

# Laporan Hasil Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012



## KARAKTERISASI PROTEIN FERTILIN BETA MEMBRAN SPERMATOZOA MANUSIA SEBAGAI PENGEMBANGAN KANDIDAT BAHAN IMUNOKONTRASEPSI

Reny I'tishom, S.Pi.,M.Si

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan  
Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi  
Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

Universitas Airlangga  
2012

## RINGKASAN

### KARAKTERISASI PROTEIN FERTILIN BETA MEMBRAN SPERMATOZOA PRIA SEBAGAI KANDIDAT BAHAN IMUNOKONTRASEPSI

Reny I'tishom

Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran  
Universitas Airlangga Surabaya

Di Indonesia, jumlah penduduk pada tahun 2004 telah melampaui 200 juta dan pengendalian penduduknya dilaksanakan dalam suatu Program Keluarga Berencana (KB). Peserta KB pria baru mencapai 1,3% dari total 58,3% dari seluruh peserta KB. Metode kontrasepsi pria yang telah dilakukan selama ini hanya ada 2 macam, yaitu penggunaan kondom dan vasektomi. Angka kegagalan kondom umumnya sangat tinggi, yaitu sekitar 12 persen, sedangkan vasektomi efektif mencegah kehamilan secara permanen. Idealnya kontrasepsi pria itu harus memiliki khasiat jangka lama, tetapi bersifat reversibel dalam hal menyebabkan azoospermia.

Vaksin kontrasepsi merupakan konsep baru yang diharapkan dapat digunakan untuk mengontrol kesuburan. Metode imunokonstrasepsi ini diharapkan lebih aman, efektif, praktis, efek samping lebih kecil dan memiliki peluang dapat diterima oleh pengguna dari pada teknik kontrasepsi sebelumnya. Imunokonstrasepsi merupakan kontrasepsi dengan prinsip imunologis yang diberikan secara injeksi menggunakan suatu bahan yang bersifat antigenik dan bertujuan untuk mencegah pertemuan antara spermatozoa dan oosit. Salah satu bahan yang mempunyai potensi sebagai vaksin kontrasepsi adalah protein membran spermatozoa. Salah satu protein membran spermatozoa yang mempunyai potensi tersebut adalah fertilin beta. Fertilin beta ini hanya terdapat pada spermatozoa *mature* dan ejakulat yang berfungsi sebagai molekul adhesi. **Namun sampai saat ini identifikasi dan karakterisasi fertilin beta membran spermatozoa pria masih belum diungkap secara jelas.** Oleh karena itu identifikasi dan karakterisasi terhadap protein membran spermatozoa yang bersifat imunogenik, merupakan suatu langkah yang penting dilakukan untuk pengembangan protein tersebut sebagai kandidat bahan imunokonstrasepsi.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat protein membran spermatozoa manusia dan mengidentifikasi protein fertilin beta membran spermatozoa manusia. Jenis penelitian ini adalah eksplorasi-laboratoris yang dianalisis secara diskriptif, untuk mengeksplorasi protein fertilin beta membran spermatozoa manusia. Penelitian ini telah mendapatkan Sertifikat *Ethical Clearance* dari Unit Bioetik dan Humaniora Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Subyek penelitian berjumlah 30 orang pria fertil umur 21 – 40 tahun, sudah menikah, dengan hasil analisis semen normozoospermia dan bersedia ikut dalam penelitian. Prosedur penelitian meliputi koleksi spermatozoa pria dan melakukan analisis semen, memisahkan protein membran spermatozoa pria dengan teknik sonifikasi dan sentrifugasi, menentukan berat molekul protein membran spermatozoa dengan menggunakan elektroforesis SDS PAGE, menentukan spesifitas fertilin beta dengan teknik Western blotting.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa protein membran spermatozoa pria hasil SDS-PAGE memiliki profil pita protein sebanyak 4 pita dengan berat molekul 17, 35, 75 dan 140. Dari 4 profil pita tersebut kemudian dilakukan Western blotting dan diketahui bahwa protein fertilin beta mempunyai berat molekul (BM) 75 kDa. Protein fertilin beta 75 kDa memiliki kadar protein 2407 µg/ml. Dengan demikian diharapkan dapat menginduksi terbentuknya antibodi. Melalui imunisasi dengan protein fertilin beta, antibodi poliklonal protein fertilin beta yang diproduksi diduga terbentuk melalui respon imun humoral. Kemungkinan pengembangan fertilin beta digunakan sebagai kandidat bahan produksi antibodi monoklonal untuk imunokontrasepsi, ada kriteria lain yang harus dipenuhi selain imunogenik yaitu protein spesifik yang hanya diekspresikan oleh spermatozoa dan tidak terdapat pada jaringan lain. Oleh karena itu apabila protein fertilin beta bersifat imunogenik, maka antibodi monoklonal hasil induksinya dapat digunakan untuk mengetahui lokasi fertilin beta pada spermatozoa, jaringan reproduksi dan somatik. Selain itu juga targetnya spesifik artinya antibodi tersebut memiliki sifat hanya dapat mengenali target tertentu dan spesifik, yaitu protein terdistribusi pada membran spermatozoa yang berfungsi dalam fertilisasi, serta antibodi tersebut harus aman dan dapat menghalangi fertilisasi. Di samping itu diperlukan juga untuk mengetahui keberadaan protein fertilin beta ini pada beberapa spesies lain, sehingga kalau protein ini terdapat pada spesies lain maka dapat digunakan sebagai hewan uji untuk penelitian.



## CHARACTERIZATION of HUMAN SPERM FERTILIN BETA PROTEIN for IMMUNOCONTRACEPTION

Reny I'tishom

Medical Biology Department, Medical Faculty, Airlangga University

### ABSTRACT

In Indonesia, the total population in 2004 has exceeded 200 million. Participants family planning (KB) men reached 1.3% of total 58.3% of all participants. Methods of male contraception that has been done so far there are only 2 kinds, namely the use of condoms and vasectomy. But condoms are effective in preventing pregnancy by 75-80%, whereas a permanent vasectomy. For that we need the development of new contraceptive for men which should have long-term benefits, but in terms of reversible causes azoospermia.

Contraceptive vaccine is a new concept that may be used to control fertility. Immunocontraception is an alternative to the principle of immunological contraception given by injection by using a material that is antigenic and aims to prevent a meeting between spermatozoa and oocytes. One of the materials that have potential as a vaccine candidate antigen immunocontraception is spermatozoa. One of these antigens is protein fertilin beta of human spermatozoa membrane. An alternative method is declared more secure, have high specificity, effective, practical, less side effects and may have a chance to be accepted by users than other contraceptive techniques.

The aims of this study was to isolated and identified protein fertilin beta human sperm membrane.

The method used is exploratory research - laboratories. Procedure following research: a collection of sperm and semen analysis, immunocytochemistry, separation membrane proteins of human spermatozoa with sonification and centrifugation, protein molecular weight determination fertilin beta sperm membrane using SDS-PAGE electrophoresis, protein concentration measurements with the Biuret method, determination of protein concentration fertilin beta, western blot to determine the specificity fertilin beta, isolation fertilin beta with elektroelusion techniques.

Based on this research, it is known that human sperm membrane proteins results of SDS-PAGE profiles of protein bands have as many as 4 bands with molecular weights of 17, 35, 75 and 140. From 4 band profile is then performed Western blotting and note that fertilin beta protein has a molecular weight (MW) 75 kDa. Fertilin beta protein 75 kDa protein had higher levels of 2407 ug / ml.

Keyword : human sperm membrane, fertilin beta, immunocontraception

## KARAKTERISASI PROTEIN FERTILIN BETA MEMBRAN SPERMATOZOA PRIA SEBAGAI KANDIDAT BAHAN IMUNOKONTRASEPSI

Reny I'tishom

Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran  
Universitas Airlangga Surabaya

### ABSTRAK

Di Indonesia jumlah penduduk pada tahun 2004 telah melampaui 200 juta. Peserta KB pria baru mencapai 1,3% dari total 58,3% dari seluruh peserta KB. Metode kontrasepsi pria yang telah dilakukan selama ini hanya ada 2 macam, yaitu penggunaan kondom dan vasektomi. Namun kondom efektif mencegah kehamilan sebesar 75 – 80%, sedangkan vasektomi bersifat permanen. Untuk itu perlu pengembangan kontrasepsi baru bagi pria dimana harus memiliki khasiat jangka lama, tetapi bersifat reversibel dalam hal menyebabkan azoospermia.

Vaksin kontrasepsi merupakan konsep baru yang mungkin dapat digunakan untuk mengontrol kesuburan. Imunokontrasepsi merupakan alternatif kontrasepsi dengan prinsip imunologis yang diberikan secara injeksi dengan menggunakan suatu bahan yang bersifat antigenik dan bertujuan untuk mencegah pertemuan antara spermatozoa dan oosit. Salah satu bahan yang mempunyai potensi sebagai kandidat vaksin imunokontrasepsi adalah antigen spermatozoa. Salah satu antigen tersebut adalah protein fertilin beta membran spermatozoa manusia. Metode alternatif ini dinyatakan lebih aman, memiliki spesifitas yang tinggi, efektif, praktis, efek samping lebih kecil dan kemungkinan memiliki peluang dapat diterima oleh pengguna dari pada teknik kontrasepsi lainnya.

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat dan mengidentifikasi protein fertilin beta membran spermatozoa manusia.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksploratif – laboratoris. Prosedur penelitian sebagai berikut : koleksi spermatozoa dan analisis semen, imunositokima, pemisahan protein membran spermatozoa manusia dengan sonifikasi dan sentrifugasi, penentuan berat molekul protein fertilin beta membran spermatozoa pria dengan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE, pengukuran kadar protein dengan metode Biuret, penentuan konsentrasi protein fertilin beta, western blot untuk menentukan spesifitas fertilin beta, isolasi protein fertilin beta membran spermatozoa dengan teknik elektroelusi.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa protein membran spermatozoa pria hasil SDS-PAGE memiliki profil pita protein sebanyak 4 pita dengan berat molekul 17, 35, 75 dan 140. Dari 4 profil pita tersebut kemudian dilakukan Western blotting dan diketahui bahwa protein fertilin beta mempunyai berat molekul (BM) 75 kDa. Protein fertilin beta 75 kDa memiliki kadar protein 2407 µg/ml.

*Key word* : imunokontrasepsi, fertilin beta, membran spermatozoa manusia