

Induksi Antibodi Poliklonal Tirosin Kinase Sebagai Alternatif Metode Imunokontrasepsi Terhadap Fertilitas Mencit Jantan (*Mus Musculus*)**Introduction Polyclonal Antibody Tyrosine Kinase As Alternative Immunocontraception Method Against Fertility Level Of Male Mice**

¹ Sri Pantja Madyawati, ² Ninda Ayu Lailia, ¹ Boedi Setiawan, ¹ Widjiati, ¹ Hermin Ratihani

¹ Fakultas Kedokteran Hewan Unair

² PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya-60115.

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993015

Email: spantja@unair.ic.id

Abstract

Tyrosine kinase is a sperm receptor which bind to zona pellucida 3(ZP3). This research was conducted to investigate the effectivity of polyclonal antibody tyrosine kinase as an alternative immunocontraception method against fertility level of male mice. Sixteenth male mice were randomly divided into two groups. 0,1 ml phosphate buffer saline (PBS) were offered to the group control (P0) by subcutan injection during 30 days while 0,1 ml polyclonal antibody tyrosine kinase were offered to the group I (P1) by subcutan injection during 30 days. After treatment done male mice copulated with female mice estrous.

The result showed that application of 0,1 ml polyclonal antibody tyrosine kinase decrease level fertility of male mice.

Keywords : tyrosine kinase, sperm receptor, polyclonal antibody

Pendahuluan

Pengendalian populasi hewan dengan metode kontrasepsi telah lama dilakukan selain untuk menurunkan populasi hewan peliharaan jugadimaksudkan untuk pencegahan penyakit zoonosis.

Metode kontrasepsi yang sering digunakan pada hewan adalah dengan penyuntikan preparat hormonal maupun dengan cara pengambilan organ kelamin utama (sterilisasi) seperti kastrasi dan ovariohisterektomi.

Beberapa kendala pada metode sterilisasi maupun penyuntikan preparat hormonal adalah terjadinya infeksi pasca operasi, perubahan tingkah laku serta obesitas (Hartanto, 2002)

Berbagai penelitian terus dikembangkan untuk menemukan suatu metode yang efektif dalam menghambat kebuntingan tanpa menimbulkan efek samping. Metode imunokontrasepsi merupakan suatu metode yang

didasarkan mekanisme pembentukan respon imun tubuh yang dapat menghambat kebuntingan

Salah satu alternatif bahan yang dapat digunakan sebagai imunokontrasepsi adalah berasal dari antibodi suatu protein membran plasma spermatozoa. Protein membran plasma spermatozoa yang berfungsi sebagai reseptor, enzim dan antigen yang terlibat dalam pengenalan spermatozoa dengan zona pelucida sel telur adalah tirosin kinase (Herero *et al.*, 1997).

Antibodi tirosin kinase diperoleh dengan cara imunisasi pada kelinci jantan dari isolat tirosin kinase membran plasma spermatozoa (Leenaars and Hendriksen, 2005). Apabila antibodi tirosin kinase diberikan pada mencit jantan maka diharapkan dapat menghambat fusi spermatozoa dengan sel telur.

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan suatu alternatif metode imunokontrasepsi dengan menggunakan antibodi

poliklonal tirosin kinase sebagai bahan antifertilitas hewan jantan.

Materi dan Metode Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 ekor mencit betina strain Balb/c umur 2,5 bulan berat badan 20 – 30 gram dan 16 ekor mencit jantan umur 5 bulan.

1. Persiapan

Semua hewan coba dikandangkan secara terpisah dan diadaptasikan selama satu minggu untuk menyesuaikan kondisi lingkungan penelitian. Sistem perkawinan yang dipakai adalah sistem perkawinan monogami yaitu seekor pejantan dengan seekor betina.

2. Penentuan siklus birahi mencit betina dengan vaginal smear

Penentuan siklus birahi mencit dengan teknik vaginal smear dilakukan untuk mengetahui fase birahi mencit betina agar dapat mengawinkan pada waktu yang tepat.

Gambaran mikroskopis preparat ulas vagina pada fase birahi adalah terlihat sel-sel kornifikasi. Penentuan siklus birahi dengan teknik vaginal smear dapat dilakukan sebagai berikut : 16 ekor mencit betina yang telah diadaptasikan selama satu minggu ditempatkan dalam 16 kandang yang masing-masing berisi satu ekor mencit betina. Cotton bud disiapkan dan dibasahi dengan PBS, lalu cotton bud dimasukkan kedalam lubang vagina mencit selanjutnya diputar-putar, cotton bud diulaskan pada gelas obyek secara merata dan ditetesi dengan alkohol 70% kemudian didiamkan selama 10 menit, selanjutnya dibilas dengan air kran yang mengalir. Setelah itu preparat diwarnai dengan giemsa, didiamkan selama 3 menit, dibilas dengan air kran, dikeringkan selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop optik dengan perbesaran 400X.

3. Perlakuan

Enam belas ekor mencit jantan yang telah diadaptasikan selama satu minggu dibagisecara acak menjadi dua kelompok : Kelompok Kontrol (P0) delapan ekor mencit jantan disuntik dengan PBS 0,1 ml/sc sehari sekali selama 30 hari, Kelompok Perlakuan (P1) sebanyak 8 ekor mencit disuntik dengan antibodi poliklonal tirosin kinase sebanyak 0,1 ml/sc selama 30 hari. Setelah masa perlakuan selesai dalam kandang yang berisi satu ekor mencit betina estrus dimasukkan satu ekor mencitjantanuntuk dikawinkan secara monogami.

Mencit jantan dan betina dikumpulkan selama 3 hari, setiap 24 jam dilakukan pengamatan terjadinya kopulasi dengan melihat adanya sumbat vagina. Setelah 3 hari mencit jantandan betina dipisahkan. Pengamatan dilakukan sampai hari ke 21 setelah kawin dengan melihat jumlah anak yang dilahirkan.

Hasil dan Pembahasan

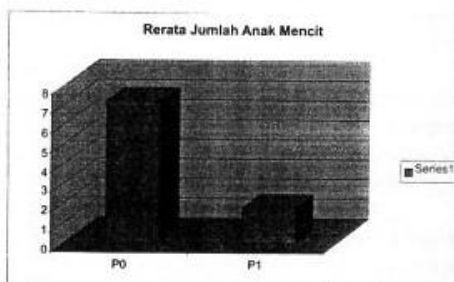
Hasil pengamatan tentang induksi antibodi poliklonal tirosin kinase sebagai alternatif metode imunokontrasepsi pada mencit jantan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Rerata jumlah anak pada mencit betina setelah dikawinkan dengan mencit jantan yang diinjeksi dengan antibodi poliklonal tirosin kinase secara subkutan (ekor)

Perlakuan	Ulangan	Rerata Jumlah Anak Mencit ± Simpangan Baku
Po	8	7.13 ± 1.55 ^a
P1	8	1.75 ± 3.41 ^b

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$)

Data yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan uji T menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.05$). Hasil dari uji T menunjukkan perlakuan kontrol (P0) memberikan hasil jumlah anak yang dilahirkan terbanyak dan berbeda nyata dengan perlakuan P1



Gambar 1. Diagram Batang Jumlah Anak Mencit

Imunokontrasepsi merupakan kontrasepsi yang diberikan secara injeksi dengan bahan yang bersifat imunogen dan bertujuan untuk mencegah konsepsi. Bahan yang bersifat imunogen dalam

penelitian ini adalah antibodi poliklonal tirosin kinase (Hamamah *et al.*, 1997).

Hasil penyuntikan antibodi poliklonal tirosin kinase pada mencit jantan diharapkan dapat memblokir reseptor tirosin kinase pada membran spermatozoa. Hal ini akan mengakibatkan hambatan fusi membran spermatozoa dengan zona pelusida sel telur pada proses fertilisasi. Hasil penelitian ini terlihat bahwa rerata jumlah anak mencit yang dilahirkan pada kelompok kontrol (P0) sebesar 7.13 dan pada kelompok perlakuan (P1) sebanyak 1.75. Analisis statistik dengan uji T juga menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$).

Proses kebuntingan pada dasarnya berjalan secara normal apabila tidak terdapat kelainan fungsi pada sistem reproduksi jantan. Penurunan jumlah anak yang dilahirkan pada satu periode kebuntingan dapat disebabkan adanya gangguan fusi dan proses kapasitasi yang berakhir pada hambatan fertilisasi sehingga terjadi kegagalan kebuntingan. Antibodi terhadap spermatozoa mempengaruhi sistem reproduksi yaitu transpor spermatozoa, interaksi gamet dan daya tahan hidup embrio (Hiroaki *et al.*, 1998). Spermatozoa mempunyai sifat seperti antigen karena adanya autoantigen seperti plasma membran antigen, akrosomal antigen, sitoplasma dan mitokondria antigen serta inti sel antigen (Flickinger *et al.*, 1996).

Pada kelompok perlakuan (P1) ulangan 3, 4, 5, 6 tidak didapatkan anak sama sekali hal ini disebabkan antibodi poliklonal tirosin kinase akan memblokir protein tirosin kinase pada membran plasma spermatozoa, hal ini akan menyebabkan terganggunya proses fusi antara spermatozoa dengan zona pelusida sel telur.

Dalam penelitian ini hambatan terjadi ketika antibodi poliklonal tirosin kinase memblokir reseptor tirosin kinase akibatnya aktivasi PKA menurun dan menyebabkan aktivitas PLC terganggu. Secara otomatis gangguan pada PLC mengakibatkan pembukaan channel voltage dependent juga akan terganggu dan masuknya kalsium ke dalam sel mengalami penurunan. Hal ini menyebabkan fusi antarmembran spermatozoa dengan zona pelusida sel telur mengalami kegagalan. Aktivitas tirosin kinase yang menurun juga mengakibatkan hambatan kapasitasi dan motilitas spermatozoa yang menurun (Spungin and Breitbart, 1997).

Selanjutnya menurut Lee dan Chi (1995) suatu bahan dapat berpengaruh positif sebagai antifertilitas apabila hasil dari perlakuan yang diberikan menunjukkan persentase rerata jumlah anak yang dilahirkan pada kelompok kontrol lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan.

Pada kelompok perlakuan I (P1) ulangan 1 dan 2 masih terdapat beberapa ekor anak mencit yang dilahirkan. Hal ini diduga karena tidak adanya respon antibodi pada mencit jantan sehingga antibodi poliklonal tirosin kinase tidak dapat memblokir reseptor TK. Dari hasil pengamatan ini antibodi poliklonal tirosin kinase dapat digunakan sebagai alternatif bahan imunokontrasepsi karena antibodi poliklonal tirosin kinase dapat memblokir reseptor tirosin kinase yang sangat dibutuhkan pada proses fertilisasi agar dapat berjalan dengan normal. Pernyataan ini sesuai dengan pendapat Cooper (2004) bahwa penggunaan bahan-bahan imunokontrasepsi harus bersifat sementara (*reversible*), aman, efisien dan mudah penggunaannya.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa induksi antibodi poliklonal tirosin kinase dapat menurunkan tingkat kesuburan pada mencit jantan dengan indikator menurunnya jumlah anak yang dilahirkan.

Daftar Pustaka

- Cooper, D.W., 2004. Should Immunocontraception be Used For Wildlife Population Management?. *J. Aust. Mammal.* 26 : 61-65
- Flickinger, J.C., M.L. Baran, S. Howard and J. Herr, 1996. Sperm Autoantigens Recognized by Autoantibodies in Developing Rats Following Prepubertal Obstruction of The Vas Deferens. *J. Androl.* 17(4) : 433-442
- Hamamah, S., R.D. Jean and H. Lucas, 1997. The Future of Male Contraception : Immunocontraception by Preventing Gamete Interaction. *J. Reprod. Fert.* 25(2) : 136-140
- Herero, M.B., E. de Lamirande and C. Gagnon, 1999. Nitric Oxide Regulates Humar

- Sperm Capacitation and Protein Tyrosine. *J.Biol. Reprod.* 61:575-581
- Hiroaki, S., M. Shegeta, M. Inoue, A. Hasegawa and S. Isojima, 1998. Diversity of The Blocking Effect of Antisperm Antibodies on Fertilization in Human and Mouse. *J.Hum.Reprod.* 11(12):2595-2599
- Lee, E.B. and H.C. Chi, 1995. Female Antifertilitas Evaluation of Natural Products. In Proceeding From The UNESCO Regional Workshop. Seoul. November. PP.18-22
- Leenaars, M. and C.F.M Hendricksen, 2005. Critical Steps in The Production of Polyclonal and Monoclonal Antibodies. Evaluation and Recommendations. *J.I.LAR*46(3):269:279
- Spungin, B. and H. Breitbart, 1997. The Biochemistry of The Acrosome Reaction. *J.Mol.Hum.Reprod.* 3:195-202