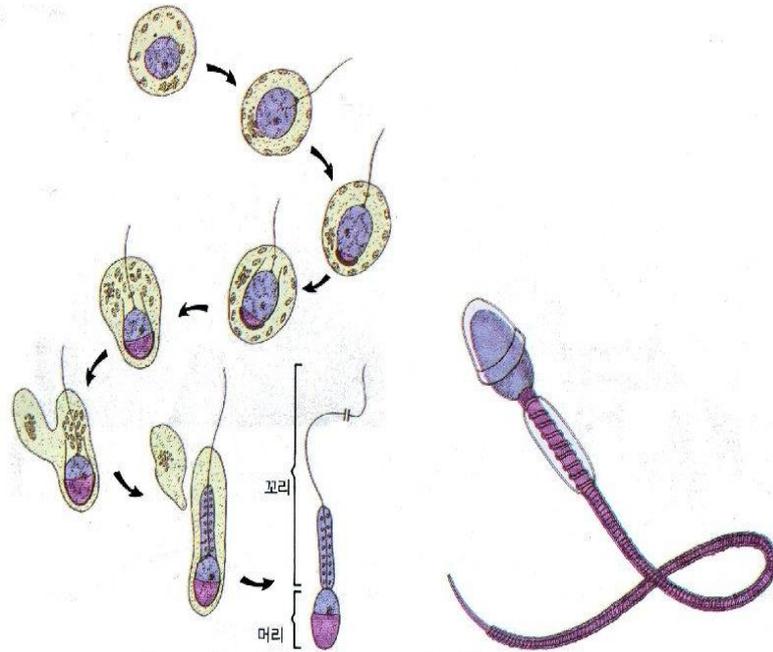


ANALISIS SEMEN MANUSIA



DEPARTEMEN BIOLOGI MOLEKULER

FAKULTAS KEDOKTERAN

**UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL “VETERAN”
JAKARTA**

2021

ANALISIS SEMEN

Dasar Teori

Analisis semen atau dikenal sebagai tes sperma bertujuan untuk menilai ciri serta kualitas spermatozoa. Cairan semen disebut juga sebagai air mani atau cairan ejakulat berwarna putih yang keluar dari penis saat ejakulasi dan mengandung sel-sel sperma. Proses pengeluaran semen dalam situasi normal disebut ejakulasi. Analisis semen mengukur tiga faktor utama yaitu jumlah sperma, bentuk atau morfologi sperma, dan pergerakan sperma yang juga dikenal sebagai motilitas sperma. Dengan analisa semen dapat diketahui apakah terdapat ketidaknormalan (abnormalitas) yang dapat mengganggu kesuburan dan menghambat terjadinya fertilisasi. Spermatozoa sendiri merupakan sel gamet yang diproduksi oleh pria. Tempat produksi spermatozoa terjadi di dalam testis dan proses pembentukan spermatozoa disebut dengan spermatogenesis. Secara morfologi, sel spermatozoa terdiri dari kepala berbentuk lonjong, yang didalamnya mengandung akrosom, dua sentriol, leher dan ekor. Salah satu dari sentriol adalah badan basal dari flagelum, yang merentang sepanjang ekor. Mitokondria berada di bagian atas flagelum yang menyediakan energi untuk pergerakan sel spermatozoa.

Untuk menganalisis sperma, semen harus dikumpulkan terlebih dahulu. Sampel semen umumnya dikumpulkan di ruang pribadi dekat laboratorium, untuk membatasi paparan semen terhadap fluktuasi suhu dan untuk kontrol waktu antara pengumpulan dan analisis. Sampel harus dikumpulkan setelah minimal 2 hari dan maksimum 7 hari abstinensia. Pasien harus diberikan instruksi lisan dan tertulis yang jelas mengenai prosedur koleksi sampel semen seperti menekankan bahwa sampel semen harus lengkap dan pasien harus melaporkan jika kehilangan fraksi apa pun dari sampel. Semua informasi berikut harus dicatat pada formulir laporan seperti nama pasien, tanggal lahir, nomor kode pribadi, periode abstinensia, tanggal dan waktu pengumpulan, kelengkapan sampel, kesulitan dalam menghasilkan sampel, dan interval antara pengumpulan dan dimulainya analisis semen.

Produksi sperma dalam tubuh pria adalah proses yang kompleks, memerlukan beberapa organ yang saling bekerja sama. Testis, epididimis, vesikula seminalis, dan prostat merupakan organ utama untuk memastikan produksi sperma. Vesikula seminalis menghasilkan sebagian besar cairan dalam semen. Cairan tersebut memiliki pH basa untuk melawan keasaman di vagina, membantu sperma bertahan hidup, dan juga menghasilkan gula

(fruktosa) yang menyediakan energi bagi sperma. pH normal semen umumnya netral berkisar antara 7.2-7.8. berwarna putih mutiara dengan bau yang khas.

Terdapat beberapa bagian utama dalam analisis semen :

1. Volume Semen

Berapa banyak semen yang diproduksi, volume normal semen antara 1,5 - 5 mL. Volume rendah dapat menunjukkan penyumbatan atau disfungsi dalam vesikula seminalis atau prostat.

2. Konsentrasi Sperma

Berapa juta sperma per mililiter diproduksi, normalnya sekitar 15-20 juta/ml atau lebih tinggi. Angka yang lebih rendah dapat menunjukkan ada hambatan sehingga sperma sulit untuk keluar, atau testis tidak menghasilkan sperma sebagaimana seharusnya.

3. Motilitas sperma

Berapa banyak sperma bergerak yang ada, dan nilai normal atau batas referensi untuk total motilitas (PR + NP) adalah minimal 40% sedang untuk motilitas progresif (PR) adalah minimal 32% (gol a+b).

4. Morfologi sperma

Berapa persentase sperma dengan bentuk yang normal, nilai normal lebih dari 30% dari total spermatozoa yang dihitung. karena hanya sperma berbentuk normal yang dapat membuahi sel telur.

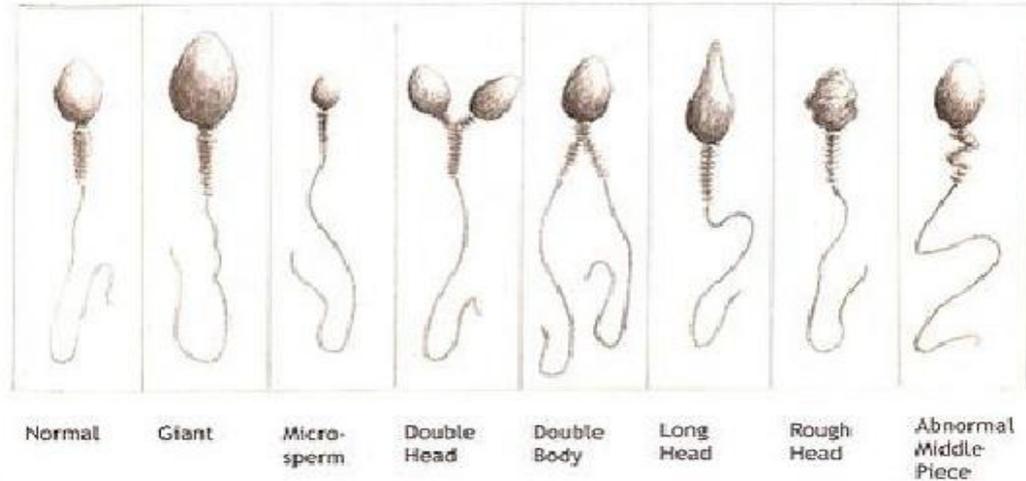
5. Viabilitas sperma

Persentase spermatozoa hidup dinilai dengan mengidentifikasi sperma dengan membran sel utuh. Viabilitas sperma harus dinilai sesegera mungkin setelah likuifaksi semen, sebaiknya pada 30 menit dan maksimal dalam 1 jam ejakulasi, untuk mencegah efek merusak dari dehidrasi atau perubahan suhu pada pengamatan viabilitas. Nilai normal viabilitas sperma minimal 58% dari total keseluruhan sperma yang dihitung. Analisis ini dapat dilakukan secara rutin pada semua sampel, tetapi sangat penting untuk sampel dengan motilitas progresif kurang dari 40%. Tes ini dapat menyediakan cek pada evaluasi motilitas, karena persentase sel mati tidak seharusnya melebihi persentase spermatozoa imotile.

6. Faktor-faktor lain

Ada beberapa item lain yang dapat diamati seperti ada tidaknya sel darah putih yang dapat menunjukkan kemungkinan infeksi dan fragmentasi DNA sperma yang dapat menjadi salah satu penyebab kasus *unexplained infertility*.

Sperm Morphology



Gambar 1. Contoh-contoh abnormalitas sperma berdasarkan bentuknya (Fertility-Docs, 2009)

Tabel 1. “ Manual pemeriksaan analisis semen manusia

Rekomendasi analisis semen standar			
No	Uji Makroskopis	Uji Mikroskopis	Test fungsi sperma
1.	Koagulasi dalam semen	Konsentrasi sperma	Uji Host
2.	Likuifaksi	Morfologi sperma	Viabilitas
3.	Volume	Motilitas sperma	Uji interaksi sperma-mucus
4.	pH	Total sperma per ejakulat	
5.	Viskositas		
6.	Warna		
7.	Bau		

Abnormalitas sperma dapat terjadi karena beberapa sebab, antara lain stress panas yang paling banyak pengaruhnya terhadap kerusakan spermatozoa dan menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis.

Abnormalitas sperma antara lain,

1. Polyzoospermia : Konsentrasi sperma sangat tinggi
2. Oligozoospermia: Jumlah sperma kurang dari 20 juta/ml

3. Hypospermia : Volume semen $< 1,5$ ml
4. Hyperspermia: Volume semen $> 5,5$ ml
5. Aspermia: Tidak ada semen
6. Pyospermia: Ada sel darah putih pada semen
7. Hematospermia: Ada sel darah merah pada semen
8. Asthenozoospermia: Sperma yang mampu bergerak $< 40\%$
9. Teratozoospermia: 30% sperma mempunyai bentuk yang tidak normal
10. Necozoospermia: sperma yang tidak hidup

PROSEDUR KERJA

ALAT & BAHAN :

Alat dan bahan yang digunakan yaitu :

1. Semen ejakulat
2. Larutan George
3. Larutan Host
4. Larutan Eosin Y 0,5 %.
5. Metanol
6. Larutan Giemsa
7. Neubauer
8. Objek glass
9. Cover glass
10. Tabung endorf
11. Pipet tetes
12. Mikro pipet
13. Mikroskop
14. Counter sperm cell
15. pH meter

A. PEMERIKSAAN MAKROSKOPIS

1. **Penilaian warna, pH, likuifikasi, bau, volume**
 - a. Amati warna dari semen,

- putih mutiara (normal)
- kemerahan (kontaminasi oleh darah)
- coklat (adanya dekomposisi pada kontaminasi darah)
- kehijauan (adanya bakteri pembusuk).
- b. Lakukan pengukuran pH
- c. Likuifaksi → kemampuan utk m' cair selama 15 menit
- d. Bau → khas
- e. pH → 7,2 – 7,8
- f. Volume → 2 – 5 mL
- g. Viskositas (Konsistensi)
 - memasukkan batang kaca kedalam sediaan
 - Amati benang yg terbentuk pd saat batang kaca diangkat keatas.
 - Jika < 2 cm → Normal apabila membentuk helaian seperti benang
- h. Aglutinasi spontan
 - Terjadinya penggumpalan sperma pada saat ejakulasi

B. PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS

1. Perhitungan motilitas spermatozoa

- a. Buat preparat basah dari semen.
- b. Periksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 x
- c. Hitung persentase dari 100 sperma dg ketentuan
keterangan : Motilitas (setelah 1 jam) %

Progresif Lurus (a) %	
Progresif lambat (b) %	Jumlahkan
Gerak ditempat (c) %	(a+b)
Tidak bergerak (d) %	

2. Perhitungan konsentrasi spermatozoa

- a. Larutan George / JOS dengan pengenceran 1000 x
(50 µl sperma + 950 µl lar George), di vortex.
- b. Diteteskan sebanyak 10 µl diatas Neubauer
- c. Diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400×

Rumus :

$$\text{KS} : n \times 10.000 \times \text{faktor pengenceran (20)} \times 2,5$$

Perhitungan konsentrasi sperma :

$$\Sigma \text{ spermatozoa} = (\Sigma \text{ total} : \text{faktor konversi}) \times 10^6$$

Total sperma per ejakulat = Konsentrasi sperma x Volume sperma.

3. Perhitungan morfologi spermatozoa

- a. Buat apus sperma
- b. Lakukan fiksasi dan beri pewarnaan giemsa
- c. Di bilas dengan menggunakan aquadest
- d. Amati dibawah mikroskop, lihat bentuk kepala sperma dan hitung 100 sperma :

Abnormal =%

Normal = %

Morfologi normal : Jika lebih dari 30% kepala berbentuk normal

4. Perhitungan viabilitas spermatozoa

- Buat apus sperma dengan pewarnaan eosin Y 0,5 %.
- 50 μ l sperma + 50 μ l eosin → masukkan ke tabung rekasi & aduk sampai homogen.
- Teteskan pada Object glass & tutup dengan deckglass.
- Hitung 100 sperma :
Mati : terwarnai merah muda
Hidup : tidak terwarnai

5. Uji HOST

Untuk melihat adanya kebocoran pada membran sel spermatozoa

- a. 100 μ l semen + 1000 μ l larutan HOST lalu diamkan selama 1 jam
- b. Setelah itu di vortex, lalu teteskan pada object glass dan tutup dengan deckglass
- c. Amati dibawah mikroskop, dan hitung 100 sperma.
- d. Jika ekor sperma bengkok berarti normal, sedang jika ekor sperma lurus berarti tidak normal.

Name:			
Code:			
Date (day/month/year)			
Collection (1, at laboratory; 2, at home)			
Collection time (hour : minute)			
Sample delivered (hour : minute)			
Analysis begun (hour : minute)			
Patient			
Abstinence time (days)			
Medication			
Difficulties in collection			
Semen			
Treatment (e.g. bromelain)			
Complete sample? (1, complete; 2, incomplete)			
Appearance (1, normal; 2, abnormal)			
Viscosity (1, normal; 2, abnormal)			
Liquefaction (1, normal; 2, abnormal) (minutes)			
Agglutination (1-4, A-E)			
pH ≥ 7.2			
Volume (ml) ≥ 1.5			
Spermatozoa			
Total number (10^6 per ejaculate) ≥ 39			
Concentration (10^6 per ml) ≥ 15			
Error (%) if fewer than 400 cells counted			
Vitality (% alive) ≥ 58			
Total motile PR + NP (%) ≥ 40			
Progressive PR (%) ≥ 32			
Non-progressive NP (%)			
Immotile IM (%)			
Normal forms (%) ≥ 4			
Abnormal heads (%)			
Abnormal midpieces (%)			
Abnormal principal pieces (%)			
Excess residual cytoplasm (%)			
Direct MAR-test IgG (%) (3 or 10 minute) < 50			
Direct MAR-test IgA (%) (3 or 10 minute) < 50			
Direct IB-test IgG (% with beads) < 50			
Direct IB-test IgA (% with beads) < 50			
Non-sperm cells			
Peroxidase-positive cells, concentration (10^6 per ml) < 1.0			
Accessory gland function			
Zinc (μmol per ejaculate) ≥ 2.4			
Fructose (μmol per ejaculate) ≥ 13			
α -Glucosidase (neutral) (mU/ejaculate) ≥ 20			
Technician:			