

MIKRO INJEKSI PADA OOSIT MANUSIA

SUATU TEKNIK UNTUK PENANGANAN OLIGOASTHENOTERATOZOOSPERMIA

Oleh:

Drs. Syamsurizal, M.Biomed

MILIK PERPUSTAKAAN IKIP PADANG	
DITERIMA TGL. :	09 MAR 1998
SUMBER / HARGA :	K /
KOLEKSI :	K1
NO. INVENTARIS :	107/K/90-m. (2)
KLASIFIKASI :	612.6.54 m.1

JURUSAN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN IPA
INSTITUT KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN PADANG

1998

MILIK UPT. PERPUSTAKAAN
IKIP PADANG

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah Nya makalah ini dapat diselesaikan. Makalah ini merupakan hasil kajian pustaka yang berupa hasil penelitian dari para pakar dalam bidang andrologi.

Makalah ini bertujuan untuk memberikan informasi kepada segenap pembaca tentang penelitian yang sudah dilakukan para pakar dalam bidang andrologi. Terutama topik yang dibahas adalah pemecahan masalah abnormalitas sperma melalui program fertilisasi invitro atau secara umum dikenal dengan istilah bayi tabung.

Penulis menyadari banyak kekurangan dalam menyusun makalah ini, maka dari itu sumbang saran yang bersifat membangun untuk perbaikan makalah ini penulis harapkan dari pembaca yang budiman.

Pada kesempatan yang berbahagia ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada bapak

Dr. Nukman Moeloek (ahli Andrologi) yang telah membaca dan memberi saran kepada penulis dalam menyusun makalah ini.

Kepada semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, penulis mengucapkan banyak terima kasih. Semoga Allah SWT. membalas segala amal baik yang telah dilakukan. Amin.

Padang, Juli 1997

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
I. PENDAHULUAN	1
II. PERMASALAHAN	3
III. KAJIAN TEORI	3
A. Oogenesis pada Mamalia.....	3
B. Spermatozoa	7
C. Penyiapan Telur untuk Mikro Injeksi	14
D. Penyiapan Sperma untuk Mikro Injeksi	14
IV. MEKANISME METODE MIKRO INJEKSI PADA OOSIT.....	16
A. Injeksi Telur	18
B. Aktivitas Telur dan Respon Sperma	21
IV. KESIMPULAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24

I. PENDAHULUAN

Penderita oligosperma berat (berkurangnya jumlah sperma dari normal) biasanya terdiri dari kombinasi kerusakan sperma yang kompleks. Penderita ini mempunyai peluang yang sangat kecil untuk terjadi konsepsi secara spontan. Kerusakan sperma dengan kombinasi tiga atau lebih cacat mempunyai keberhasilan untuk fertilisasi invitro spontan kurang dari 8%. Kerusakan sperma contohnya adalah oligozoospermia yaitu jumlah sperma kurang dari 20 juta/ml, astenozoospermia yaitu motilitas sperma yang kurang baik, dan teratozoospermia adalah kelainan morfologi sperma dengan jumlah kecil dari 50%.

Penderita kelainan sperma yang berat dapat dibantu melalui transfer embrio dengan metode TET (Tubal Embrio Transfer) embrio ditransfer pada uterus tahap pronuklear. Transfer embrio ke dalam tubal merupakan suatu gagasan untuk memperbaiki faktor infertil pada laki-laki. TET belum memberikan harapan yang besar bagi penderita kerusakan sperma berat karena oosit masih perlu difertilisasi sebelum ditransfer ke tuba fallopii. Sekarang sudah ditemukan suatu metode yang diperkirakan lebih baik

MILIK UPT PERPUSTAKAAN
IKIP DAS

yaitu mikro injeksi pada oosit atau ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection). Pada makalah ini penulis membahas masalah mikro injeksi pada oosit manusia dengan metode ICSI.

ICSI adalah teknik fertilisasi terbantu yang menjanjikan keuntungan bagi para wanita yang sulit hamil. Metode fertilisasi in vitro dapat dilakukan pada pasangan yang tidak subur karena kerusakan yang cukup parah pada sperma (Bongso, 1991; 117).

Sampel semen diambil melalui masturbasi, yang diikuti dengan likuifaksi. Dan kemudian semen ditambah dengan phosphate-buffered saline (PBS), setelah disentrifugasi pada 270 x g selama 10 menit untuk menghilangkan seminal plasma. Sampel yang berasal dari donor sperma di resuspensi dalam 1,0 ml PBS dan didinginkan pada $-70,0^{\circ}\text{C}$, kemudian disimpan dengan maksud untuk mengurangi gerak sel-sel sperma agar bisa di mikroinjeksi.

II. PERMASALAHAN

Apakah cara yang lebih baik untuk mengatasi masalah infertilitas berat pada laki-laki (Oligo astheno terato zoospermia).

III. KAJIAN TEORI

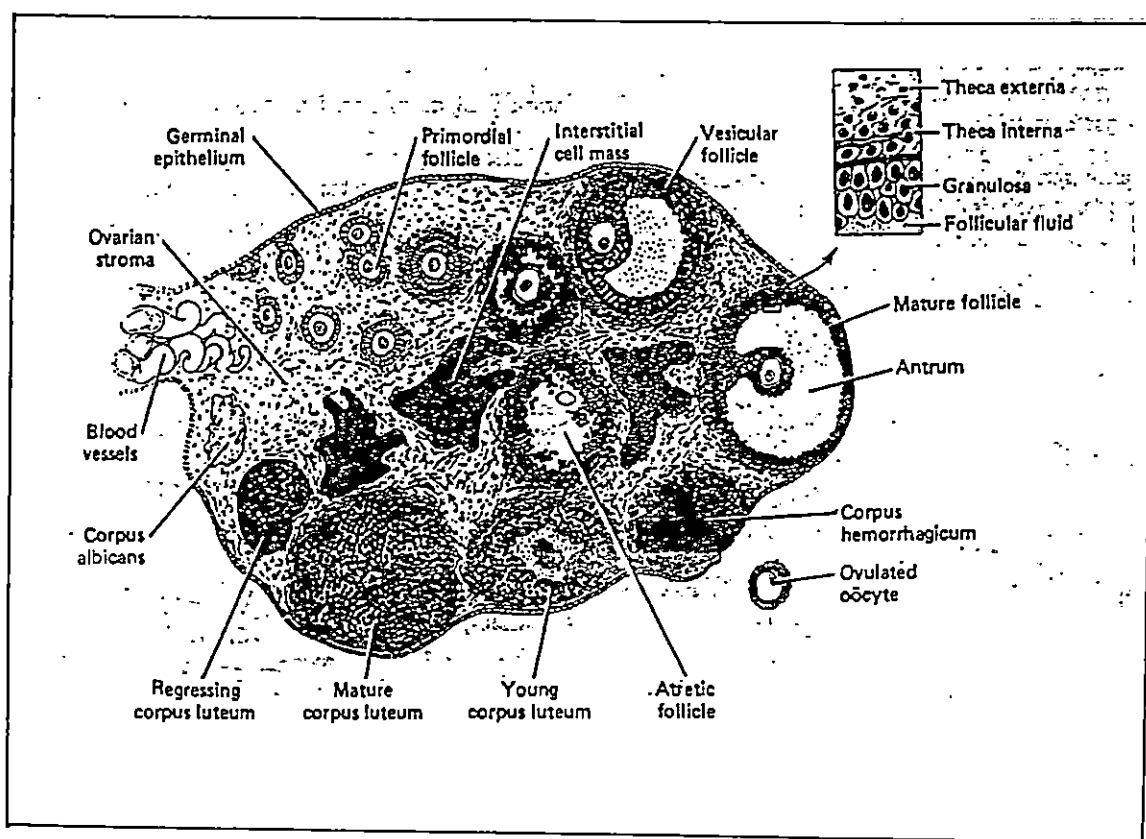
A. Oogenesis pada Mamalia

Berbeda pada vertebrata rendah, pada mamalia tidak ada penambahan telur setelah lahir. Pada manusia, bayi wanita yang baru lahir mengandung lebih kurang 2 juta oosit (banyak yang mengalami degenerasi) dan berada pada stadium diploten (profase) dari meiosis I (Gambar 1).

Oosit dikelilingi lapisan sel-sel folikel atau sel-sel granulosa, dan keseluruhannya disebut folikel. Dari keseluruhan folikel dalam ovarium manusia, hanya \pm 400 yang mencapai kematangan dan berovulasi (satu folikel pada setiap siklus menstruasi). Sisa folikel lainnya mengalami degenerasi (folikel atresia).

Oosit I yang mengalami meiosis I terjadi pada stadium akhir fetus. Oosit ini diliputi oleh beberapa sel folikel (belum lengkap), disebut folikel

primordia. Bila sel-sel folikel yang mengitari oosit ini lengkap, disebut folikel primer (I). Folikel I dalam stadium diploten (profase) dari meiosis akan bertahan terus sampai pubertas. Bahkan ada beberapa folikel I yang tidak sempat mengalami perkembangan, sampai berakhirnya usia subur (45-50 tahun).



Gambar 1. Skema ovarium mamalia dengan berbagai tingkat perkembangan sel telur (M.Hatta Syahrur, 1994; 36).

Folikel I yang berkembang, akan membentuk membran zona pelusida yang translusen non seluler, terletak di sebelah dalam sel-sel folikel. Pada stadium pre-pubertas (umur 12-13 tahun) oosit membesar baik diameter jumlah sel-sel folikel (sel-sel granulosa) maupun membran zona pelusidanya. Selanjutnya terbentuk lagi membran granulosa di sebelah luar sel-sel granulosa. Membran ini berguna untuk lewatnya zat-zat makanan dan oksigen bagi oosit, dengan cara difusi. Folikel I yang terus berkembang dengan bertambahnya sel-sel granulosa sampai beberapa lapis tanpa pengaruh hormonal disebut folikel sekunder (II). Selanjutnya pada folikel II terbentuk ruang (antrum) yang diisi cairan.

Pembentukan antrum ini dipengaruhi oleh hormon hipofisa yaitu FSH (follicle stimulating hormone) dan estrogen yang dibuat oleh folikel itu sendiri. Dengan terbentuknya antrum, maka folikel ini disebut folikel tersier (III), walaupun oosit di dalamnya masih stadium diploten. Cairan yang mengisi antrum ini disebut likuor folikuli yang disekresi oleh sel-sel granulosa dan cairan eksudat kapiler membran granulosa.

Folikel III berkembang terus dengan bertambahnya sel-sel jaringan ikat (stroma) di sebelah luar folikel yang disebut teka interna banyak mengandung vaskularisasi dan lapisan sebelah luar yaitu teka eksterna, tetap mengandung sel-sel jaringan ikat.

Maturasi folikel II dipengaruhi oleh hormon. Sel-sel teka mengandung reseptor LH (luteinizing hormone).

Apabila ada stimulasi dari LH maka sel-sel membuat estrogen yang akan menembus membran granulosa mencapai sel-sel granulosa. Sel-sel granulosa sendiri mempunyai reseptor untuk FSH. Oleh pengaruh hormon tersebut folikel II makin cepat membesar dan menjadi folikel tersier (folikel pre-ovulasi = folikel III). Folikel III pindah ke permukaan jaringan ovarium dan kandungan likuor folikuli menonjol ke permukaan ovarium. Melalui puncak tonjolan (stigma) tersebut, karena pengaruh LH, FSH dan mungkin juga estrogen, sel telur keluar dari folikel III diikuti oleh cairan dan sel-sel granulosa, kejadian ini dikenal sebagai ovulasi.

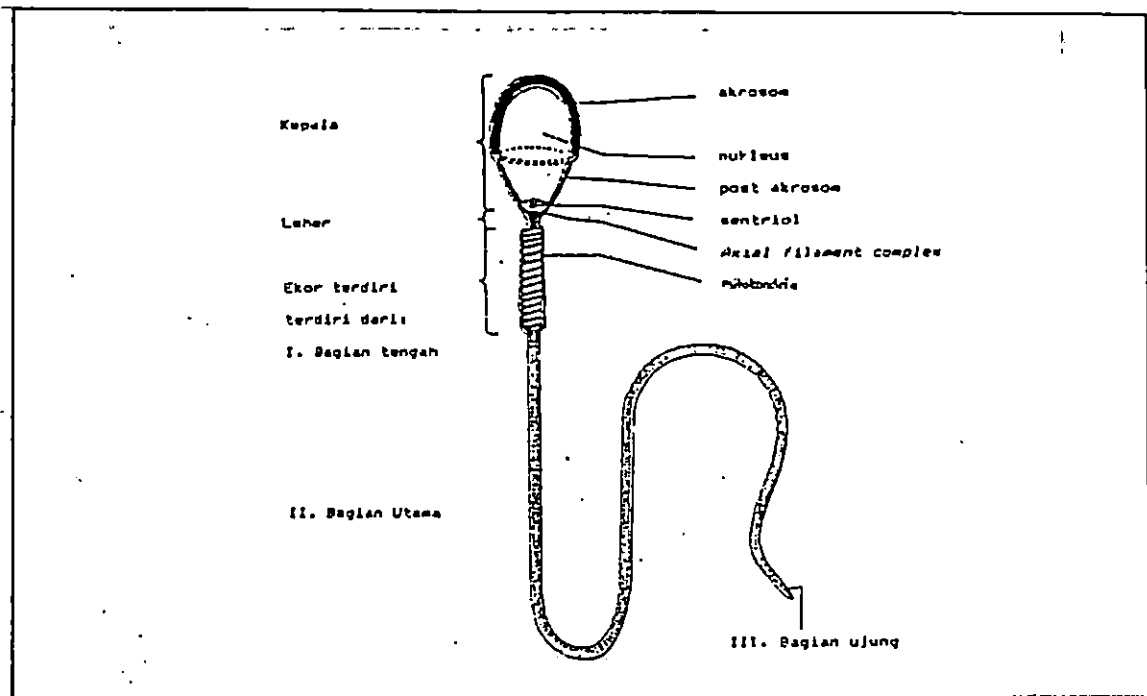
Folikel yang tidak mencapai maturasi, akan mengalami degenerasi disebut folikel atresia. Salah satu sebab maturasi tidak tercapai, ialah karena sel-sel folikel kekurangan reseptor hormonal.

B. Spermatozoa

Pada spermatozoa ejakulat dijumpai spermatozoa normal dan abnormal. Spermatozoa yang normal dapat ditentukan antara lain dengan mengamati morfologinya yaitu, kepala berbentuk oval, leher, dan ekor utuh. Disamping morfologi yang normal sperma harus mempunyai pola motilitas yang baik yaitu, dapat bergerak cepat ke depan. Spermatozoa manusia merupakan sel tunggal yang terdiri dari tiga bagian, yaitu; kepala, leher, dan ekor, dengan panjang seluruhnya $\pm 50 \mu\text{m}$ (Nukman.M, 1994;12).

1. Kepala

Bagian kepala spermatozoa berbentuk oval dan pipih. Bagian kepala dayung, panjang $4,5 \mu\text{m}$, lebar $3 \mu\text{m}$, dan tebal $1,5 \mu\text{m}$ (gambar 2). Pada bagian anterior kepala terdapat akrosom dan pada bagian posteriornya ditemukan post akrosom. Akrosom mengandung beberapa enzim yang fungsinya berbeda antara satu dengan lainnya, terutama dalam hal melakukan penetrasi pada lapisan-lapisan yang membungkus ovum.



Gambar 2. Bentuk dan bagian-bagian dari spermatozoa manusia (Mann T., 1964; 17).

Akrosom spermatozoa sangat penting karena mengandung enzim-enzim yang penting untuk fertilisasi. Tanpa enzim ini penetrasi melalui lapisan eksternal ovum tidak dapat dilakukan oleh spermatozoa. Akrosom dibentuk oleh Apparatus Golgi selama spermiogenesis dan memfluoresen warna merah pada pengecatan dengan akridin amino. Enzim tersebut antara lain; ATP-ase, hialuronidase, CPE (corona penetrating enzyme) dan akrosin. Sebagai contoh akrosin berfungsi sebagai enzim proteolitik utama untuk menembus kumulus ooforus. CPE berguna untuk

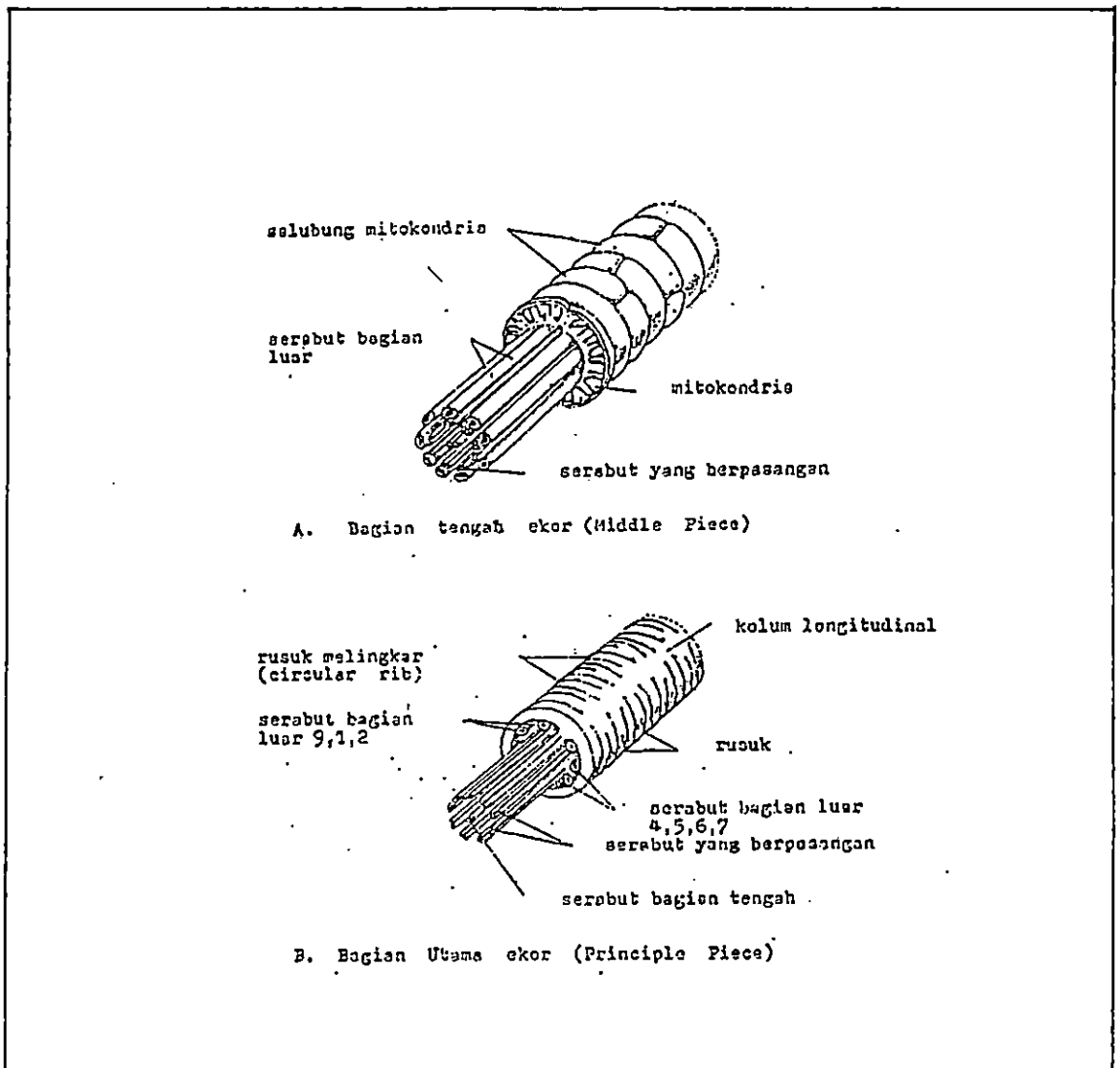
menembus korona radiata (Polakoski, 1976; 133).

Studi enzim akrosom manusia yang sangat sering dipelajari adalah suatu enzim proteinase yang disebut akrosin. Enzim ini digunakan spermatozoa untuk penetrasi zona pelusida dan kemungkinan juga berperan dalam penetrasi spermatozoa menembus getah servik. Enzim ini mempunyai pH optimum 8,0 dan tidak aktif di bawah pH 5,0 atau di atas pH 10,5 (Polakoski, 1976; 144).

2. Leher

Merupakan bagian yang sempit yang menghubungkan antara kepala dengan ekor. Bagian leher ini mengandung sentriol dan berkas-berkas fibril yang halus. Sentriol sel bagian proksimal membentuk kapitulum, sebagai persendian yang menghubungkan kepala spermatozoa, berupa serabut aksial yang dikelilingi oleh sepasang lapisan mitokondria yang membelit pada bagian tengah, sedangkan bagian ekor tidak dilapisi oleh mitokondria. Tiap-tiap serabut aksial terdiri dari serat fibril yang tersusun menurut pola khusus yaitu, dua dibagian tengah, dikelilingi oleh sembilan buah fibril kasar, sehingga dapat ditulis 2+9+9. Berkas fibril terse-

but dinamakan *axial filament complex* yang mengisi bagian tengah badan (*middle piece*) dan ekor. Komplek filamen aksial merupakan suatu protein kontraktil yang terdiri dari aktin dan miosin (gbr.3).



Gambar 3. Potongan melintang bagian tengah (*middle piece*) dan bagian utama ekor (*principle piece*) (17, 171, 17).

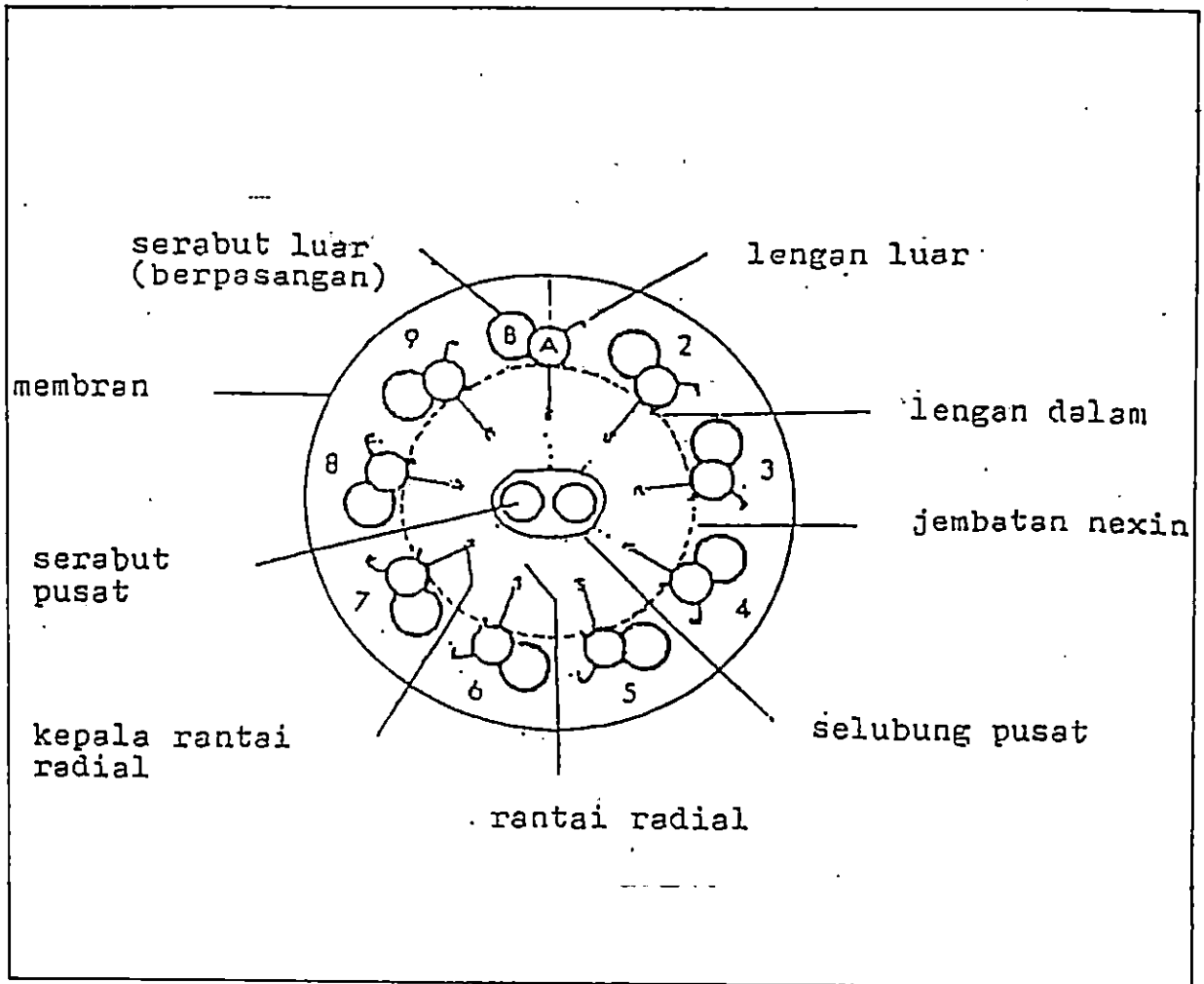
Tiap satu fibril tersusun oleh tiga bagian fibril (triplet) dihubungkan oleh serat-serat luar dari triplet yang bersangkutan oleh sebuah sub filber. Sistem filber ini merupakan basis motilitas spermatozoa.

3. Ekor

Bagian ekor terdiri dari bagian tengah badan (middle piece), bagian utama ekor (principle piece) dan bagian ujung ekor (end piece). Bagian tengah ekornya dengan panjang 5-7 μm dan tebalnya kurang lebih 1 μm . Bagian utama dari ekor panjangnya dapat mencapai 45 μm . Bagian ujung ekor merupakan bagian terakhir. Bagian ekor penting untuk motilitas spermatozoa. Bagian tengah berisi kurang lebih 10-15 mitokondria yang berbentuk spiral. Bagian ini merupakan regenerator pembangkit energi pada spermatozoa, karena adanya mitokondria sebagai organel yang berfungsi untuk tempat pembentukan enzim-enzim, berfungsi dalam transfer energi, khususnya metabolisme dari karbohidrat dan protein. Hasil metabolisme merupakan energi yang berguna untuk membantu menggerakkan ekor spermatozoa. Bagian

tengah ekor mengandung K, Ca, Fe, PO₄, sulfidril, dan grup disulfida serta kolesterol.

Bagian tengah dan bagian utama ekor dihubungkan oleh bangunan berbentuk cincin (ring). Sedangkan ekor spermatozoa panjangnya 10 kali bagian tengah. Posterior dari bagian tengah ekor berbentuk lebih langsing, sebagai akhir dari kompleks filamen aksial dan merupakan ujung ekor spermatozoa. Bagian ekor mempunyai susunan hampir menyerupai flagel, yaitu yang terdiri dari dua filamen sentral yang dikelilingi oleh sembilan pasang filamen perifer. Pada bagian tengah dan dekat kepala, disebelah luar sembilan pasang filamen tadi masih terdapat filamen yang lebih kasar, jumlah dan besarnya tidak sama. Ini diperkirakan merupakan elemen-elemen kontraktile dari flagel dan distribusinya tidak simetrik. Distribusi yang tidak simetrik tersebut diduga memegang peranan penting dalam motilitas ekor (gambar 4).



Gambar 4. Potongan transversal flagel spermatozoa, memperlihatkan pola yang sama mikrotubul dan komponen matrik yang terlihat pada silia dan flagel binatang lainnya (Hafez, 1976:107)

Ternyata bagian tengah ekor dan bagian utama serta ujung ekor inilah yang berfungsi sebagai flagel. Keseluruhan flagel ini dilindungi oleh suatu pembungkus tipis (membran) yang terdiri dari serabut-serabut elastin.

MILIK UPT PERPUSTAKAAN
IKIP PAJANG

C. Penyiapan Telur untuk Mikro Injeksi

Sebelumnya wanita donor ovum disuper ovulasi dengan GnRH antagonis kemudian dirangsang dengan Human Menopause Gonadotropin (HMG) dan Human Chorionic Gonadotropin (HCG). Setelah diperoleh oosit kemudian, dilakukan kultur oosit (Bongso, 1991;117).

Oosit dikultur (37°C , 5% CO_2) dalam medium Hans F-10 dengan 7,5 serum fetal cord manusia (HF-10 + 7,5% HFO). Kultur berlangsung secara invitro sampai badan kutup terbentuk, yaitu pada tahap perkembangan metafase meiosis II (Lanzendorf, 1988; 835).

Sel-sel kumulus ooforus dihilangkan dari oosit dengan 0,1% Hyaluronidase pada HF-10 dengan 7,5% HFCS dengan cairan Hepes (Bongso, 1988;790).

D. Penyiapan Sperma

Sperma dipersiapkan berdasarkan sedimentasinya atau dengan teknik penusuk menggunakan avalien Percoll. Standar sedimentasi dapat dipergunakan untuk inser-si sperma subzonal seperti jumlah sperma, dan lemahnya motilitas. Metoda yang digunakan , dengan

jumlahnya pengendapannya hanya 20 sampai 50 uL dan disimpan dalam suhu ruang dibawah mineral oil. Sampel semen diambil melalui masturbasi, yang diikuti dengan likuifaksi. Dan kemudian semen ditambah dengan phospate-buffered saline (PBS), setelah disentrifugasi pada 270 x g selama 10 menit untuk menghilangkan seminal plasma. Sampel yang berasal dari donor sperma di resuspensi dalam 1,0 ml PBS dan didinginkan pada -70,0 °C, kemudian disimpan dengan maksud untuk mengurangi gerak sel-sel sperma agar bisa di mikroinjeksi.

MILIK UPI PERPUSTAKAAN
IKIP PANJANG

IV. MEKANISME METODE MIKRO INJEKSI OOSIT MANUSIA

Pelubangan zona adalah alternatif utama untuk pemecahan masalah kelainan sperma yang berat. Teknik ini diharapkan dapat membantu penetrasi sperma. Studi klinik dengan oosit manusia belum menghasilkan kehamilan. Pelubangan zona dengan larutan Tyrodes sudah ditemukan mempengaruhi proses meiosis yaitu menghambat anafase II. Malter dan Cohen (1988;162) mengemukakan suatu pendekatan baru dengan membedah zona secara parsial menggunakan energi mekanik (Partial Zona Dissection). Telah terjadi 8 kehamilan dengan menggunakan tehnik ini.

Pada pembedahan zona parsial oosit dimanipulasi dengan meletakkan dalam medium inseminasi dengan sperma motil berdensitas 5-20 juta/ml. Sedangkan jumlah sperma sebanyak 5-20 juta/ml masih sulit diperoleh pada laki-laki yang mengalami kelainan sperma berat. Penanganan pada kasus dengan densitas sperma yang sangat rendah (oligozoospermia diperlukan cadangan sperma guna dimasukkan secara langsung ke oosit (micro insemination atau micro fertilization). Melalui pelubangan zona

107/16/78 (2)

612.6

548

m.1

parsial dapat dilakukan dengan mikro inseminasi dengan cara sperma dibantu agar dapat menembus ruang peri vitellina atau sperma secara langsung diinjeksikan kedalam sitoplasma telur (mikroinseminasi mikroinjeksi ke dalam sitoplasma). Metode seperti ini dikenal dengan istilah ICSI.

ICSI adalah teknik fertilisasi terbantu yang menjanjikan, dimana keuntungan bagi para wanita yang sulit hamil, dengan metode fertilisasi in vitro dan pasangan yang tidak subur karena kerusakan yang cukup parah pada sperma. Injeksi langsung spermatozoa tunggal ke dalam ooplasma pada metafase II.

Suspensi sperma dimasukkan ke mikropipet sperma (Drummond, biomal, PA) dan diletakkan di ujung mikropipet dengan eppendorf mikroinjektor 5242 (Germany). Mikropipet dipersiapkan dengan narisinge micropuler (Japan) dan narisinge microgrinder. Diameter eksternal ujung mikropipet untuk transfer subzonal 10-15 mikron meter dan diameter internal 6-12 mikron meter. Begitu juga untuk injeksi ooplasma diameter ujung pipet 8-10 mikron meter dan 5-7 mikron meter. Pemegang pipet adalah dipelihara dalam etanol.

MILIK UPT PERPUSTAKAAN

IKIP

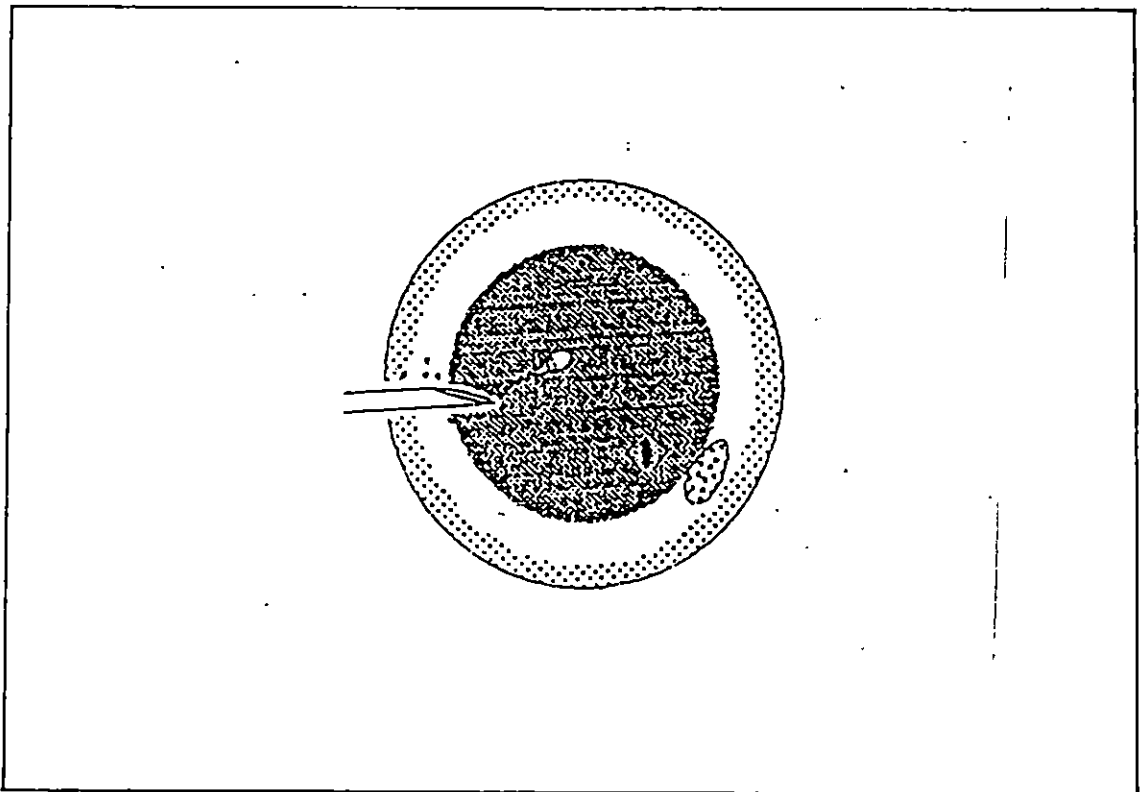
Masing-masing oosit dimanipulasi dengan memasukkan dalam medium T6 (HEPES) dan 10% serum manusia sesaat sebelum mikromanipulasi. Oosit dengan polar bodi yang terletak pada keadaan pukul 6 dan 12 dimasukkan sperma secara langsung pada keadaan pukul 3 menggunakan mikropipet. Pada subzonal transfer 7-10 sperma motil dimasukkan ke dalam rongga perivitellina. Setelah injeksi ooplasma mikropipet ditarik dengan segera. Setelah prosedur ini oosit dicuci dalam medium T6 sebelum diinkubasi dalam 5% CO₂, 5% O₂ dan 90% N₂ pada 37°C. Pronukleus oosit diperiksa setelah 14-18 jam, bila ada fertilisasi ditransfer ke tuba fallopii, atau rongga uterus.

A. Injeksi Telur

Prosedur penyuntikan menggunakan mikropipet yang diisi oleh cairan dalam Frourinert Fc-77 (3M Co). Bersifat kohesif, densitas tinggi dan viskositas rendah menyebabkan cairan dapat bergerak dengan mudah, dan tetap menjaga agar pipet tetap bersih dan berusaha tidak merusak bagian dalam. Pipet diletakkan melalui cawan petri melalui mineral oil sampai ke tempat yang berisi kepala sperma. Sperma

tunggal ditarik ke dalam tabung pipet penyuntik dan ke dua pipet dipindahkan ke tempat yang berisi telur. Ketika telur-telur dipegang dengan pipet pemegang, pipet penyuntik didorongkan secara pasti melalui zona dan ke dalam vitelus (penetrasi vitelus dapat menyebabkan lekukan ke dalam). Bila hal ini terjadi diperlukan tarikan mikromanipulator secara gentle, yang dapat menyebabkan vibrasi yang ditransmisikan ke tabung pipet penyuntik dan mampu menebus telur.

Kepala sperma yang disuntikkan ke dalam sitoplasma dengan jumlah cairan minimum dan pipet penyuntik perlahan ditarik keluar. Bila terlalu banyak cairan dapat berakibat letal. Kemudian setelah penyuntikkan telur-telur dikultur atau dibiakkan dengan cara yang sama dengan peristiwa fertilisasi in vitro. Dibawah ini, diperlihatkan cara penyuntikkan sperma ke dalam telur (Gambar 5).



Gambar 5. Mikroinjeksi (Fishel Simon, 1993)

Diantara sperma injection ke dalam sitoplasma, beberapa kapasitas sperma kehilangan kromosomnya. Pada kenyataannya penyuntikkan kepala sperma bere-
spon seperti peristiwa fertilisasi normal dan mempunyai kemampuan untuk memberikan kromosomnya pada waktu pembelahan mitosis. Peristiwa ini ditan-
dai dengan tidak reaksinya atau tidak menjadi abnor-
mal, berdasarkan prosedur isolasi. Kapasitas dan reaksi akrosom normal hanya sesuai pada fertilita-

si dan bukan merupakan penggantian perkembangan. Tidak adanya preinkubasi tidak berdampak pada sifat sperma dalam telur. Kapasitas dan reaksi akrosom tampak dalam membran akrosom dan melepaskan enzimnya pada daerah penembusan. Secara fungsional normalnya fertilisasi telur adalah sebanding terhadap sperma.

B. AKTIVASI TELUR DAN RESPON SPERMA

Pronukleus diperkirakan muncul setelah 16-18 jam setelah oosit diinjeksikan. Kemudian setelah 24 jam embrio akan membelah (cleavage). Embrio terbentuk lebih kurang 48 jam setelah injeksi sperma. Embrio yang paling baik dimasukan kedalam saluran uterin sebanyak tiga embrio. Embrio sisanya disimpan sebagai cadangan.

Setelah fertilitasi, telur melakukan meiosis secara lengkap dengan membentuk 2 badan kutub dari sperma haploid dan sel kromosom telur terorganisir ke dalam pronukleus. Formasi pronukleus betina menyangkut penampakkannya pada membran yang menyatukan kromosom untuk menghasilkan membran pronukleus. Pada waktu yang sama, kromosom meiosis dekon-densasi dan memulai replikasi DNA.

Perubahan sperma dengan berkondensasi dan kehilangan arginin sebagai ciri khas sperma dengan protein yang kaya akan sistein sebagai hasil fertilisasi. Kemampuan dekontensasi sperma membutuhkan sitoplasma telur. Sperma yang berfertilisasi dengan menyuntikkan ke dalam telur yang belum matang pada tahap terbentuknya gelembung germinal, tetap berinteraksi tapi tidak berkondensasi sampai gelembung germinal pecah. Setelah gelembung germinal pecah, sperma berkondensasi tapi tidak membentuk pronukleus. Hal ini tidak berarti bawa telur-telur bermeiosis.

Kira-kira 5 jam setelah spermatozoa disuntikkan sesuai prosedur dan tidak menyebabkan respon yang berarti, dapat dianggap usaha pertama telah berhasil. Penyuntikan sel telur reaksinya dapat dilihat berdasarkan keteraturan dari sitoplasma, ukuran membran plasma, hubungannya dengan zona pellucida, volume ruang perivitelina dan ada tidaknya degenerasi.

V. KESIMPULAN

Mikroinjeksi sperma pada oosit manusia (ICSI) mungkin merupakan teknik yang dapat dipakai untuk mengatasi masalah abnormalitas sperma yang berat (oligo asteno terato zoospermia), tetapi teknik ini harus digunakan secara optimal. Pemakaian metode yang bagus dengan konsentrasi sperma yang sangat miskin (abnormalitas sperma) akan berhasil melakukan fertilisasi. Meningkatnya reaksi akrosom pada sperma yang jelek adalah penting guna terjadinya fertilisasi pada metode sub zonal transfer.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker, HWG (1994), *Management of Oligozoospermia in IVF dalam: In Vitro Fertilization, London: Past Present IRL Press.*
- Cohen J. Malter H. Feihilly C et.al. (1988). *Implantation of Embryos After Partial Opening of Oocyte Zona Pellucida to Facilitate Sperm Penetration.* USA: Lancet.
- Fishel S. Timson J. Hall J. et.al. (1993). *Micro-manipulation dalam Reproductive Medicine Review.* Smith S (Eds) Vol.2 No.3.
- Fishel S, Jackson P, Johnson J, et.al. (1990). *Sub zonal Insemination for the Alleviation of Infertility.* Fertil Steril No. 54.
- Hafez, E.S.E. dan Evans, T.N. (1973). *Human Reproduction Conception and Contraception.* New York: Harperana.
- Kolai, Lacham O, Jansen RPS et.al. (1990). *Chromosomal Analysis of Human Oocytes Fertilized by Micro Injection of Spermatozoa into the Perivitelline space.* Human Reprod. No. 5.
- Lanzendorf SE. Malony MK. Veeck LL. et.al. (1988). *A Preclinical Evaluation of Pronuclear Formation by Micro Injection of Human Spermatozoa into Human Oocytes.* Fertil Steril No. 49.
- Mann T. (1964). *Spermatozoa Structural and Functional Characteristic, Motility and Fertility.* Saint Louis: Mosby Company.

Ng SC. Bongso A. Rathnam SS. (1991). *Mikro Injection of Human Docytes : A Technique for Severe Oligoasthenoterato zoospermia* . Fertil Steril No.56.

Ng SC. Bongso A. Rathnam SS. et.al. (1988) *Pregna After Transfer Of Sperm under Zone*. USA: Lancet.

Yapri, Julius Chandra. (1994). *Penata Iaksanaan Program FIV/Bayi Tabung*. Jakarta: Widya.