pembelahan embrio, perkembangan blastosist dan kehamilan klinis baik pada IVF maupun ICSI. Penemuan-penemuan tersebut menyatakan bahwa perubahan genomik paternal dapat membahayakan fertilisasi, kualitas embrio dan juga viabilitas embrio dan kelangsungan kehamilan, yang menyebabkan abortus spontan. Saat ini, sejumlah penelitian pada pria dan juga binatang telah menggaris-bawahi pentingnya faktor paternal, termasuk usia pria atau paparan terhadap material beracun pada kasus abortus spontan, akan tetapi hubungan antara perkembangan awal embrio pasca implantasi pada pasangan yang melakukan TRB dan pemeriksaan integritas DNA sperma masih perlu penjelasan lebih lanjut. Efek perubahan integritas kromatin sperma pada perkembangan awal embrio pasca implantasi masih merupakan perdebatan. (Knez et al., 2011; Tesarik et al., 2004)

Fertilisasi mamalia dan perkembangan embrio selanjutnya sebagian bergantung pada integritas DNA sperma. Bahkan sepertinya terdapat angka ambang kerusakan DNA sperma (fragmentasi DNA, kromatin abnormal dan defisiensi protamin) dimana diatas angka tersebut perkembangan embrio dan kehamilan dapat terganggu. Pemeriksaan integritas sperma telah dikembangkan dan diaplikasikan secara klinis. Fragmentasi DNA sperma semakin dimengerti sebagai penyebab yang penting dari infertilitas. Penelitian klinis akhir-akhir ini menyatakan bahwa tingkat fragmentasi DNA sperma diatas 30% yang diukur dengan metode SCSA tidak kompatibel dengan inisiasi dan terjadinya kehamilan cukup bulan. Data terkini menunjukkan bahwa nilai pemeriksaan SCSA yang disebut sebagai Indeks Fragmentasi DNA berkorelasi bermakna dengan angka kehamilan baik *in vivo* maupun *in vitro*. Seluruh kehamilan terjadi ketika angka Indeks Fragmentasi DNA kurang dari 30%. (Cohen-Bacrie et al., 2009)

SCD tidak diciptakan sebagai pengganti SCSA. Akan tetapi, seperti SCSA, SCD juga dapat membedakan fragmentasi DNA sperma. Hasil pemeriksaan fragmentasi DNA sperma dengan metode SCD juga konsisten bila dibandingkan dengan hasil pemeriksaan menggunakan metode SCSA. Hal ini

menunjukkan bahwa walaupun dengan peralatan dan prosedur yang jauh lebih sederhana pemeriksaan SCD merupakan pemeriksaan yang cepat, relatif murah, akurat dan dapat dilakukan berulang dengan akurasi yang sebanding dengan pemeriksaan SCSA. Karenanya pemeriksaan SCD berpotensi untuk digunakan sebagai pemeriksaan penyaring rutin pada fragmentasi DNA sperma. (Hourcade et al., 2010; Zini et al., 2001)

Hasil ini dikonfirmasi dengan *DNA Breakage Detection-Fluorescence In Situ Hybridization* (DBD-FISH), sebuah prosedur yang menggunakan *restricted single-stranded DNA motifs* yang dihasilkan dari kerusakan DNA dapat dideteksi dan dihitung. Jadi fragmentasi DNA yang tercermin dari ukuran halo dapat ditentukan secara akurat dengan menggunakan pemeriksaan SCD yang merupakan teknik yang simpel, akurat, dapat diulang dengan baik dan tidak mahal. Dalam protokol SCD, nukleoid sperma dapat dilihat menggunakan mikroskop fluoresens setelah diwarnai dengan *DNA specific fluorochrome* (*6-diamino-2-phenylindole* [DAPI]) atau dengan mikroskop cahaya setelah pewarnaan Diff-Quik. Kemudahan penggunaan dan

interpretasi SCD serta teknik yang sensitif dan dapat diandalkan membuatnya berpotensi untuk dikerjakan pada berbagai penelitian dasar pada laboratorium klinis, berbeda dengan SCSA yang lebih kompleks. (Agarwal & Allamaneni, 2004; Hourcade et al., 2010; Zini et al., 2001)

MATERI DAN METODE

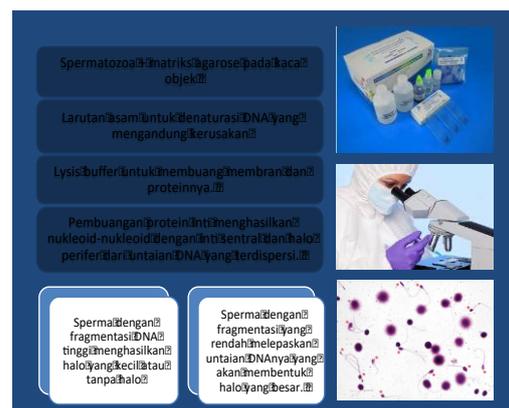
Jenis penelitian ini adalah observasional, dengan mengambil sampel semen pria infertil yang mengikuti program IVF-ICSI, dilakukan pemeriksaan analisis sperma dengan kriteria WHO dan penilaian indeks fragmentasi DNA sperma. Setelah dilakukan ICSI kemudian dilakukan penilaian fertilisasi dan embryogenesis. Kemudian dilakukan analisis dengan menghitung korelasi. jumlah subyek penelitian yang sesuai dengan kriteria inklusi adalah 29 pasangan infertil dengan 29 sampel sperma ejakulat dan 200 oosit.

Untuk analisis beda rerata 2 kategori menggunakan Uji T sedangkan yang lebih dari 2 kategori memakai Uji Anova. Analisis untuk jenis variabel kategorikal menggunakan Uji Chi-square.

Rancangan penelitian adalah *Cross-sectional* untuk melihat adanya korelasi antara Indeks fragmentasi DNA sperma dengan angka fertilisasi dan embryogenesis. Kriteria Inklusi ialah: Sperma pasien yang mengikuti Program Bayi Tabung (IVF) dengan metode ICSI di Klinik Permata Hati RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta yang bersedia mengikuti penelitian. Kriteria Eksklusi: Pasangan yang mengikuti Program Bayi Tabung (IVF) dengan metode ICSI di Klinik Permata Hati RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta dengan Wanitanya menderita Polikistik ovarium dan atau Endometriosis. Besar sampel ialah Proportif Sampel, pasien yang datang untuk mengikuti program bayi tabung (IVF) dengan metode ICSI di Klinik Permata Hati RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta periode Juli 2012 sampai Mei 2013. Peneliti telah memperoleh keterangan kelaikan etik (*Ethical Clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Biomedis pada Manusia Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Spermatozoa intak dilarutkan dalam matriks agarose pada kaca objek, diberikan larutan asam untuk denaturasi DNA yang mengandung kerusakan, kemudian diberikan lysis buffer untuk

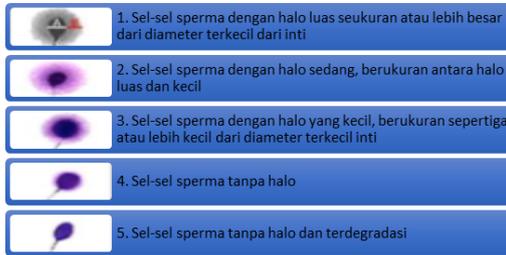
membuang membran dan proteinnya. Matriks agarose memungkinkan untuk dapat bekerja tanpa sperma yang difiksasi pada kaca objek dalam lingkungan seperti suspensi. Pembuangan protein inti menghasilkan nukleoid-nukleoid dengan inti sentral dan halo perifer dari untaian DNA yang terdispersi. Dengan menggunakan pewarnaan fluoresens, didapatkan nukleus sperma dengan peningkatan fragmentasi DNA menghasilkan halo yang sangat kecil atau tidak adanya halo dari dispersi DNA, dimana sperma dengan tingkat fragmentasi yang rendah melepaskan untaian DNA yang akan membentuk halo yang besar.



Gambar 1. Alur Pemeriksaan Sperm Chromatin Dispersion

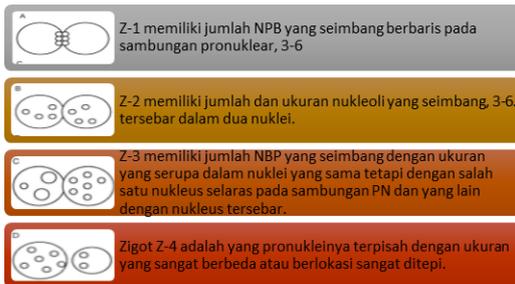
Adapun penilaian hasil pemeriksaan fragmentasi DNA sperma dengan menggunakan metode sperm chromatin dispersion dilakukan dengan

melihat ukuran halo yang terbentuk disekitar inti sel-sel sperma.



Gambar 2. Penilaian Fragmentasi DNA Sperma dengan Metode SCD

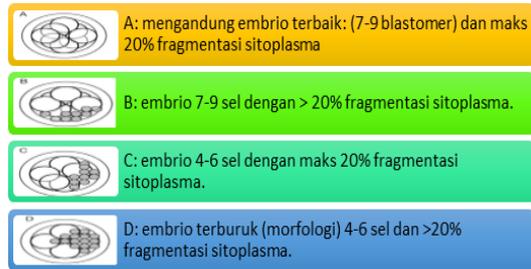
Scott et al menggunakan sistem skoring-Z untuk membagi zigot dalam empat kategori berdasarkan penilaian ukuran dan keselarasan inti dan juga jumlah dan distribusi nukleoli. (Scott et al., 2000)



Gambar 3. Sistem skoring-Z (Scott L et al, 2000)

Baczkowski T et al menggunakan sistem skoring seperti dibawah ini untuk membagi embrio kedalam empat kelompok dimana embrio yang termasuk kelompok A dan B merupakan embrio yang dianggap baik, sedangkan yang termasuk kelompok C dan D merumakan embrio yang dianggap kurang baik

dengan resiko terjadinya defek kongenital bila dilakukan transfer embrio.



Gambar 4. Penilaian morfologi embrio hari ketiga (Baczkowski T et al, 2004)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada periode penelitian kami selama 10 bulan ini, jumlah subyek penelitian setelah mengeluarkan pasien dengan diagnosis endometriosis dan PCOS sesuai dengan kriteria eksklusi adalah 29 pasangan infertil dengan 29 sampel sperma ejakulat dan 200 oosit. Uji statistik yang di pakai adalah uji parametrik.

Variabel	Indeks Fragmentasi DNA Sperma	
	≤30% N (%)	>30% N (%)
Analisis Sperma WHO		
Normozoospermia	28 (23.1%)	0
Oligozoospermia	5 (4.1%)	11 (14.1%)
Asthenozoospermia	34 (28.1%)	20 (25.6%)
Oligoasthenozoospermia	3 (2.5%)	0
Teratozoospermia	20 (16.5%)	14 (17.9%)
Oligoasthenoteratozoospermia	31 (25.6%)	33 (42.3%)

Gambar 5. Hasil Analisis Indeks Fragmentasi DNA Sperma dengan pemeriksaan parameter-parameter Sperma WHO

P<0.001

Dari Analisis Indeks Fragmentasi DNA Sperma dengan Analisis Sperma WHO terlihat pada kelompok indeks

fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$ didominasi oleh hasil analisis sperma WHO yang asthenozoospermia, oligoasthenoteratozoospermia, normozoospermia dan teratozoospermia. Pada kelompok $>30\%$, didominasi oleh oligoasthenoteratozoospermia, asthenozoospermia, teratozoospermia dan diikuti dengan normozoospermia. Hasil tersebut secara statistik terlihat ada

Variabel	Angka Fertilisasi				
	Negatif	Z1	Z2	Z3	Z4
Indeks Fragmentasi DNA Sperma					
$\leq 30\%$	59 (60.2%)	9 (81.8%)	48 (60.8%)	1 (14.3%)	4 (100.0%)
$>30\%$	39 (39.8%)	2 (18.2%)	31 (39.2%)	6 (85.7%)	0

perbedaan yang bermakna $p < 0.05$.

Gambar 6. Hasil Analisis Indeks Fragmentasi DNA Sperma dengan Angka

$P=0.027$

Dari Analisis Indeks Fragmentasi DNA Sperma dengan Angka Fertilisasi terlihat bahwa fertilisasi yang baik (Z1 dan Z2) lebih banyak terdapat pada kelompok dengan indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$, akan tetapi terdapat hasil yang bertentangan dimana fertilisasi yang negatif ternyata juga lebih banyak terdapat pada kelompok dengan indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$. Hasil dari analisis tabel diatas antara indeks fragmentasi DNA dengan angka fertilisasi didapatkan hasil yang berbeda bermakna secara statistik $p < 0.05$.

Variabel	Negatif	Fertilisasi			
		1	2	3	4
Analisis Sperma WHO					
Normozoospermia	8 (8.2%)	(36.4%)	6 (20.3%)	0	0
Oligozoospermia	5 (5.1%)	0	1 (13.9%)	0	0
Asthenozoospermia	27 (27.6%)	0	0 (25.3%)	(42.9%)	(100.0%)
Oligoasthenozoospermia	1 (1.0%)	(18.2%)	0	0	0
Teratozoospermia	19 (19.4%)	(18.2%)	3 (16.5%)	0	0
Oligoasthenoteratozoospermia	38 (38.8%)	(27.3%)	9 (24.1%)	(57.1%)	0

Gambar 7. Hasil Analisis Indeks Fragmentasi DNA Sperma dengan Skoring Embrio

$P=0.464$

Dari Analisis Indeks Fragmentasi DNA Sperma dengan Skoring Embrio terlihat skoring embrio yang lebih baik (Grade A dan B) pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$, akan tetapi terdapat hasil yang bertentangan dimana embriogenesis yang negatif ternyata juga lebih banyak terdapat pada kelompok dengan indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$. Hasil dari analisis tabel diatas antara indeks fragmentasi DNA dengan Skoring Embrio didapatkan hasil yang tidak bermakna secara statistik $p > 0.05$.

Variabel	Angka Fertilisasi				
	Negatif	Z1	Z2	Z3	Z4
Indeks Fragmentasi DNA Sperma					
$\leq 30\%$	59 (60.2%)	9 (81.8%)	48 (60.8%)	1 (14.3%)	4 (100.0%)
$>30\%$	39 (39.8%)	2 (18.2%)	31 (39.2%)	6 (85.7%)	0

Gambar 8. Hasil analisis pemeriksaan parameter-parameter Sperma WHO dengan Angka Fertilisasi

$P < 0.001$

Dari Hubungan Analisis Sperma WHO dengan Angka Fertilisasi terlihat fertilisasi yang lebih baik (Z1) lebih banyak terdapat pada kelompok analisis

sperma WHO yang normozoospermia bila dibanding dengan masing-masing kelompok yang lain, diikuti dengan oligoasthenoteratozoospermia, kemudian selanjutnya oligoasthenozoospermia dan teratozoospermia dengan angka yang masing-masing sama. Sedangkan untuk Z2 lebih banyak terdapat pada kelompok asthenozoospermia diikuti dengan aligoasthenoteratozoospermia, normozoospermia, teratozoospermia dan oligozoospermia. Sedangkan hasil fertilisasi yang negatif terbanyak pada kelompok oligoasthenoteratozoospermia. Hasil dari analisis tabel diatas antara analisis sperma WHO dengan angka fertilisasi didapatkan hasil yang bermakna secara statistik $p < 0.05$.

Variabel	Skoring Embriogenesis				
	Negatif	A	B	C	D
Analisis Sperma WHO					
Normozoospermia	1 (10.0%)	62 (53%)	18 (16%)	11 (11%)	0
Oligozoospermia	4 (5%)	0	4 (9.3%)	7 (19.4%)	0
Asthenozoospermia	8 (25.5%)	3 (37.5%)	1 (25.6%)	11 (30.6%)	1 (50.0%)
Oligoasthenozoospermia	1 (0.9%)	0	0	2 (5.6%)	0
Teratozoospermia	3 (20.9%)	0	8 (18.6%)	3 (8.3%)	0
Oligoasthenoteratozoospermia	2 (38.2%)	0	12 (27.9%)	9 (25.0%)	1 (50.0%)

Gambar 9. Hasil analisis pemeriksaan parameter-parameter Sperma WHO dengan Skoring Embriogenesis $P=0.006$

Dari Hubungan Analisis Sperma WHO dengan Skoring Embriogenesis terlihat skoring embrio yang lebih baik (Grade A) pada analisis sperma WHO yang normozoospermia bila dibanding dengan masing-masing kelompok yang lain dan juga terlihat skoring embrio yang lebih buruk (Grade C dan D) pada

kelompok yang tidak normal yaitu asthenozoospermia dan kelompok yang lain, diikuti dengan oligoasthenoteratozoospermia. Skoring embriogenesis yang negatif terbanyak pada kelompok oligoasthenoteratozoospermia diikuti oleh asthenozoospermia dan teratozoospermia. Hasil dari analisis tabel diatas Hubungan Analisis Sperma WHO dengan Skoring Embriogenesis didapatkan hasil yang bermakna secara statistik $p < 0.05$.

Pada penelitian ini kami berupaya menyingkirkan faktor yang dapat mempengaruhi kualitas oosit seperti PCOS dan Endometriosis, sehingga subyek penelitian yang termasuk dalam penelitian ini hanya terdiri dari kasus infertilitas yang disebabkan oleh faktor pria, mioma uteri, kedua tuba non paten, hidrosalfings dan unexplained infertility. Hal ini kami lakukan sebagai upaya untuk mendapatkan hasil yang lebih dapat dipercaya, walaupun karenanya kami hanya mendapatkan 29 pasangan infertil dan 200 oosit selama periode penelitian.

Dari hasil analisis indeks fragmentasi DNA sperma dengan pemeriksaan parameter-parameter sperma WHO, terlihat bahwa kelompok

indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$ justru didominasi oleh kelompok yang tidak normal akan tetapi pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $> 30\%$ kami tidak mendapatkan normozoospermia sedangkan pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$ kami dapatkan 23.1%. Hal ini sesuai dengan penelitian Lin et al yang dalam penelitiannya dengan 86 kasus ICSI mendapatkan ada pengaruh antara fragmentasi DNA sperma terhadap motilitas sperma dan juga Irvine et al yang menyatakan ada hubungan negatif yang sangat bermakna antara konsentrasi sperma dan kerusakan DNA sperma. (Lin et al., 2008)

Dari hasil analisis indeks fragmentasi DNA sperma dengan angka fertilisasi terlihat angka fertilisasi yang lebih baik jauh lebih banyak terdapat pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$, sesuai dengan penelitian Muriel et al dan Benchaib et al yang menyatakan adanya korelasi negatif antara tingkat fragmentasi DNA sperma dengan angka fertilisasi. (Benchaib et al., 2003; Fernández et al., 2003). Akan tetapi pada kelompok fertilisasi yang negatif juga lebih banyak terdapat pada

kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$.

Dari hasil analisis indeks fragmentasi DNA sperma dengan skoring embrio dapat diperoleh gambaran bahwa skoring embriogenesis yang lebih baik terjadi pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$, sesuai dengan hasil yang diperoleh oleh Bungum et al pada penelitiannya tahun 2004 dimana angka kehamilan biokimia pada kelompok fragmentasi DNA sperma $< 27\%$ (51.2%) lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok fragmentasi DNA sperma $> 27\%$ (47.1%) dan juga Virro et al yang menyatakan pria dengan fragmentasi DNA sperma $> 30\%$ berisiko lebih tinggi untuk rendahnya angka blastokist ($< 30\%$) dan juga terhentinya kehamilan. (Bungum et al, 2004; Virro et al, 2005). Akan tetapi kami juga mendapatkan embriogenesis yang negatif juga ternyata lebih tinggi pada kelompok indeks fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$.

Dari hasil analisis pemeriksaan parameter-parameter sperma WHO dengan angka fertilisasi terlihat bahwa kelompok normozoospermia terbanyak menghasilkan fertilisasi dengan kualitas terbaik (Z1) akan tetapi pada kelompok

Z2 didominasi oleh kelompok-kelompok yang tidak normal yaitu asthenozoospermia dan oligoasthenoteratozoospermia. Fertilisasi yang negatif terbanyak berasal dari kelompok oligoasthenoteratozoospermia.

Dari hasil analisis pemeriksaan parameter-parameter sperma WHO dengan skoring embriogenesis didapat gambaran skoring embriogenesis Grade A terbanyak pada analisis sperma WHO yang normozoospermia.

Variasi luaran dari fragmentasi DNA sperma ini mungkin dapat dijelaskan sebagai berikut; pertama, fragmentasi DNA sperma mungkin tidak menunjukkan kerusakan yang serupa baik secara kuantitas maupun secara kualitas. Kedua, luaran mungkin merupakan sebuah keseimbangan antara kerusakan DNA sperma dan kemampuan memperbaiki dari oosit. (Karydis S et al, 2005). Li Z et al dalam sebuah systematic review dan meta analysis mendapatkan bahwa kerusakan DNA sperma tidak memberikan dampak yang bermakna pada kesempatan untuk mendapatkan kehamilan klinis pada pasien yang dilakukan IVF atau ICSI. (Li Z et al, 2006).

Terdapat hasil yang bertentangan mengenai efek fragmentasi DNA sperma pada parameter-parameter semen dan juga mengenai perlu-tidaknya pemeriksaan sperm chromatin assays sebagai pemeriksaan laboratorium rutin. Beberapa penelitian melaporkan tidak ada hubungan antara fragmentasi DNA sperma dan parameter-parameter semen, sedangkan yang lain menemukan hubungan negatif pada beberapa atau seluruh parameter.

Data yang kami peroleh menunjukkan hasil yang signifikan pada hubungan antara untuk memperoleh fertilitasi tetapi tidak signifikan secara statistik pada hubungan antara fragmentasi DNA sperma dengan embriogenesis walaupun terlihat perbedaan angka yang cukup mencolok antara kelompok fragmentasi DNA sperma $\leq 30\%$ dan $>30\%$. Hal ini mungkin terjadi karena jumlah subyek penelitian yang sedikit pada penelitian kami ini, akan tetapi hal ini juga dimungkinkan dengan adanya kompleksitas integritas genomik spermatozoa sebagai faktor penentu dalam TRB.

Telah diketahui juga bahwa oosit memiliki kemampuan untuk

memperbaiki DNA sperma yang terfragmentasi dimana hal ini juga kemungkinan dapat berpengaruh besar terhadap luaran dari penelitian. Sebagai tambahan integritas DNA sperma tidak dapat dianggap sebagai gambaran absolut dari semua efek paternal yang mengendalikan aktivitas embrionik awal dan perkembangannya setelah dilakukan ICSI/IVF.(Evenson & Wixon, 2006; Larson et al., 2000; Sheikh et al., 2008).

KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini terlihat bahwa angka fragmentasi DNA sperma dapat menunjukkan hubungan negatif dengan angka fertilisasi tetapi tidak dapat menunjukkan hubungan yang bermakna secara statistik dengan angka embriogenesis. Terlihat hubungan yang bermakna secara statistik antara parameter analisis sperma kriteria WHO dengan indeks fragmentasi DNA yang diperiksa menggunakan metode SCD.

Berdasarkan penelitian ini dapat disarankan agar pemeriksaan fragmentasi DNA sperma dimasukkan sebagai bagian terintegrasi dari pemeriksaan analisis sperma rutin pada pasien infertil.

REFERENSI

Agarwal, A., & Allamaneni, S. S. R. (2004). The effect of sperm DNA

damage on assisted reproduction outcomes. A review. *Minerva Ginecologica*, 56(3), 235–245.
<https://europepmc.org/article/med/15258535>

Benchaib, M., Braun, V., Lornage, J., Hadj, S., Salle, B., Lejeune, H., & Guérin, J. F. (2003). Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Human Reproduction*, 18(5), 1023–1028.
<https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEG228>

Brazil, C. (2010). Practical semen analysis: from A to Z. *Asian Journal of Andrology*, 12(1), 14.
<https://doi.org/10.1038/AJA.2008.51>

Cohen-Bacrie, P., Belloc, S., Ménézo, Y., J. R., Clement, P., Hamidi, J., & Benkhalifa, M. (2009). Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients. *Fertility and Sterility*, 91(5), 1801–1805.
<https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2008.01.086>

Dohle, G. R., Zsolt, K., Jungwirth, A., Diemer, T., Giwercman, A., &

- Krausz, C. (2002). GUIDELINES FOR THE INVESTIGATION AND TREATMENT OF MALE INFERTILITY. In *Eur Urol* (Vol. 42, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2008.07.1715>
- Hourcade, J. D., Pérez-Crespo, M., Fernández-González, R., Pintado, B., & Gutiérrez-Adán, A. (2010). Selection against spermatozoa with fragmented DNA after postovulatory mating depends on the type of damage. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-9/TABLES/4>
- Evenson, D. P., & Wixon, R. (2006). Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *Theriogenology*, 65(5), 979–991. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2005.09.011>
- Fernández, J. L., Muriel, L., Rivero, M. T., Goyanes, V., Vazquez, R., & Alvarez, J. G. (2003). The Sperm Chromatin Dispersion Test: A Simple Method for the Determination of Sperm DNA Fragmentation. *Journal of Andrology*, 24(1), 59–66. <https://doi.org/10.1002/J.1939-4640.2003.TB02641.X>
- Khalili, M. A., Aghaie-Maybodi, F., Anvari, M., & Talebi, A. R. (2006). SPERM NUCLEAR DNA IN EJACULATES OF FERTILE AND INFERTILE MEN CORRELATION WITH SEMEN PARAMETERS. In *Urology Journal* (Vol. 3, Issue 3, pp. 154–159). UROLOGY JOURNAL. <https://sid.ir/paper/270712/en>
- Gil-Villa, A. M., Cardona-Maya, W., Agarwal, A., Sharma, R., & Cadavid, Á. (2009). Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect? *Fertility and Sterility*, 92(2), 565–571.
- Knez, K., Zorn, B., Tomazevic, T., Vrtacnik-Bokal, E., & Virant-Klun, I. (2011). The IMSI procedure improves poor embryo development in the same infertile couples with poor semen quality: A comparative prospective randomized study. *Reproductive Biology and*

- Endocrinology*, 9(1), 1–8.
<https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-123/TABLES/2>
- Larson, K. L., DeJonge, C. J., Barnes, A. M., Jost, L. K., & Evenson, D. P. (2000). Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. *Human Reproduction*, 15(8), 1717–1722.
<https://doi.org/10.1093/HUMREP/15.8.1717>
- Lin, M. H., Kuo-Kuang Lee, R., Li, S. H., Lu, C. H., Sun, F. J., & Hwu, Y. M. (2008). Sperm chromatin structure assay parameters are not related to fertilization rates, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection, but might be related to spontaneous abortion rates. *Fertility and Sterility*, 90(2), 352–359.
<https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2007.06.018>
- Manicardi, G. C., Bianchi, P. G., Pantano, S., Azzoni, P., Bizzaro, D., Bianchi, U., & Sakkas, D. (1995). Presence of Endogenous Nicks in DNA of Ejaculated Human Spermatozoa and its Relationship to Chromomycin A3 Accessibility. *Biology of Reproduction*, 52(4), 864–867.
<https://doi.org/10.1095/BIOLREPR.OD52.4.864>
- Moustafa, M., Sharma, R. K., Thornton, J., Mascha, E., Abdel-Hafez, M. A., Thomas, A. J., & Agarwal, A. (2004). Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Human Reproduction*, 19(1), 129–138.
<https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEH024>
- Scott, L., Alvero, R., Leondires, M., & Miller, B. (2000). The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Human Reproduction*, 15(11), 2394–2403.
<https://doi.org/10.1093/HUMREP/15.11.2394>
- Shaman, J. A., Yamauchi, Y., & Ward, W. S. (2007). Sperm DNA fragmentation: awakening the sleeping genome. *Biochemical*

- Society Transactions*, 35(3), 626–628.
<https://doi.org/10.1042/BST035062>
6
- Sheikh, N., Amiri, I., Farimani, M., Najafi, R., & Hadeie, J. (2008). CORRELATION BETWEEN SPERM PARAMETERS AND SPERM DNA FRAGMENTATION IN FERTILE AND INFERTILE MEN. In *Iranian Journal of Reproductive Medicine* (Vol. 6, Issue 1, pp. 13–18). INTERNATIONAL JOURNAL OF REPRODUCTIVE BIOMEDICINE (IRANIAN JOURNAL OF REPRODUCTIVE MEDICINE).
<https://sid.ir/paper/295142/en>
- Simon, L., Lutton, D., McManus, J., & Lewis, S. E. M. (2011). Sperm DNA damage measured by the alkaline Comet assay as an independent predictor of male infertility and in vitro fertilization success. *Fertility and Sterility*, 95(2), 652–657.
<https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2010.08.019>
- Tamburrino, L., Marchiani, S., Montoya, M., Elia Marino, F., Natali, I., Cambi, M., Forti, G., Baldi, E., & Muratori, M. (2012). Mechanisms and clinical correlates of sperm DNA damage. *Asian Journal of Andrology*, 14(1), 24.
<https://doi.org/10.1038/AJA.2011.59>
- Taylor, H. S., Preceded by (work): Fritz, M. A., Pal, L., & Seli, E. (n.d.). *Speroff's clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 1318. Retrieved July 19, 2024, from <https://www.wolterskluwer.com/en/solutions/ovid/speroffs-clinical-gynecologic-endocrinology-and-infertility-711>
- Tesarik, J., Greco, E., & Mendoza, C. (2004). Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Human Reproduction*, 19(3), 611–615.
<https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEH127>
- Zini, A., Bielecki, R., Phang, D., & Zenzes, M. T. (2001). Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertility and*

Sterility, 75(4), 674–677.

[https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)01796-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)01796-9)