

**PENGHAMBATAN FERTILISASI OLEH ANTI-SPAM1 SEBAGAI
KANDIDAT IMUNOKONTRASEPSI PRIA**



Disusun oleh:

Andika Setyoadi, S.Si., M.Biomed.

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN GIZI

IPB UNIVERSITY

Diserahkan sebagai Koleksi Bacaan Perpustakaan

2026

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR.....	ii
DAFTAR TABEL	iii
ABSTRAK	iv
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Morfologi Spermatozoa	4
B. Spermatogenesis	5
C. Fertilisasi	8
D. Imunokontrasepsi	9
E. Protein SPAM1	14
F. Penggunaan Imunokontrasepsi	16
PENUTUP	21
DAFTAR PUSTAKA.....	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur dasar sperma manusia.....	4
Gambar 2. Komponen utama penyusun sperma manusia.....	5
Gambar 3. Proses pembentukan spermatozoa	6
Gambar 4. Tahapan proses fertilisasi	9
Gambar 5. Macam mekanisme penghambatan imunokontrasepsi	11
Gambar 6. Level antibodi dalam saluran reproduksi wanita	13
Gambar 7. Mekanisme antibodi memblok sperma menuju zona pelusida dan oosit	14
Gambar 8. Cluster gen SPAM1 pada tikus dan manusia.....	14
Gambar 9. Struktur dari gen SPAM1	15

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Ekspresi SPAM 1 di bagian epididymis.....	16
Tabel 2. Efektifitas imunokontrasepsi pada marmut belanda	19
Tabel 3. Efektifitas imunokontrasepsi pada hewan kelinci	20

ABSTRAK

Jumlah populasi manusia di dunia telah mengalami peningkatan sebanyak dua kali lipat selama periode tahun 1860-1930 dan telah mencapai jumlah 2 miliar jiwa saat ini. Peningkatan jumlah populasi ini diperkirakan akan menjadi tiga kali lipatnya pada 70 tahun kedepan hingga mencapai jumlah 10 miliar jiwa di tahun 2050. Jika hal ini terus berlanjut maka akan terjadi ledakan populasi. Ledakan populasi merupakan salah satu masalah terbesar di dunia yang jika tidak ditangani dengan tepat maka akan menjadi ancaman serius bagi generasi masa depan. Permasalahan pertumbuhan penduduk yang sangat pesat tersebut dapat diatasi salah satunya yaitu dengan menggunakan metode kontrasepsi. Metode kontrasepsi tertentu memiliki tingkat kesulitan, keamanan, dan cara pemakaian yang berbeda. Metode imunokontrasepsi merupakan sebuah metode kontrasepsi modern yang baru-baru ini sering digunakan. Metode imunokontrasepsi menggunakan vaksin kontrasepsi yang nantinya diharapkan akan menstimulasi terbentuknya antibodi tertentu yang dapat mencegah terjadinya proses fertilisasi. Salah satu vaksin kontrasepsi yang baru dikembangkan diantaranya yaitu Sperm Adhesion Molecule (SPAM1). SPAM1 merupakan protein yang terdapat pada sperma yang diketahui berperan dalam proses fertilisasi.

Proses fertilisasi dimulai dengan terjadinya fusi antara gamet jantan dan betina. Gamet jantan yang berupa spermatozoa memiliki antigen pada permukaan selnya yang unik, spesifik, dan bersifat imunogenik yang dapat berikatan dengan antibodi. Ikatan yang terbentuk antara antibodi dan antigen ini dapat menghambat fungsi dari gamet tersebut dan dapat mencegah terjadinya proses fertilisasi. Dengan demikian, antigen yang dimiliki oleh sperma tersebut dapat dikembangkan untuk pembuatan antibodi (anti-sperma) yang dapat digunakan sebagai vaksin imunokontrasepsi pada pria. Pembahasan makalah ini akan lebih terfokus pada pencegahan terjadinya proses fertilisasi dengan cara menggunakan antibodi pengikat protein yang berperan dalam proses fertilisasi. Penggunaan vaksin imunokontrasepsi dengan cara penghambatan pencegahan terhadap terjadinya fertilisasi ini merupakan metode yang tidak memiliki efek samping tertentu, aman digunakan serta bersifat reversibel. Dengan demikian diharapkan jika metode vaksin imunokontrasepsi ini dapat menjadi salah satu metode kontrasepsi unggulan dan menjadi solusi bagi permasalahan ledakan populasi manusia.

Kata kunci : imunokontrasepsi, antibodi, antigen, sperma,

BAB I

PENDAHULUAN

Populasi manusia yang ada di bumi terus mengalami peningkatan dengan laju peningkatan sebesar 1 milyar jiwa perdekade tahun, dimana 94% diantaranya berasal dari negara berkembang.¹ Jika laju tingkat kehamilan saat ini tidak menurun dari kisaran angka 3,3 menjadi 2,5 anak per satu orang ibu, maka jumlah populasi manusia di bumi akan mencapai 19 milyar jiwa di tahun 2100 dan menjadi 28 milyar jiwa di tahun 2150. Saat ini, 95% dari peningkatan tersebut terjadi di negara-negara berkembang, maka dapat dipastikan jika 80% dari jumlah populasi manusia yang ada akan saling ketergantungan dengan negara-negara berkembang di akhir abad ini. Total 38% dari 210 juta jiwa dari siklus tahunan kelahiran merupakan kelahiran yang tidak diinginkan dan 22% darinya berakhir dengan aborsi. Data statistik tersebut menunjukkan bahwa ledakan populasi memiliki efek yang sangat besar dan dapat berdampak pada terbatasnya akan fasilitas kesehatan, sosial, ekonomi, kesehatan, dan keterbatasan tempat yang berakibat pada generasi selanjutnya.² Masalah serius yang ditimbulkan dari adanya ledakan populasi tersebut, khususnya di negara-negara berkembang, menjadikannya membutuhkan sebuah cara yang efektif untuk mengontrol laju pertumbuhan populasi yang sangat cepat.³

Kontrasepsi merupakan sebuah cara yang dapat digunakan untuk mengontrol terjadinya ledakan populasi dunia.⁴ Variasi dari metode kontrasepsi yang digunakan oleh tiap individu adalah berbeda-beda sesuai dengan kebutuhan. Variasi metode kontrasepsi yang dilakukan bisa dimulai dari mencegah kelahiran, mengatur jarak kelahiran, dan membatasi jumlah anak yang dilahirkan. Pengaturan variasi metode kontrasepsi tersebut didasarkan atas keputusan individu, riwayat kesehatan, gaya hidup, dan faktor-faktor lainnya.⁵ Karakteristik dari metode kontrasepsi yang ideal ialah mudah diterima oleh pengguna, tidak menurunkan gairah seksual, tidak terdapat efek samping, harga yang terjangkau, efektif, mudah digunakan, dan bersifat reversibel.^{6,7}

Kontrasepsi dapat digunakan baik oleh pria maupun wanita. Hingga saat ini pilihan metode kontrasepsi untuk pria masih sangat terbatas pada penggunaan kondom, senggama terputus, dan vasektomi. Sebaliknya, penggunaan metode kontrasepsi pada wanita sangat banyak jenisnya, mulai dari pil kontrasepsi, kontrasepsi melalui injeksi,

implan kontrasepsi, penggunaan intrauterine devices (IUD), vaginal ring kontrasepsi, metode pembatas (barrier methods), sterilisasi bedah, spermisida, dan pengaturan keluarga berencana (KB).^{6,7} Oleh karena itu, dibutuhkan pilihan alternatif lain untuk metode kontrasepsi pada pria, misalnya seperti penggunaan imunokontrasepsi. Imunokontrasepsi merupakan sebuah penemuan metode terbaru dari kontrasepsi, dimana imunokontrasepsi ini menggunakan vaksin atau antibodi untuk mencegah terjadinya fertilisasi.⁸

Meskipun jenis metode kontrasepsi sangat banyak saat ini, namun beberapa metode tersebut dinilai belum cukup karena efek samping yang ditimbulkan sehingga tidak dapat sepenuhnya diterima oleh masyarakat. Metode-metode kontrasepsi yang ada sangat jarang yang bersifat ideal dan aman digunakan. Metode kontrasepsi termasuk pil kontrasepsi, IUD, norplant, kondom, dan senggama terputus memiliki tingkat kegagalan sebesar 3-8%, 0,1-2%, 0,1-5%, 14%, dan 19%.⁹

Pil kontrasepsi memiliki efek samping seperti resiko terjadi spotting, pendarahan, hipertensi, thromboembolic, hyperkoagulasi, peningkatan kolesterol dan trigliserida, nausea, kegemukan, sakit kepala vaskuler, interaksi dengan beberapa obat-obatan dapat menyebabkan peningkatan pada hati, hipofisis, serviks, kelenjar mammae, dan neoplasma, serta efek samping lainnya.⁹

Resiko utama dari penggunaan IUD adalah berhubungan dengan waktu dari instalasi dan dapat terjadi perforasi pada uterus. Kemungkinan lainnya yaitu dapat terjadi kejang dan terjadi pendarahan pada uterus, kelahiran yang tidak diinginkan, monoragy, infeksi, dyspareunia, dan kehamilan ectopic juga merupakan konsekuensi dari penggunaan IUD.⁹

Metode kontrasepsi, secara mekanik selalu berhubungan dengan penurunan kepuasan seks. Kondom sebagai salah satu metode kontrasepsi yang paling sering digunakan dalam tiap kondisi, tetapi memiliki efek samping dapat menurunkan libido pada beberapa orang dan juga memungkinkan terjadinya berbagai reaksi yang dapat menyebabkan peningkatan sensitifitas.⁹

Metode kontrasepsi spermisida intra vagina hanya berguna untuk sementara waktu dan berkaitan dengan peningkatan anomali kongenital atau aborsi. Metode lain seperti diafragma vagina hanya bisa digunakan jika memakai gel spermisida atau krim tertentu. Metode kontrasepsi dengan pembedahan seperti vasektomi dan tubektomi juga memiliki

kelemahan yaitu bersifat reversibel. Selain dengan menggunakan metode diatas, metode-metode kontrasepsi lainnya juga sedikit mengawatirkan karena banyak yang tidak efisien dan probabilitas yang tinggi terjadi kegagalan. Semua metode yang telah disebutkan tersebut, menunjukkan fakta bahwa ledakan populasi yang terjadi merupakan masalah yang tak dapat dihindarkan di masa depan. Fakta ini menjadi bukti bahwa metode-metode kontrasepsi yang ada belum begitu efektif dalam mengontrol ledakan populasi. Dengan demikian dibutuhkan sebuah metode kontrasepsi baru yang lebih efektif dan efisien. Metode terbaru tersebut adalah imunokontrasepsi, yaitu sebuah metode kontrasepsi yang didasarkan pada penggunaan stimulasi sistem imun.⁹

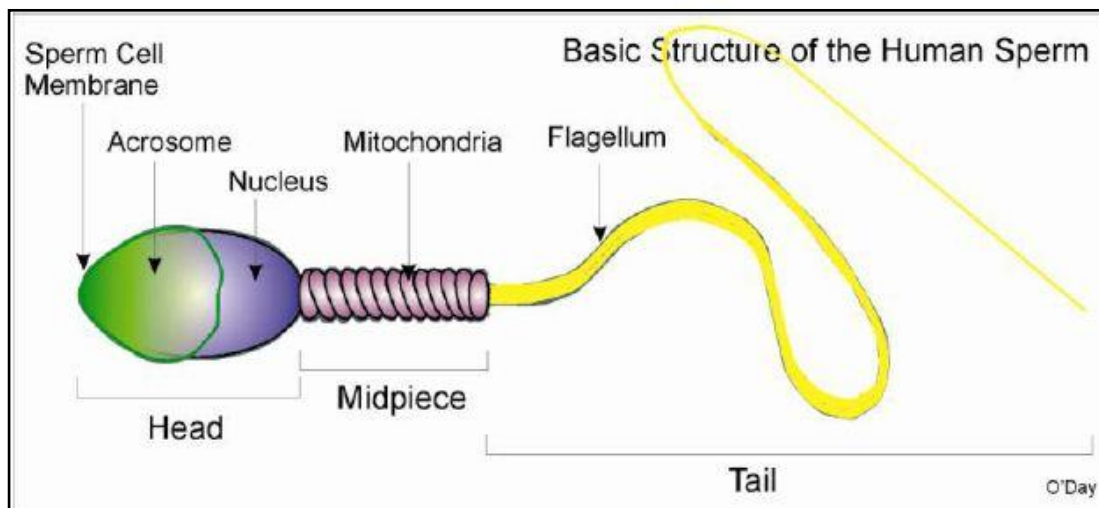
Imunokontrasepsi adalah sebuah metode menggunakan protein spesifik untuk menghasilkan respon imun humoral yang mengakibatkan terjadinya infertilitas pada hewan atau manusia untuk jangka waktu tertentu. Protein spesifik yang terdapat pada sperma dapat menginduksi respon imun pada laki-laki karena protein tersebut disintesis dan bergabung ke dalam spermatozoa hanya pada masa pubertas, lama setelah masa kelahiran, di mana sistem imun telah dapat mengenali bagian spesifik yang berasal dari dirinya sendiri ataupun yang merupakan benda asing. Beberapa antigen sperma spesifik yang telah berhasil diidentifikasi dan diketahui peranannya terhadap proses fertilisasi ialah PH-20 (SPAM1), FA-1, SP-10, FA-2, SP-17, NZ-1, dan LDH-C₄. Pada makalah ini akan menekankan pada penggunaan protein PH-20 (SPAM1) yang dijadikan kandidat dalam metode imunokontrasepsi pria.¹⁰

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. MORFOLOGI SPERMATOZOA

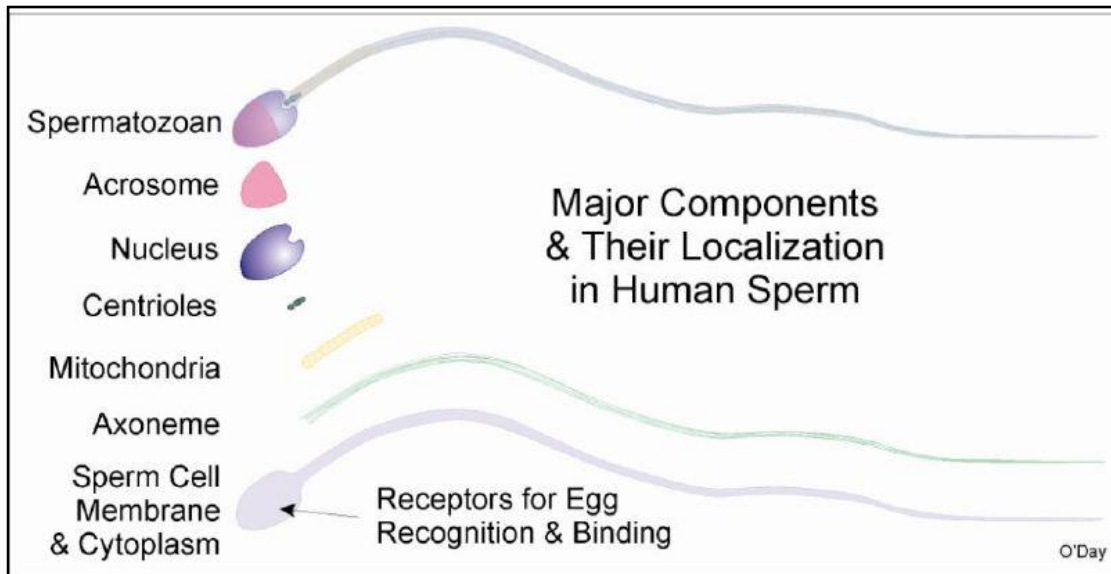
Spermatozoa pada manusia memiliki tiga bagian penting diantaranya yaitu bagian kepala, tengah dan ekor. Bagian kepala spermatozoa berisi materi genetik yang nantinya akan berfusi dengan materi genetik dari gamet betina (ovum). Bagian tengah merupakan bagian yang didominasi oleh kompleks mitokondria spiral yang saling berfusi. Bagian ekor merupakan alat gerak berbentuk seperti flagella namun memiliki fungsi yang spesifik yang tidak ditemukan pada selain flagella pada mamalia¹¹



Gambar 1. Struktur Dasar Sperma Manusia

Selain itu sperma juga mempunyai beberapa komponen penting yang memiliki fungsi spesifik, seperti:¹¹

- a. Membran sel sperma, berisi resptor untuk mengenali sel telur
- b. Akrosom, sebuah lisosom spesifik yang mengandung enzim digesti untuk penetrasi ke dalam sel telur
- c. Nukleus, berisi materi genetik haploid (n) untuk berfusi dengan materi genetik sel telur (n) menjadi diploid ($2n$)
- d. Sentiol, berupa mikrotubul dari flagel
- e. Flagella, berfungsi dalam pergerakan (motilitas) sperma
- f. Mitokondria, menyediakan energi (ATP) untuk pergerakan sperma



Gambar 2. Komponen utama penyusun sperma manusia

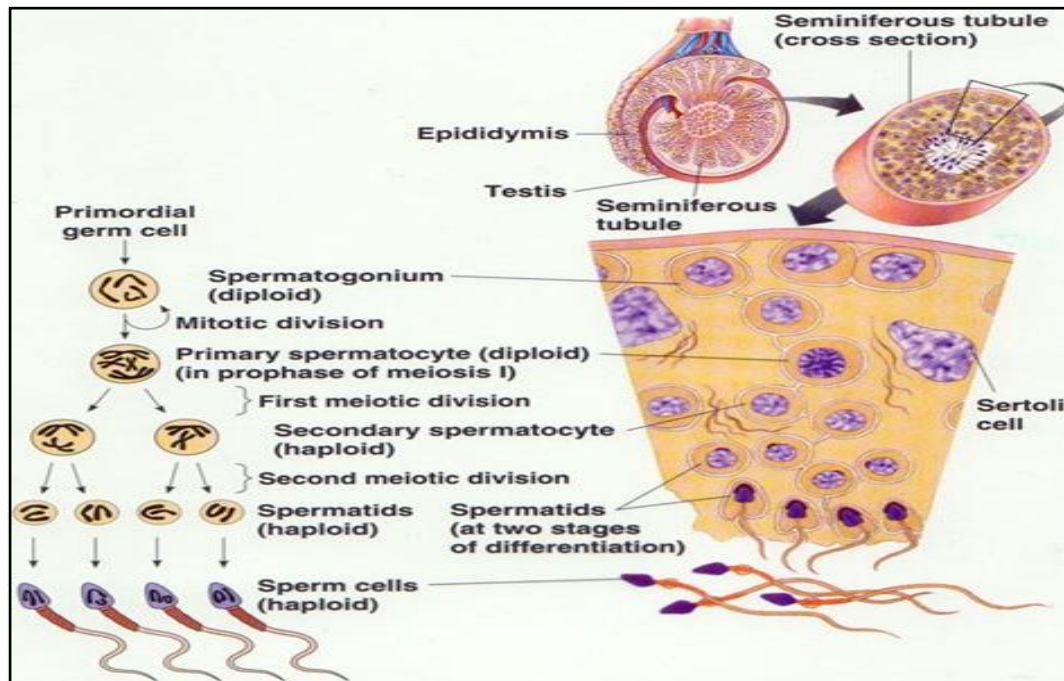
Pada bagian kepala sperma terdapat membran sel sperma yang memiliki antigen spesifik yang dapat berikatan dengan protein tertentu (antibodi-antisperma) yang kemudian dapat menghalangi terjadinya proses fertilisasi.¹¹ Hal ini yang kemudian dikembangkan untuk pembuatan vaksin imunokontrasepsi. Metode ini dinilai lebih baik daripada metode kontrasepsi lain yang memiliki efek samping tertentu.

B. SPERMATOGENESIS

Spermatogenesis adalah suatu proses kompleks dimana sel germinal yang relatif belum berdiferensiasi berproliferasi dan diubah menjadi spermatozoa yang terspesialisasi dan motil, yang masing-masingnya mengandung suatu set 23 kromosom yang haploid. Proses spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferous, yang pada dindingnya mengandung banyak sel-sel germinal dan sel-sel sertoli.¹²

Spermasitogenesis merupakan tahapan perkembangan dari spermatogonia sampai terbentuk spermatisit sekunder. Spermatogonia yang terletak di lapisan tubulus terluar terus menerus membelah secara mitosis untuk menghasilkan sel anak yang identik dengan sel induknya. Proliferasi tersebut menyediakan persediaan sel germinal baru yang cukup. Setelah pembelahan mitosis, satu dari sel anak tetap berada di bagian terluar tubul dan bertahan sebagai spermatogonium yang tidak berdiferensiasi, yang berfungsi untuk menjaga keberadaan sel-sel germinal. Sel-sel anak lainnya mulai

bergerak menuju lumen sambil menjalani berbagai proses. Pada manusia, sel-sel tersebut akan membelah secara mitosis sebanyak dua kali untuk membentuk spermatosit primer yang identik.¹²



Gambar 3. Proses pembentukan spermatozoa

Setelah proses mitotik yang terakhir, spermatosit primer akan memasuki fase istirahat. Pada fase ini, kromosom diduplikasikan dan DNA bersiap memasuki pembelahan meiosis yang pertama. Pada meiosis tahap pertama, setiap spermatosit primer membentuk dua spermatosit sekunder (masing-masing dengan 23 pasang kromosom haploid). Setelah pembelahan meiosis tahap pertama, spermatosit sekunder akan memasuki pembelahan meiosis tahap kedua hingga akhirnya terbentuk 4 buah spermatid dan 1 spermatogonia¹²

Spermiogenesis merupakan pembentukan spermatozoa dari spermatid. Setelah itu, spermatozoa akan mengalami remodeling lagi dalam proses yang disebut spermiogenesis. Proses spermiogenesis tersebut merupakan proses pembentukan spermatozoa yang matur, yakni spermatozoa yang memiliki 4 bagian, yaitu: kepala, akrosom, midpiece, dan ekor. Kepala berisi nucleus yang mengandung akrosom, vesikel yang berisi enzim yang melapisi bagian ujung kepala untuk melakukan penetrasi pada ovum. Ekor berfungsi untuk bergerak, yang ditenagai oleh mitokondria yang terletak pada bagian midpiece. Sampai proses pematangan sperma selesai, sel-sel germinal yang

muncul dari satu spermatosit primer tetap terhubung dengan jembatan sitoplasmik. Hubungan ini penting karena sperma yang tidak mendapatkan kromosom X yang mengandung gen untuk produk-produk seluler yang penting untuk perkembangan sperma (kromosom X yang berukuran besar mengandung beberapa ribu gen, sementara kromosom Y hanya memiliki beberapa lusin dengan gen SRY yang merupakan gen paling penting dan beberapa gen lainnya yang penting untuk fertilitas pada pria)¹²

Selama proses spermatogenesis, sel sertoli berperan sebagai sawar darah testis yang mencegah antibodi mencapai sel-sel germinal yang mengalami diferensiasi. Sel sertoli juga menghasilkan cairan testis, substansi yang menginisiasi meiosis, inhibin, protein pengikat androgen, serta hormon antimullerian. Sel lainnya yang berperan yaitu sel Leydig berfungsi untuk menghasilkan hormon testosteron¹²

Spermatogenesis terjadi akibat interaksi hipotalamus, hipofisis, dan sel leydig. Hipotalamus menghasilkan Gonadotropin releasing hormone (GnRH), yang menyebabkan hipofisis anterior menghasilkan Folicle stimulating hormone (FSH) dan Luteinizing hormone (LH). FSH meningkatkan aktivitas sel Sertoli sementara LH mengakibatkan sel Leydig menghasilkan testostosterone, keduanya meningkatkan laju spermatogenesis. Selain itu dapat juga terjadi penurunan laju aktivitas spermatogenesis karena adanya sekresi inhibin yang dihasilkan oleh sel Sertoli sehingga mengurangi produksi FSH hipofisis anterior. Sedangkan testostosterone, selain meningkatkan laju negatif juga mengurangi produksi LH hipofisis anterior dan mengurangi produksi GnRH hipotalamus¹²

Setelah melalui beberapa rangkaian tahap spermatogenesis sehingga menjadi spermatozoa, masih terdapat beberapa proses lagi yang terjadi selanjutnya. Spermatozoa yang berada didalam testis ini selanjutnya masih harus dimatangkan untuk bisa bergerak membuahi sel telur. Proses pematangan ini berlangsung di dalam epididimis. Proses perjalanan didalam epididimis memicu beberapa perubahan, termasuk peningkatan muatan listrik pada jaringan permukaan, perubahan komposisi protein membran, imunoreaktifitas, penambahan fosfolipid dan asam lemak, serta aktifitas adenilat siklase. Perubahan ini meningkatkan integritas struktur membran dan meningkatkan kemampuan fertilisasi. Transit sperma melalui epididimis ini memerlukan waktu selama 10 – 15 hari. Keseluruhan proses spermatogenesis pada manusia ini memerlukan waktu sekitar 60 hari¹²

C. FERTILISASI

Fertilisasi adalah proses penyatuan gamet pria dan wanita, yang terjadi di daerah ampulla *tuba fallopii*. Spermatozoa bergerak dengan cepat dari vagina ke rahim dan selanjutnya masuk ke dalam saluran telur. Pergerakan naik ini disebabkan oleh kontraksi otot-otot uterus dan tuba. Sebelum spermatozoa dapat membuahi oosit, mereka harus mengalami proses kapasitasi dan reaksi akrosom.¹²

Kapasitasi adalah suatu masa penyesuaian di dalam saluran reproduksi wanita, yang pada manusia berlangsung kira-kira 7 jam. Selama waktu ini, suatu selubung dari glikoprotein dari protein-protein plasma segmen dibuang dari selaput plasma, yang membungkus daerah akrosom spermatozoa. Hanya sperma yang menjalani kapasitasi yang dapat melewati sel korona dan mengalami reaksi akrosom.¹²

Reaksi akrosom terjadi setelah penempelan ke zona pelusida dan diinduksi oleh protein-protein zona. Reaksi ini berpuncak pada pelepasan enzim-enzim yang diperlukan untuk menembus zona pelusida, antara lain akrosin dan zat-zat serupa tripsin. Fase fertilisasi mencakup 3 fase:¹²

1. Penembusan korona radiata.

Spermatozoa-spermatozoa yang mengalami kapasitasi tidak akan sulit untuk menembusnya¹²

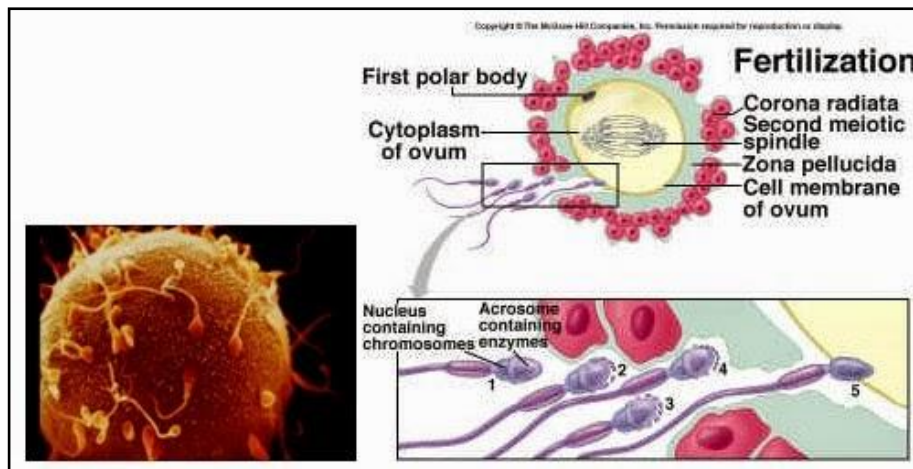
2. Penembusan zona pelusida.

Zona pelusida adalah sebuah perisai glikoprotein yang mempertahankan pengikatan sperma dan menginduksi reaksi kromosom. Hanya 1 spermatozoa diantara 200-300 juta spermatozoa yang ada di saluran kelamin yang berhasil menembus zona pelusida. Saat spermatozoa masuk ke dalam membran oosit, spermatozoa lain tidak akan bisa masuk lagi karena aktifasi dari enzim oosit sendiri.¹²

3. Fusi oosit dan membran plasma.

Spermatozoa bergerak masuk ke membran oosit dan mencapai inti oosit. Perlu diketahui bahwa spermatozoa dan oosit masing-masing memiliki 23 kromosom (haploid), selama masa penyatuan masing-masing pronukleus melakukan sintesis DNA. Segera setelah sintesis DNA, kromosom tersusun dalam gelendong untuk melakukan pembelahan secara mitosis yang normal. Dua puluh tiga kromosom dari ibu dan dua puluh tiga kromosom dari ayah membelah sepanjang sentromer, dan kromatid-kromatid yang berpasangan tersebut saling bergerak ke kutub yang berlawanan, sehingga

menyiapkan sel zigot yang masing-masing mempunyai jumlah kromosom yang normal.¹²



Gambar 4. Tahapan proses fertilisasi

Ketika proses kapasitasi selesai, spermatozoa siap untuk melakukan reaksi akrosom dan proses yang terjadi adalah: 1. spermatozoa harus mengikat zona pelusida tersebut. Zona pelusida protein 3 (ZP3) diidentifikasi sebagai ligand tempat di mana mengikat sperma. 2. Spermatozoa dapat menembus zona pelusida melalui reaksi akrosom, yang melepaskan enzim hidrolitik melalui proses eksositosis. Reaksi akrosom kemungkinan distimulasi oleh pengikatan kepala spermatozoa kepada ZP3 dan membran plasma yang berfusi dengan membran luar akrosom. Di antara enzim yang dilepaskan adalah akrosin dan hialuronidase. Enzim-enzim tersebut dapat memediasi interaksi antara spermatozoa dengan zona pelusida. 3. Berfusnya spermatozoa dengan oosit, dimana setelah terjadi reaksi akrosom dengan pelepasan enzim akrosin dan hialuronidase, maka terjadi penyatuan dua membran berbeda yang diikuti dengan berfusnya kedua materi genetik dari spermatozoa dan oosit.¹³

D. IMUNOKONTRASEPSI

Pada tahun 1988, sebuah penemuan baru untuk metode kontrasepsi dimulai. Penemuan tersebut adalah kontrasepsi yang berdasarkan imunokontrasepsi yang prinsip kerjanya mirip dengan vaksinasi yang bertujuan untuk mencegah terjadinya suatu penyakit.¹⁴ Vaksinasi terhadap sperma dengan tujuan imunokontrasepsi dilakukan dalam bentuk injeksi atau sebagai dosis oral pada pria dan wanita. Imunokontrasepsi

dapat menghalangi proses reproduksi melalui produksi antibodi yang disirkulasikan atau respon seluler yang tepat sehingga menciptakan periode infertilitas tanpa efek samping.¹⁵

Kemunculan imunokontrasepsi merupakan sebuah pendekatan terbaru dari metode kontrasepsi yang terus mengalami perkembangan untuk keberhasilan metode keluarga berencana. Imunokontrasepsi ini melibatkan pemberian vaksin yang menginduksi terbentuknya respon imun adaptif yang menyebabkan hewan menjadi infertil selama beberapa periode waktu.¹⁶ Imunokontrasepsi menjanjikan banyak keuntungan dibandingkan dengan metode kontrasepsi lainnya. Keunggulan tersebut, misalnya penggunaan imunokontrasepsi pada manusia memiliki spesifitas target yang tinggi, efek yang tahan lama namun tidak permanen, relatif terjangkau oleh masyarakat, tidak ada efek samping metabolik, mudah digunakan, tidak membutuhkan insersi dari sebuah implan atau alat lainnya, serta tidak memerlukan dilakukannya pembedahan organ atau jaringan.¹⁷

Saat ini, ada tiga kategori utama yang terlibat dalam pengembangan vaksin imunokontrasepsi yaitu: produksi gamet, output gamet, dan fungsi gamet.¹⁸

1. Produksi gamet

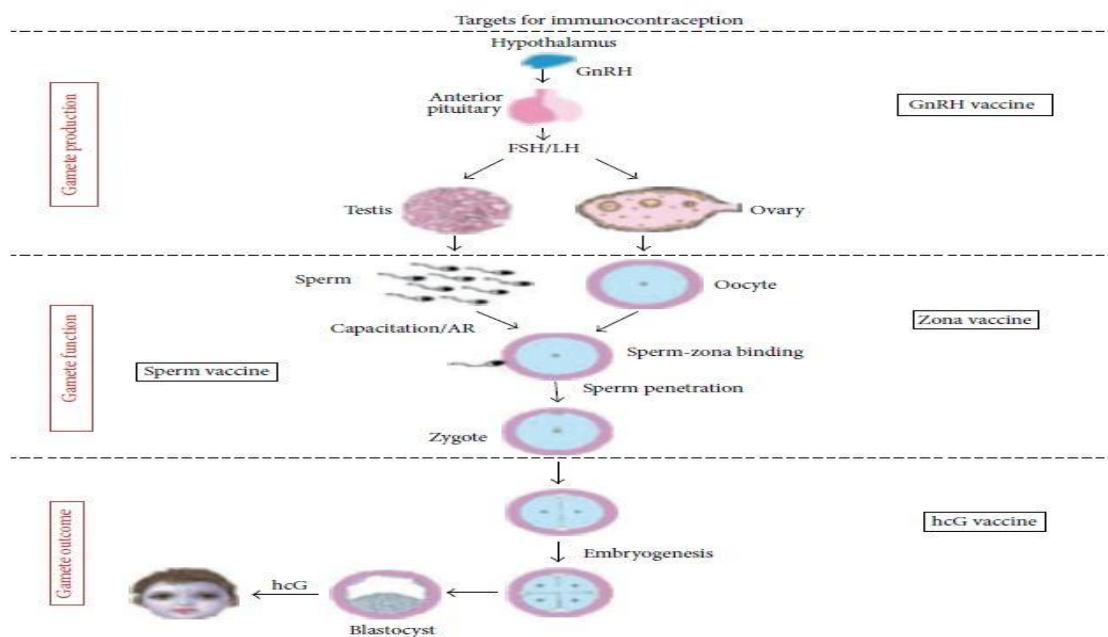
Produksi gamet meliputi sintesis sel-sel reproduksi dari gonad yaitu sperma dari testis dan ovum dari ovarium. Hormon pertama yang dihasilkan dari hipotalamus adalah GnRH. Hormon ini mengatur pelepasan dua hormon peptida dari hipofisis anterior yang dikenal dengan FSH dan LH yang secara kolektif disebut gonadotropin. Imunoneutralisasi dari tiap hormon tersebut dapat mencegah pengikatan masing-masing hormon dengan reseptornya sehingga dapat mengakibatkan kegagalan fertilisasi.¹⁸

2. Output gamet

Fusi sperma dan ovum diikuti dengan hasil gamet yaitu pembentukan telur yang terfertilisasi terjadi dibawah kontrol dari enzim spesifik kehamilan yaitu hormon Human Chorionic Gonadotropin (hCG). Segera setelah terjadi konsepsi, hCG disekresikan selama fase luteal dan mempersiapkan endometrium untuk menerima telur yang terfertilisasi. Antibodi yang digunakan untuk melawan hormon hCG dapat memberikan sebuah agen imunokontrasepsi yang akan menargetkan pada pembentukan telur yang telah dibuahi.¹⁸

3. Fungsi gamet

Istilah fungsi gamet dikaitkan dengan dua sel utama yang berpartisipasi dalam pembentukan gamet, yaitu sperma dan ovum. Pendekatan ini menargetkan zona antigen sel telur dan permukaan antigen sperma. Target yang berupa nonhormonal memberikan keamanan yang lebih baik dibandingkan dengan pendekatan lainnya. Mengeksploitasi pemanfaatan antigen zona pellusida sebagai imunokontrasepsi dapat mengganggu produksi sel telur yang normal pada wanita ketika vaksin berbasis sperma diberikan di dalam saluran reproduksi wanita untuk memblok fertilisasi dengan cara mengganggu pergerakan sperma atau fungsinya.¹⁸



Gambar 5. Macam mekanisme penghambatan imunokontrasepsi

Pengembangan vaksin kontrasepsi untuk sperma diprediksi akan menjadi sebuah pendekatan yang menjanjikan untuk keberhasilan kontrasepsi.¹⁹ Hal tersebut dapat terjadi jika antigen sperma bersifat spesifik sehingga dapat dianggap sebagai kandidat yang menjanjikan untuk keberhasilan vaksin kontrasepsi. Keberhasilan fungsi suatu antigen bergantung pada tingkat imunogenisitasnya, ekspresinya di permukaan sperma (pengecualian antigen akrosom yang muncul setelah terjadinya reaksi akrosom) dan keterlibatannya terhadap fertilitas atau fertilisasi. Kapasitas spermatozoa dalam memfertilisasi bergantung pada berbagai sifat biologis, yaitu motilitas, kemampuan untuk berkapasitasi, menjalani reaksi akrosom, menembus zona pellusida, dan akhirnya

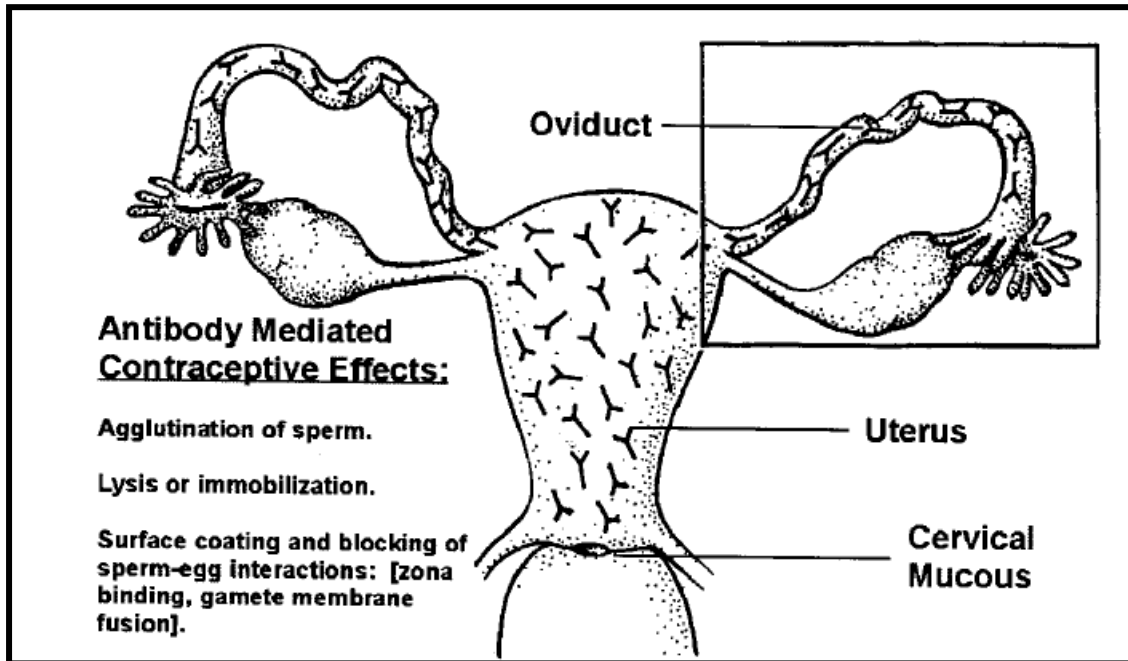
berfusi dengan sel telur. Antibodi yang dihasilkan terhadap antigen yang terlibat dalam proses fertilisasi yang telah disebutkan di atas, akan menghasilkan kandidat vaksin kontrasepsi yang potensial.²⁰

Berbagai antigen yang telah berhasil diisolasi dari spermatozoa termasuk diantaranya ialah sperm adhesion molecule 1 (SPAM 1), metalloprotease disintegrin cysteine (MDC), sperm protein (SP-10), fertilization antigen (FA-1), SP-17, NZ-1, NZ-2, lactate dehydrogenase (LDH-C4), spermagglutination antigen (SAGA-1), YLP-12 peptide, human equatorial segment protein (hESP), BS-17, rabbit sperm membrane protein-B (rSMP-B), sperm acrosomal membrane-associated protein (SAMP-32), dan 80 kDa human sperm antigen (HSA). Selain itu beberapa glikoprotein pada permukaan spermatozoa diperoleh dari sekresi epididimis selama sperma transit melalui epididimis. Beberapa glikoprotein tersebut diantaranya, dorsal headandequatorial (DE), epididymal protease inhibitor (Eppin), dan sperm flagella protein (SFP-2). Kandidat lainnya seperti izumo dan AKAP juga telah berhasil diisolasi.³

Penghambatan proses fertilisasi melalui imunokontrasepsi dapat terjadi di beberapa titik. Pertama, yaitu penghambatan pada produksi gamet, contohnya adalah produksi sperma di testis atau produksi ovum di ovarium melalui mekanisme pengaturan hormon hipotalamus-hipofisis. Kemudian yang kedua yaitu fungsi dari gametnya yang dihambat, misalnya sperma yang kehilangan fungsinya menjadi sperma yang tidak matang ataupun tidak dapat berinteraksinya antara sel sperma dan ovum dalam saluran reproduksi wanita karena sperma yang bersifat nonmotil. Ketiga, dengan cara menghambat output/keluaran dari gamet tersebut melalui mekanisme antibodi hCG sehingga tidak terjadi proses fertilisasi.³ Pada kali ini akan lebih terfokus pada pembahasan penghambatan proses fertilisasi pada fungsi gamet (sperma) yang mengakibatkan terganggunya interaksi antara sel sperma dengan sel ovum. Hambatan interaksi antara sel sperma dengan sel ovum tersebut dapat dilakukan dengan cara menekan aktivitas protein yang berperan penting dalam proses fertilisasi yaitu SPAM1.

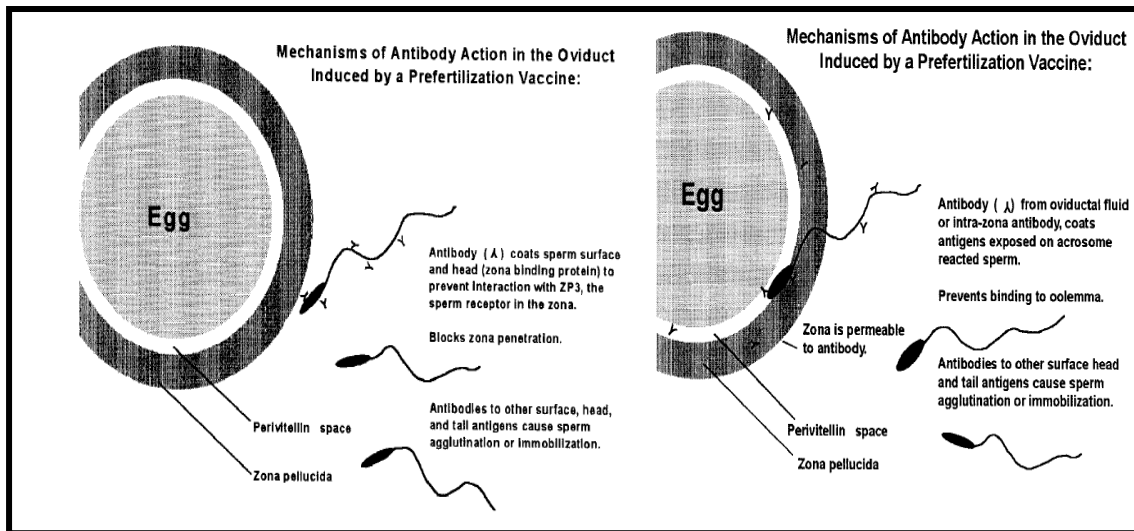
Imunokontrasepsi yang ideal harus mengandung imunogen spesifik terhadap sperma yang dapat menginduksi antibodi terhadap semua domain pada permukaan sperma baik itu di bagian kepala, *midpiece*, dan ekor sperma. Ada beberapa kemungkinan mekanisme yang terjadi pada terbentuknya ikatan antibodi-antigen pada sperma sehingga dapat menghalangi terjadinya proses fertilisasi. Diantaranya yaitu,

antibodi (antisperma) yang terdapat pada cervical mucus dapat mengaglutinasi sperma sehingga sperma menjadi imotil atau sperma mengalami lisis di dalam vagina sebelum sperma tersebut dapat melewati serviks. Sperma yang permukannya telah dilapisi oleh antibodi, dapat juga dihambat agar tidak dapat berenang dan menembus lendir serviks.²¹



Gambar 6. Level antibodi dalam saluran reproduksi wanita

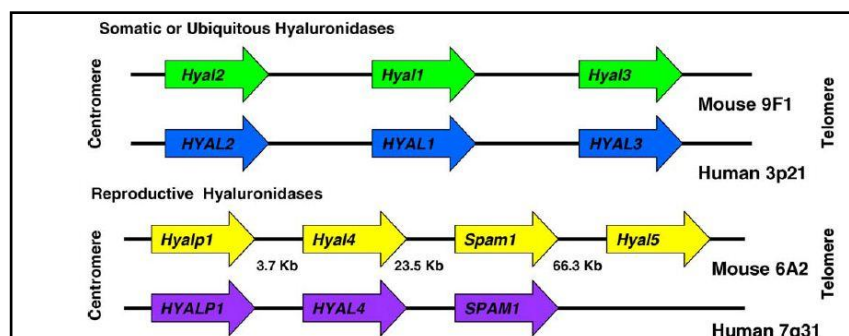
Kemungkinan lainnya adalah sperma mungkin terjebak atau dilisiskan oleh antibodi yang ada dalam sekresi uterus sehingga sperma dapat dicegah untuk mencapai saluran telur atau antibodi yang melapisi sperma dapat mengganggu proses penting pada kapasitas. Antibodi yang terdapat dalam cairan *oviduct* juga dapat mengikat antigen sperma dan mencegah terjadinya proses fertilisasi yang terjadi di saluran telur. Kemungkinan terakhir, antibodi yang mengikat antigen pada permukaan sperma, jika terdapat dalam cairan *oviduct* atau tertanam dalam zona pelusida (yang permeabel terhadap imunoglobulin) dapat melapisi reseptor sperma pada tahap penting interaksi sperma dengan sel telur, diantaranya yaitu pada saat penetrasi massa kumulus, pengikatan zona telur, kapasitas, induksi reaksi akrosom, penetrasi zona pellucida, pengikatan oolemma, atau pada saat fusi antara spermatozoa dengan sel telur.²¹



Gambar 7. Mekanisme antibodi memblok sperma menuju zona pelusida dan oosit

E. PROTEIN SPAM1

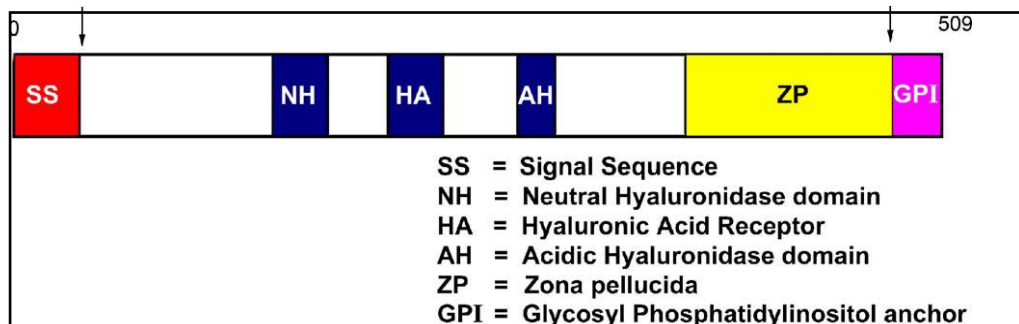
Salah satu kandidat vaksin kontrasepsi yaitu Sperm Adhesion Molecule 1 (SPAM 1) merupakan salah satu contoh kandidat yang cukup potensial untuk keberhasilan metode kontrasepsi. SPAM1 atau yang biasa dikenal sebagai PH - 20 merupakan anggota dari keluarga enzim hyaluronidase, yang setidaknya terdapat 6 jenis enzim ini pada mamalia. Gen yang mengkode enzim ini terbagi dalam dua kelompok besar yaitu SPAM1, HYAL4, dan HYALP1 (sebuah pseudogen) terletak pada kromosom manusia 7q31, sedangkan tiga jenis enzim lainnya yaitu HYAL1, HYAL2, dan HYAL3 terletak pada kromosom manusia 3p21. SPAM1 merupakan sebuah enzim hyaluronidase yang diekspresikan sangat tinggi pada sel sperma karena peranannya yang sangat penting dalam proses fertilisasi. SPAM1 merupakan protein penting bagi penetrasi sel sperma ke dalam lapisan sel kumulus yang mengelilingi sel telur, dan juga terlibat dalam pengikatan zona pelusida serta proses sinyaling intraseluler sperma. Ekspresi gen dari SPAM1 ini terjadi di testis pada berbagai spesies. Ekspresi SPAM1 juga telah terdeteksi pada epididimis, vas deferens, kelenjar prostat dan plasenta manusia serta pada epididimis, ginjal, rahim, vagina dan saluran telur tikus.²²



Gambar 8. Cluster gen SPAM1 pada tikus dan manusia

SPAM1 merupakan sebuah antigen pada sperma yang ditemukan pada kedua membran sperma baik itu di membran plasma sperma maupun membran dalam akrosom. Struktur dari SPAM1 terdiri dari sebuah rantai glikoprotein tunggal yang berikatan dengan glycosyl phosphatidylinositol. Berat molekul dari protein SPAM1 ini bervariasi antara 64-68 kD pada berbagai spesies seperti manusia, babi guinea, makaka, dan tikus, sedangkan pada banteng berat molekulnya dapat mencapai 84 kD. Variasi dari berat molekul ini berkaitan dengan aktivitas pembelahan endoproteolitik pada molekul serta tingkat glikosilasi yang berbeda.²²

SPAM1 memiliki berbagai fungsi dalam proses fertilisasi, setidaknya ada 3 fungsi yang telah diketahui. Pertama, SPAM1 memiliki domain katalitik yang dapat mendegradasi asam hyaluronic yang merupakan komponen utama dari matriks ekstraselular di lapisan sel kumulus yang mengelilingi ovum. Domain katalitik pada SPAM 1 ini dapat mendegradasi lapisan kumulus tersebut sehingga memudahkan sperma untuk penetrasi ke dalam sel ovum. Kedua, SPAM1 memiliki daerah pengikatan antara sperma dengan zona pelusida yang berbeda dari katalitik domain dan fungsinya yang ketiga yaitu terlibat dalam proses jalur sinyal intraseluler sel sperma untuk dapat menempel dan berikatan pada zona pelusida.²²



Gambar 9. Struktur dari gen SPAM1

Fungsi SPAM1 yang sangat vital tersebut menjadikannya sebagai protein yang dipertahankan tetap ada, sehingga banyak terdapat pada beberapa spesies berbeda. Ekspresi dari SPAM 1 di epididimis diketahui terdapat pada lima spesies mamalia yaitu mencit, tikus, banteng, kera, dan manusia. Konservasi evolusi dari pola ekspresi yang terjadi pada testis dan epididimis menunjukkan bahwa betapa pentingnya SPAM 1 tersebut. Tingkat ekspresi SPAM 1 berdasarkan pembagian lokasi ekspresinya sangat bervariasi dari beberapa spesies. Ekspresi yang tertinggi terlihat di corpus untuk semua

spesies, kecuali pada tikus dimana ekspresi tertinggi justru di bagian caput, sedangkan ekspresi terendah terlihat di bagian cauda.²²

Tabel 1. Ekspresi SPAM 1 di bagian epididimis²²

	Location and relative amounts of expression				Reference
	Caput	Corpus	Cauda	LF	
Mouse	++	+++	++	X	Deng et al. (2000), Zhang and Martin-DeLeon (2001)
Rat	+++	++	+	N/S	Zhang et al. (2004)
Macaque	+	+++	++	N/S	Evans et al. (2003)
Human	+	+++	++	N/S	Evans et al. (2003)
Bull	+	+++	+	X	Morin et al. (2005)

N/S: not studied, LF: luminal fluid, X: present.

Pengamatan dari dua pola yang konsisten tersebut membuktikan bahwa fungsi epididimis diregulasi oleh segmen-segmen yang bervariasi diantara beberapa spesies. Pola ekspresi itu juga menunjukkan bahwa SPAM 1 di epididimis cenderung memainkan peran yang lebih menonjol dalam pematangan sperma yang terjadi di caput dan corpus, daripada tersimpan di dalam cauda ketika viabilitas sperma yang lebih diutamakan.²²

Penelitian yang dilakukan dengan cara memvaksinasi babi guinea dengan antibodi SPAM1 mendapatkan hasil 100% infertil. Hal tersebut dikarenakan terganggunya fungsi dari pergerakan sperma yang dihambat oleh anti-SPAM1 sehingga sperma tidak dapat menembus sel ovum dan terhambatnya proses fertilisasi. Penghambatan proses fertilisasi akibat vaksin imunokontrasepsi ini sehingga menjadi infertil, dapat kembali menjadi fertil seperti sebelumnya dengan jeda waktu antara 6-15 bulan, yang artinya bersifat reversibel.²²

F. PENGGUNAAN IMUNOKONTRASEPSI

Berbagai antigen sperma yang ada telah berhasil diidentifikasi dan dikarakterisasi fungsinya. Imunisasi aktif menggunakan antigen tersebut menghasilkan produksi antibodi spesifik dengan titer yang sangat tinggi, meskipun tidak seluruhnya antigen tersebut dapat menghasilkan kondisi infertilitas 100%. Penyebab dari kondisi tersebut dapat berupa perbedaan variabilitas respon imun pada level individu, pemeliharaan titer antibodi yang tinggi, waktu lag untuk mencapai titer yang cukup baik yaitu sekitar tiga bulan, dan ketidakpastian berapa lama yang dibutuhkan level antibodi

yang tetap bersirkulasi. Semua masalah tersebut dapat diatasi dengan menggunakan imunisasi pasif. Imunisasi pasif diketahui telah banyak berhasil dilakukan pada berbagai kasus penyakit menular. Imunisasi pasif tidak akan mengganggu sistem endokrin individu dan tetap terbebas dari status kekebalan inang, sehingga memberikan keuntungan tambahan atas penggunaan imunisasi aktif.²³

Mekanisme untuk pembuatan vaksin imunokontrasepsi ini ialah dengan cara memperbanyak klon dari cDNA SPAM1 melalui rekombinan vector yang kemudian ikut bereplikasi pada sel bakteri sehingga dihasilkan protein dalam jumlah banyak. Kemudian melalui proses purifikasi didapatkan hasil protein murni SPAM1. Protein hasil purifikasi tersebut kemudian dapat diinjeksikan ke tubuh sehingga kemudian akan menghasilkan antibodi (anti-SPAM1). Antibodi ini kemudian akan berikatan dengan antigen SPAM1 sperma sehingga sperma tidak dapat melakukan penetrasi ke sel ovum yang menyebabkan terhambatnya proses fertilisasi. Metode imunokontrasepsi menggunakan prinsip antigen-antibodi ini dinilai cukup efektif dan juga memiliki banyak keunggulan dibandingkan dengan metode kontrasepsi lainnya, karena bersifat aman, nyaman digunakan, dan bersifat reversibel. Dengan demikian diharapkan penggunaan metode imunokontrasepsi ini dapat digunakan secara luas, berkelanjutan, dan menjadi pilihan utama²³

Pada penelitian yang dilakukan oleh Primakoff et., al 1988 menyatakan bahwa protein permukaan sperma (PH-20) pada marmut memiliki peran penting dalam proses fertilisasi, dimana pada saat pengikatan sperma terhadap lapisan ekstraselular telur (zona pelusida), sebuah langkah awal yang diperlukan dalam fertilisasi. Data yang diperoleh dari penelitian tersebut yaitu imunokontrasepsi menggunakan PH-20 terbukti 100% efektif baik itu pada marmut betina maupun jantan. Efek imunokontrasepsi PH-20 juga bersifat tahan lama dan reversibel, dimana ketika marmut betina diimunisasi kemudian dikawinkan pada interval 6-15 bulan maka akan kembali subur seperti semula. Hasil tersebut menjadi landasan untuk pengembangan vaksin imunokontrasepsi menggunakan protein sperma yang berperan dalam proses fertilisasi yaitu PH-20.²⁴

Percobaan pertama yang dilakukan oleh Primakoff et., al 1988 untuk menentukan apakah imunisasi dengan PH-20 yang telah dimurnikan akan mempengaruhi kesuburan, 4 ekor marmut betina percobaan diimunisasi PH-20 dengan dosis yang berbeda (10, 20, 30, dan 50 µg). Imunisasi tersebut dilakukan sebanyak 2 kali, dimana imunisasi yang

kedua diberikan setelah satu bulan dari imunisasi yang pertama. Kontrol percobaan juga mendapatkan imunisasi di waktu yang sama dengan percobaan lainnya namun tanpa pemberian ekstrak PH-20. Kemudian dua bulan setelah imunisasi, marmut betina kontrol dan perlakuan ditaruh di kandang untuk kemudian dikawinkan dengan marmut jantan. Hasilnya, 4 ekor marmut betina yang diinjeksi dengan PH-20 tidak ada yang fertil sedangkan 12 dari 13 ekor marmut betina kontrol menjadi fertil dengan rata-rata angka kelahiran sebesar 3,5.²⁴

Kemudian percobaan kedua dilakukan dimana 21 ekor marmut betina yang diimunisasi dengan PH-20 dengan dosis 5, 10, dan 20 μg diperoleh hasil yang sama seperti sebelumnya yaitu tidak terdapat marmut betina fertil. Namun, pada kontrol diperoleh hasil 22 dari 23 kontrol menjadi fertil. Total 34 dari 36 kontrol menjadi fertil dengan 36 kontrol menghasilkan rata-rata angka kelahiran sebesar 3,3. Hasil tersebut kembali menunjukkan bahwa marmut betina yang diinjeksi PH-20 terbukti efektif 100% menyebabkan terjadinya infertil.²⁴

Percobaan lainnya dilakukan untuk menilai efektivitas imunokontrasepsi PH-20 pada hewan marmut jantan. Sebanyak enam ekor marmut jantan diimunisasi dengan 2,5-5,0 μg PH-20, dan tujuh marmut jantan kontrol diinjeksikan non PH-20. Kemudian dua bulan setelah injeksi awal, tiap-tiap marmut jantan dikandangkan dengan dua marmut betina untuk dikawinkan. Tidak satupun dari 12 marmut betina yang dikawinkan dengan jantan yang diimunisasi PH-20 membawa janin, namun sebanyak 14 dari 14 ekor marmut betina yang dikawinkan dengan jantan kontrol terdapat janin (fertil). Sebanyak 4 dari 6 marmut jantan yang diimunisasi PH-20 dapat kembali menjadi fertil setelah tujuh bulan injeksi awal. Dengan demikian terbukti bahwa imunokontrasepsi menggunakan PH-20 bersifat reversibel dan aman digunakan.²⁴

Tabel 2. Efektifitas imunokontrasepsi pada marmut belanda²⁴

Table 1 Contraceptive effect of PH-20 immunization					
	Amount of PH-20 injected (µg)	No. of animals	No. with litters (% with litters)	No. of progeny	Average no. progeny in control
Group 1 females	50	1	0	0	3.5
	30	1	0	0	
	20	1	0	0	
	10	1	0	0	
	0 (control)	13	12 (92%)	46	
Group 2 females	20	14	0	0	3.2
	10	4	0	0	
	5	3	0	0	
	0 (control)	23	22 (96%)	74	
Total PH-20 immunized females		25	0 (0%)	0	3.3
Total control females		36	34 (94%)	120	
Females with fetuses					
Mated females					
Group 3 males	50	1	0/2	0	4.4
	30	1	0/2	0	
	20	1	0/2	0	
	10	1	0/2	0	
	5	1	0/2	0	
	2.5	1	0/2	0	
	0 (control)	7	14/14	62	
Total PH-20 immunized males		6	0/12 (0%)		4.4
Total control males		7	14/14 (100%)		

Percobaan lainnya yang dilakukan oleh Pomeroy et al. (2000), yaitu mengimunisasi kelinci jantan dan betina dengan rekombinan PH-20 yang diproduksi di *Escherichia coli* dan diukur kadar IgG di dalam plasma dan di cairan saluran reproduksi kelinci jantan dan betina untuk kemudian dicek kadar PH-20 tersebut dapat mencegah terjadinya fertilisasi. Sejumlah 100 µg dari rPH-20 dalam 1 ml dilarutkan dalam larutan adjuvant Freund's komplet. Tiap hewan coba diimunisasi secara subkutan sebanyak 0,2 ml dari r-PH 20 dalam adjuvant yang didistribusikan melalui lima titik injeksi. Sebanyak 2 booster juga diberikan dengan cara yang sama namun rPH-20 dilarutkan dalam larutan adjuvant tidak komplet. Hewan coba diimunisasi sebanyak 3 kali dalam periode selama 8 minggu dan hasilnya dikoleksi.²⁵

Tabel 3. Efektifitas imunokontrasepsi pada hewan kelinci²⁵

	Serum	Number of eggs	Number fertilized (Percent fertilized)	Mean (\pm sem) number of sperm bound per egg
Rabbit 1	Pre-immune	37	35 (95%)	17.8 \pm 8.2
	Immune	38	19 (50%)	3.6 \pm 2.1
Rabbit 2	Pre-immune	41	39 (95%)	21.1 \pm 9.1
	Immune	39	17 (44%)	5.7 \pm 3.3

Kemudian untuk membuktikan keefektifan hasilnya dengan cara menginkubasi sperma kelinci yang telah terkapasitasi selama 30 menit dalam serum yang diencerkan 1/20 kali dari kelinci yang diimunisasi rPH-20, sebelum kemudian diinkubasi dengan oosit kelinci. Hasilnya menunjukkan terjadinya pengurangan sekitar 50-55% jumlah telur yang terbuahi. Hal tersebut menunjukkan bahwa antiserum dari kelinci yang diimunisasi dengan rPH-20 dapat menghambat fertilisasi secara in vitro.²⁵

BAB III

PENUTUP

Kesimpulan

Metode kontrasepsi pada pria sebenarnya tidak hanya terbatas pada vasektomi, kondom, dan senggama terputus. Ada metode kontrasepsi pria yang lebih aman, lebih nyaman digunakan dan bersifat reversibel yaitu metode vaksin imunokontrasepsi. Vaksin imunokontrasepsi merupakan metode kontrasepsi dengan cara menggunakan prinsip ikatan antibodi-antigen untuk menghalangi proses fertilisasi. Diketahui terdapat beberapa protein yang berperan penting terhadap jalannya fertilisasi yang dapat dijadikan kandidat untuk pembuatan vaksin imunokontrasepsi untuk pria, diantaranya yaitu protein SPAM1. Protein SPAM 1 merupakan protein yang berperan penting dalam proses fertilisasi yang berfungsi dalam penetrasi sel kumulus, pengikatan dengan zona pelusida, serta mengaktifkan sinyal eksositosis dalam proses reaksi akrosom. Dengan demikian, sangat potensial bila SPAM 1 ini dijadikan sebagai kandidat vaksin kontrasepsi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dirnhofer S, Berger P. Vaccination for birth control. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 108:350-4.
2. Vafadari B, Khoshbakht Y, Khosbakht A. Immunocontraception stimulation advantages versus other fertility control methods. *Indian J Med Sci* 2013; 67:155-60.
3. Kaur K, Prabha V. Immunocontraceptives new approaches to fertility control. *Biomed J. Research International*. 2014.
4. Mathew K, Bantwal G. Male contraception. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012; 16:910-917.
5. Schwartz J.L, Gabelnick H. I. Current contraceptive research, perspective on sexual and reproductive health. 2002; 34:310-316
6. Glasier A. Acceptability of contraception for men. *Journal of Contraception* 2010; 82:453-456.
7. Garside D. A, Gebril A, Alsaadi M, Nimmo N, Mullen A. B, Ferro V.F. An update on the potential for male contraception, emerging options. *Journal of Contraception*. 2011; 4:1-11.
8. Frayne J, Hall, L. The potential use of sperm antigens as targets for immunocontraception past, present, and future. *Journal of Reproductive Immunology*. 1999; 43:1-33.
9. Speroff L. Role of progesterone in normal breast physiology. *J Reprod Med* 1999; 44:172-9.
10. Cheema R. S, Vashishat N, Bansal K. L, Bakhri G, Gandotra V. K. Immunocontraceptive potential of sperm specific LDHC₄ and SPAM1 (PH-20) in dog. *Journal of Animal Sciences* 2012; 4:265-280.
11. O'Day, D. Formation of The Male Sex Cells: Male Anatomy and Spermatogenesis. Lecture Outline, University of Toronto. 2010.
12. Sadler TW. *Ebriologi Kedokteran Langman*. 7th ed. Jakarta: EGC. 2000.
13. Zeginiadou T, Papadimas J, Mantalenakis S. Acrosome reaction: methods for detection and clinical significance. 2000; 343:335-343.
14. Berger P, Bildart JM, Delves PS, Dirnhofer S, Hoermann R, Isaacs N. Immunochemical mapping of gonadotropins. *Mol Cell Endocrinol* 1996; 125:33-34.

15. Cooper DW, Larsen E. Immunocontraception of mammalian wildlife, ecological and immunogenetic issues. *Journal of Reproduction* 2002; 132:821-8.
16. Kirkpatrick JF, Lyda RO, Frank KM. Contraceptive vaccines for wildlife. *The American Journal of Reproductive Immunology*. 2011; 66:40-50.
17. Naz, RK. Antisperm immunity for contraception. *Journal of Andrology* 2006; 27:153-159.
18. Naz RK, Gupta SK, Gupta JC, Vyas HK, Talwar GP. Recent advances in contraceptive vaccine development. *Journal of Human Reproduction* 2005; 20:3271-3283.
19. Ohl DA, Naz RK. Infertility due to antisperm antibodies. *Journal of Urology* 1995; 46:591-602.
20. Ozaki T, Takahashi K, Kanasaki H, Miyazaki K. Evaluation of acrosome reaction and viability of human sperm with two fluorescent dyes. *Journal of Gynecology and Obstetrics* 2002; 266:114-117.
21. Harrison PF, Rosenfield A. *Contraceptive Research and Development: Looking for the Future*. National Academies Press, USA.
22. Patricia A, Martin D. Epididymal SPAM1 and its impact on sperm function. *Journal of Molecular and Cellular Endocrinology* 2006; 250:114-121.
23. O'Rand MG, Lea IA. Designing an effective immunocontraceptive. *Journal of Reproductive Immunology* 1997; 36:51-59.
24. Primakoff P, Lathrop W, Woolman L, Cowan A, Myles D. Fully effective contraception in male and female guinea pigs immunized with the sperm protein PH-20. *Nature* 1988; 355:543-546.
25. Pomering M, Jones RC, Holland MK, Blake AE, Beagley KW. Restricted Entry of IgG into Male and Female Rabbit Reproductive Ducts Following Immunization with Recombinant Rabbit PH-20. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2002; 47:174-182.