

Makalah

**INTRA CYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI)
SUATU HARAPAN BARU BAGI PASANGAN INFERTIL**

Oleh :

YUNI AHDA

25-5-2000
H
KI
4231/K/2000-n 1/2
574.16 AHDA-

Disampaikan pada Seminar Nasional XIV

Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia (PBBMI)

Di Bandung tanggal 12 Desember 1998

STAMP

Seminar Nasional XIV
**Perhimpunan Biokimia dan
Biologi Molekuler Indonesia
(PBBMI)**



Buku Panduan Acara
dan
Kumpulan Abstrak

Bandung, 12 Desember 1998

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya saya berhasil menyelesaikan makalah sederhana ini yang diberi judul *Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI)*, Suatu Harapan Baru bagi Pasangan Infertil.

Makalah ini dibuat untuk disampaikan pada Seminar Nasional XIV Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia (PBBMI) yang diadakan di Bandung tanggal 12 Desember 1998.

Harapan saya makalah ini dapat memberikan informasi dan memperkaya khasanah ilmu pengetahuan khususnya dalam ilmu reproduksi. Semoga makalah ini bermanfaat bagi pembaca umumnya dan saya pribadi khususnya. Amin.

Hormat saya,

Penulis

Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI) Suatu Harapan Baru Bagi Pasangan Infertil

Abstrak

Pasangan suami istri dianggap infertil bila dalam satu tahun perkawinan melakukan hubungan seksual secara normal tanpa penggunaan alat kontrasepsi, tidak terjadi kehamilan pada istri, atau istri pernah hamil sebelumnya dan berakhir dengan abortus spontan atau kehamilan di luar rahim. Perkembangan ilmu kedokteran yang semakin baik, khususnya bidang reproduksi mengakibatkan sekitar 50% dari semua kasus infertilitas yang ada sudah bisa ditangani. Salah satu upaya penanganan yang dilaksanakan adalah melakukan teknik bantu reproduksi bagi pasangan-pasangan infertilitas tersebut. Sampai sekarang ada beberapa teknik bantu reproduksi yang telah dikembangkan, mulai dari cara yang paling sederhana sampai yang paling rumit, sesuai dengan kasus infertilitas suatu pasangan. Dalam makalah ini diperkenalkan salah satu teknik bantu reproduksi pria yang paling canggih dan memberikan harapan besar bagi pasangan infertil untuk memperoleh anak yaitu intra cytoplasmic sperm injection (ICSI). Tujuan penulisan makalah ini adalah untuk menginformasikan lebih jauh mengenai prosedur ICSI secara umum dan keberhasilan yang telah dicapai dari teknik ICSI.

Secara garis besar teknik ICSI dilakukan dalam lima langkah kerja yaitu persiapan sperma, induksi ovarium, pengambilan oosit dari tubuh, injeksi sperma ke oosit dan transfer embrio ke uterus. Hasil yang telah dicapai dari teknik ICSI sangat menggerabirakan. Berbagai kasus infertilitas pria berat yang hampir tidak mungkin dilakukan dengan teknik bantu reproduksi lain telah berhasil dicobakan dengan teknik ICSI. Fertilisasi telah berhasil dilakukan menggunakan sperma yang berasal dari epididimis dan sperma yang dibekukan. Disamping itu teknik ICSI juga telah dapat membantu pasien astenozoospermia dan pria dengan defisiensi enzim akrosom untuk memperoleh anak. Teknik ICSI terbukti jauh lebih baik dibandingkan teknik bantu reproduksi lainnya seperti IVF-ET atau SUZI.

INTRA CYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI) SUATU HARAPAN BARU BAGI PASANGAN INFERTIL

Oleh:

Yuni Ahda

Jurusan Biologi FPMIPA IKIP Padang

PENDAHULUAN

Pasangan suami istri dianggap infertil bila dalam satu tahun perkawinan melakukan hubungan seksual secara normal tanpa penggunaan alat kontrasepsi tidak terjadi kehamilan pada istri, atau istri pernah hamil sebelumnya dan berakhir dengan abortus spontan atau kehamilan di luar rahim. Angka kejadian infertilitas di Indonesia kurang lebih 11% dengan penyebab infertilitas dari faktor wanita 45%, dari faktor pria 40% dan infertilitas idiopatik (tidak ter jelaskan) sebesar 15%. Dengan semakin berkembangnya ilmu kedokteran, khususnya bidang reproduksi maka sekitar 50% dari semua kasus infertilitas yang ada sudah bisa ditangani.

Salah satu upaya penanganan yang dilaksanakan adalah melakukan teknik bantu reproduksi bagi pasangan-pasangan infertilitas tersebut. Sampai sekarang ada beberapa teknik bantu reproduksi yang telah dikembangkan, mulai dari cara yang paling sederhana sampai yang paling rumit, sesuai dengan kasus infertilitas suatu pasangan. Dalam makalah ini upaya penanganan masalah infertilitas dibatasi hanya untuk faktor pria, artinya istri mempunyai kondisi normal tetapi suami mempunyai masalah infertilitas yang bermacam-macam. Masalah-masalah infertilitas faktor pria yang bisa ditangani dengan teknik bantu reproduksi antara lain: oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia, azoospermia, oligoastenozoospermia dan oligoastenoteratozoospermia.

Adapun teknik bantu reproduksi yang telah dikembangkan untuk terapi pasangan infertilitas di atas antara lain: inseminasi buatan konvensional, inseminasi intra uterin (IUI), fertilisasi in vitro (IVF), tandur alih gamet intra tuba (GIFT), inseminasi sub zona (SUZI) dan injeksi sperma intra sitoplasma (ICSI).

Tujuan penulisan makalah ini adalah untuk menginformasikan lebih jauh mengenai prosedur ICSI secara umum dan keberhasilan yang telah dicapai dari teknik ICSI.

Perkembangan awal ICSI

Injeksi sperma intra sitoplasma (ICSI) adalah teknik penginjeksian sperma tunggal ke sitoplasma oosit dengan bantuan mikromanipulasi. Penelitian ICSI telah dimulai sejak tahun 1962 oleh Hiramoto yang menginjeksikan sperma tunggal ke telur *sea urchin*, tetapi keberhasilannya hanya sampai tahap kondensasi sperma. Percobaan pada mamalia pertama kali dilakukan oleh Lin tahun 1966 yang menggunakan telur mencit. Hasil yang dicapai juga masih jauh dari memuaskan karena sperma hanya sampai pada tahap pembentukan pronukleus jantan. Penelitian pada berbagai hewan oleh berbagai peneliti terus berlanjut sampai akhirnya dari penelitian Goto *et al.* tahun 1990 didapatkan kelahiran sapi hidup pertama.

Penelitian pada manusia tidak diterapkan untuk jangka waktu lama karena beresiko tinggi terhadap kerusakan oosit. Usaha untuk menerapkan pengalaman yang telah didapatkan dari telur hewan baru baru dimulai tahun 1981 dengan menginjeksikan beberapa sperma manusia ke telur manusia yang diinduksi. Hasil yang dicapai pada waktu itu hanya sampai pembentukan pronukleus. Pada waktu-waktu berikutnya penelitian terhadap manusia terhenti karena hasil yang dicapai mengalami kemunduran, seperti tidak sanggupnya sperma menembus oolema.

Penelitian mengenai teknik ICSI bangkit kembali setelah adanya pemberitaan mengenai keberhasilan Palermo *et al.* tahun 1992 membuat kehamilan pada empat orang wanita yang mempunyai pasangan infertilitas. Keberhasilan Palermo *et al.* telah membangkitkan minat banyak peneliti di berbagai pusat penelitian di dunia untuk mendalami teknik baru tersebut. Berbagai macam bentuk infertilitas pria telah dicoba dibantu dengan teknik ICSI dan hasil yang didapat sangat menggembirakan dengan laju fertilisasi sekitar 40%. Teknik ICSI sangat memberi harapan bagi pasangan-pasangan infertil yang mempunyai beberapa masalah infertilitas karena penginjeksiar sperma tunggal dapat dilakukan walaupun sperma mempunyai kondisi yang sangat minim.

Prosedur ICSI

Secara garis besarnya teknik ICSI dilakukan dalam lima langkah kerja: persiapan sperma, induksi ovarium, pengambilan oosit dari tubuh, injeksi sperma ke oosit, dan transfer embrio ke uterus.

Persiapan sperma

Bila sperma masih bisa ditemukan dalam semen, pengumpulan sperma dilakukan dengan cara masturbasi, satu jam sebelum pengeluaran oosit. Sperma dibiarkan berkinifaksi selama seperempat jam, lalu diencerkan dengan medium inseminasi dan disentrifus sebanyak dua sampai tiga kali dengan kekuatan rendah (300-400g) untuk jangka waktu singkat (5-10 menit). Endapan terakhir bisa dilarutkan dalam 1-2 mL medium, atau dilapisi bagian atasnya dengan 1-2 mL medium atau diletakkan di bawah 1-2 mL medium. Kemudian diinkubasi selama 30-60 menit di mana pada saat itu sperma motil berenang ke lapisan atas dari lapisan bawah. Sperma motil tersebut kemudian diambil dari lapisan atas medium. Metoda ini dikenal dengan *washing* dan *swim-up* yang merupakan metoda

standar persiapan sperma pada beberapa laboratorium untuk inseminasi buatan. Metoda lain yang juga digunakan untuk menyeleksi sperma motil adalah metoda percoll. Percoll adalah larutan yang mengandung partikel-partikel koloid silika terlapisi polyvinylpyrrolidone (PVP) dan dapat dibuat dalam berbagai densitas dengan melarutkannya dalam medium. Koloid dibuat dalam tabung reaksi dengan menempatkan secara berurutan mulai dari dasar tabung ke atas masing-masing 100%, 90%, 80%, 70% 60% dan 40%. Ada juga yang menyederhanakan dengan hanya membuat kolom percoll 80%-90% dan 40%-45%. Sperma diletakkan di atas dan tabung kemudian disentrifus dengan kecepatan 350-450g selama 20 menit. Sperma akan terpisah pada tiap-tiap lapisan dan sperma yang terbaik akan terletak di lapisan bawah (90%-100%). Sperma diambil dari lapisan terbawah, dicuci satu atau dua kali, kemudian dilarutkan dalam medium.

Induksi ovarium

Stimulasi ovarium dilakukan dengan pemberian GnRH agonis yang dimulai pada fase midluteal sampai hari ketiga siklus menstruasi. Jika pada hari ketiga menstruasi tersebut level estrogen kurang dari 45pg/mL, maka dosis GnRH agonis yang diberikan dikurangi setengahnya dan hMG diberikan 3-4 ampul per hari. hCG diberikan 10.000 IU secara intra muskular pada waktu terdapat paling sedikit dua folikel dengan diameter lebih dari 1,8 cm.

Pengambilan oosit dari tubuh

Pengambilan oosit dilakukan dengan aspirasi *aspirasi transvaginal ultrasound guided* setelah 36 jam pemberian hCG dengan anastesilikal. Folikel kemudian dihisap ke dalam campuran larutan dapar HEPES yang diberi heparin dan cairan tuba manusia. Oosit diidentifikasi dan dicuci dengan cairan tuba manusia segar yang ditambah 0,5% serum

albumin manusia. Setelah itu diinkubasi pada 37°C , 5% CO_2 , 5% O_2 , 90% N_2 selama satu jam sebelum kumulus ooforus dan korona radiata dibuang. Untuk membuang kumulus ooforus dan korona radiata direndam dalam modifikasi dapar HEPES yang terdiri dari 0,5% cairan tuba manusia dan diperkaya dengan 80 IU/mL hialuronidase selama 45-60 detik. Terakhir dicuci dengan campuran cairan tuba dan serum albumin manusia segar dan dipilih oosit matang dan berkualitas baik (tidak mengalami kerusakan) untuk dipakai dalam prosedur ICSI. Kematangan oosit ditandai dengan terbentuknya polar bodi I dan oosit berada dalam stadium metafase II.

Injeksi sperma ke oosit

Proses injeksi sperma tunggal ke oosit berlangsung secara mikroskopis. Penginjeksian sperma ke sitoplasma berlangsung dalam cawan petri yang telah dilengkapi medium yang sesuai. Ada dua jenis pipet yang digunakan yaitu pipet *holding* dengan ukuran 250 μL dan pipet injeksi dengan ukuran 50 μL . Sperma yang diinjeksikan sedikit ditekan untuk merusak membran plasmanya dan membuatnya menjadi tidak bergerak. Setelah itu sperma disedot dengan bagian ekor terlebih dahulu. Kemudian lapangan pandang dipindahkan ke oosit. Posisi oosit dibuat sedemikian rupa sehingga polar bodi I pada jam 6 atau 12. Posisi oosit yang sudah pas kemudian disedot oleh pipet *holding*. Oosit diinjeksikan pada posisi jam 3. Pipet injeksi ditusukkan pada zona pelusida. Ketika pipet injeksi hampir mencapai bagian berlawanan, membran vitelin disedot sampai robek. Pada saat ini sperma dan sebagian ooplasma yang tersedot disuntikkan ke dalam oosit. Pipet injeksi kemudian ditarik ke luar dan pipet *holding* juga dilepaskan. Setelah penginjeksian sperma, oosit diinkubasi pada cairan tuba manusia 1 mL pada kondisi 37°C ,

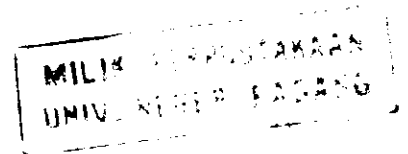
5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂. Fertilisasi terjadi setelah 18 jam penginjeksian yang diamati dengan mikroskop *inverted*, ditandai dengan keberadaan dua pronukleus yang berbeda dalam oosit. Cleavage terjadi 24 jam berikutnya.

Transfer embrio ke uterus

Transfer embrio dilakukan 48-72 jam setelah injeksi sperma ke oosit. Maksimum tiga embrio ditransfer ke masing-masing uterus calon ibu. Kehamilan ditandai dengan terjadinya kenaikan level serum hCG secara berturutan sebanyak dua kali dari hari ke sebelas setelah ditransfer. Bila kehamilan tidak terjadi maka embrio ditanamkan lagi pada siklus berikutnya.

HASIL YANG TELAH DICAPAI DENGAN TEKNIK ICSI

Semenjak kesuksesan Palermo *et al.* (1992), teknik ICSI telah dicobakan pada berbagai kasus infertilitas pria berat yang hampir tidak mungkin dilakukan dengan teknik bantu reproduksi lain. Penelitian oleh Tournaye *et al.* (1994) yang menggunakan sperma epididimis yang diambil dengan cara aspirasi mendapatkan laju fertilisasi sebesar 58%. Dari sepuluh embrio yang ditransfer, lima diantaranya menghasilkan kehamilan (50%). Penelitian yang hampir sama juga telah dilakukan oleh Bourne *et al.* (1995) dan Mansour *et al.* (1996) yang melakukan biopsi testis dengan jarum halus. Hasil yang didapat dari kasus pertama, terjadi fertilisasi sembilan oosit dari 13 oosit yang diinjeksi. Setelah dilakukan transfer embrio didapatkan satu kehamilan. Kasus kedua, dari sembilan oosit yang diinjeksi lima diantaranya mengalami fertilisasi. Setelah dilakukan transfer embrio didapatkan satu kehamilan tunggal. Mansour *et al.* (1996) yang mengambil sperma dari epididimis dan testis dengan sayatan kecil memanjang pada skrotum mendapatkan hasil yang lebih baik, dari 24 siklus ICSI semuanya mencapai fertilisasi dan dilanjutkan dengan



4231/K/2000-i1(2)

524 16

440

60

transfer embrio. Injeksi oosit dengan sperma yang diambil dari epididimis menghasilkan laju fertilisasi per oosit metafase II sebesar 63% (109/172). Dari 16 pasien, enam diantaranya mendapatkan kehamilan termasuk satu hamil kembar dua dan satu orang hamil kembar tiga.

Teknik ICSI juga telah dicobakan pada kasus infertilitas pria akibat defisiensi enzim akrosom. Dari hasil 16 oosit yang diinjeksi dengan sperma, tujuh diantaranya mengalami fertilisasi. Empat embrio ditransfer ke uterus ibu dan menghasilkan satu kehamilan kembar. Percobaan lain menggunakan sperma yang mengalami defisiensi enzim akrosom menghasilkan laju fertilisasi 59% per oosit dan laju kehamilan 25%. Hasil ini tidak berbeda bernakna dengan sperma normal dengan laju fertilisasi rata-rata 59% per oosit dan laju kehamilan 26%. Dari hasil ini terlihat bahwa teknik ICSI sangat membantu pasangan-pasangan infertil akibat defisiensi enzim akrosom untuk memperoleh keturunan.

Teknik ICSI juga terbukti jauh lebih baik dibandingkan teknik bantu reproduksi lainnya seperti IVF-ET atau SUZI. Dari 227 pasangan yang diperlakukan dengan teknik ICSI di mana 117 pasangan di antaranya gagal dengan teknik IVF tercatat laju kehamilan sebesar 37%. Tingginya laju fertilisasi dengan teknik ICSI dibanding IVF-ET atau SUZI disebabkan teknik ICSI tidak tergantung pada jumlah, motilitas, maupun keberadaan enzim akrosom dari sperma yang digunakan. Penelitian lain juga telah membuktikan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam laju fertilisasi dan laju kehamilan antara pasien sub fertil ($10-20 \times 10^6/\text{mL}$) (58%) dan pasien dengan konsentrasi sperma kurang dari $1 \times 10^6/\text{mL}$ (61%).

Teknik ICSI juga telah diterapkan pada pada sperma yang dibekukan. Penelitian tersebut menghasilkan satu kelahiran bayi perempuan yang sehat (46,XX). Hasil ini telah

memberi harapan yang besar bagi pasangan infertilitas akibat ketiadaan vas deferens, karena biopsi testis tidak perlu dilakukan berulang kali bila terjadi kegagalan fertilisasi dalam prosedur ICSI. Tetapi penggunaan sperma yang dibekukan menghasilkan laju fertilisasi yang lebih rendah dibanding pemakaian sperma motil.

Kombinasi HOST-TEST dan teknik ICSI juga telah membantu pasien astenozoospermia untuk mendapatkan anak. Penelitian ini menghasilkan laju fertilisasi sebesar 43%, laju *cleavage* 39% dan terjadi tiga kehamilan dari delapan siklus ICSI.

Dari keberhasilan-keberhasilan yang telah dicapai oleh para peneliti di beberapa pusat penelitian di dunia, terbukti bahwa teknik ICSI sangat memberi harapan bagi pasangan-pasangan infertilitas terutama faktor pria untuk mendapatkan keturunan. Tetapi keberhasilan teknik ICSI sendiri tidak terlepas dari keahlian dalam mendesain dan mengoperasikan alat mikroinjeksi yang digunakan.

KESIMPULAN

Intra cytoplasmic sperm injection (ICSI) merupakan teknik bantu reproduksi terbaru yang dapat digunakan untuk menolong kasus-kasus infertilitas faktor pria dengan ciri khas penginjeksian sperma tunggal ke sitoplasma oosit.

Teknik ICSI secara garis besarnya dibagi atas lima tahap kegiatan yaitu persiapan sperma, induksi ovarium, pengambilan oosit dari tubuh, injeksi sperma ke oosit dan transfer embrio ke uterus.

Teknik ICSI dapat diterapkan pada hampir semua kasus infertilitas faktor pria dengan laju fertilisasi rata-rata 50%. Teknik ICSI terbukti paling efektif dalam mengatasi kasus infertilitas faktor pria yang tidak mungkin dilaksanakan dengan teknik bantu reproduksi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arsyad KM. Uji klinik terapi tribestan pada pria dengan oligozoospermia. Kumpulan makalah PIT-PANDI 1996.
2. Aliee SH, Pool TB, Martin JE. A simple approach to intracytoplasmic sperm injection. *Fertil steril* 1995; **63**: 652-655.
3. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; **340**: 17-18.
4. Catt J, Ryan J, Pike I, O'Neil C. Fertilization Rates using intracytoplasmic sperm injection are greater than subzonal insemination but are dependent on prior treatment of sperm. *Fertil Steril* 1995; **64**: 764-769.
5. Abdul-Aziz M, Meriano J, Casper RF. Intracytoplasmic sperm injection for treatment of infertility due to acrosomal enzyme deficiency. *Fertil Steril*; 1996; **65**: 977-980.
6. Burr RW, Sieberg R, Flaherty SP, Wang XJ, Matthews CD. The influence of sperm morphology and the number of motile sperm inseminated on the outcome of intrauterine insemination combined with mild ovary stimulation. *Fertil Steril* 1996; **65**: 127-132.
7. Bourne H, Watkins W, Speirs A, Baker HWG. Pregnancies after intracytoplasmic injection of sperm collected by fine needle biopsy of the testis. *Fertil Steril* 1995; **64**: 433-436.