

# Efek preparasi spermatozoa terhadap aktivitas spesifik $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase dan $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase serta distribusi protein $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase 4 dan plasma membrane $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 4 = The effect of sperm preparation on $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ atpase and $\text{Ca}^{2+}$ atpase specific activities and distribution of $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ atpase 4 and plasma membrane $\text{Ca}^{2+}$ atpase 4 isoforms

Manggiasih Dwiayu Larasati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20455993&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

**LATAR BELAKANG:** Salah satu tata laksana infertilitas adalah inseminasi intra uterin IIU yang menggunakan spermatozoa hasil pencucian. Ada dua metode pencucian spermatozoa yang umum digunakan yaitu swim-up SU dan density-gradient centrifugation DGC. Tingkat keunggulan metode pencucian spermatozoa terletak pada persentase spermatozoa motil yang dihasilkan. Gangguan motilitas spermatozoa dapat disebabkan oleh ketidakseimbangan transport ion pada spermatozoa. Keseimbangan transport ion untuk memelihara homeostasis spermatozoa dimediasi oleh enzim ATPase, diantaranya adalah  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase dan  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase. Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa isoform  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase  $\gamma$ 4 dan PMCA4 berperan penting pada motilitas spermatozoa. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kembali efisiensi metode SU dan DGC dalam menghasilkan spermatozoa motil berdasarkan aktivitas spesifik  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase dan  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase beserta isoformnya.

**METODE:** Pada sampel dilakukan analisis semen, isolasi sel spermatozoa, isolasi protein dan preparasi fraksi membran. Analisis semen dilakukan berdasarkan rujukan dari WHO 2010, sebelum dan setelah pencucian spermatozoa dengan metode DGC dan SU. Aktivitas enzim diukur berdasarkan kemampuan ATPase melepaskan fosfat organik dari ATP. Deteksi protein  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase  $\gamma$ 4 dan PMCA4 dilakukan dengan metode western blot, sedangkan distribusi proteinnya digunakan metode imunositokimia.

**HASIL:** Terjadi peningkatan rerata konsentrasi, motilitas, morfologi dan kecepatan spermatozoa antara kelompok sebelum dan setelah DGC serta antara sebelum dan setelah SU. Demikian halnya dengan hasil aktivitas spesifik  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase dan  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase juga mengalami peningkatan bila dibandingkan antara kelompok sebelum dan setelah pencucian. Terdapat perbedaan bermakna terhadap aktivitas spesifik  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase pada kelompok sebelum dan setelah DGC serta antara sebelum dan setelah SU. Selain itu, aktivitas spesifik  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase berbeda tidak bermakna antara sebelum dan setelah DGC dan antara sebelum dan setelah SU. Distribusi protein  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase  $\gamma$ 4 dan PMCA4 tidak mengalami perubahan setelah dilakukan pencucian dengan DGC maupun SU.

**KESIMPULAN:** Aktivitas  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase dan  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase yang diperlukan untuk mendukung homeostasis sel spermatozoa meningkat setelah dilakukan pencucian dengan metode DGC dan SU sehingga spermatozoa mempunyai kemampuan motilitas yang lebih baik.

---

**BACKGROUND:** One of the management of infertility is Intra Uterine Insemination IIU by using sperm preparation. There are two methods of sperm preparation that commonly used swim up and density gradient centrifugation. The superiority of sperm preparation method based on the percentage of motile spermatozoa produced. The disorder of sperm motility may caused by the imbalance of ions transport on sperm. The balance of ionic transport to maintain spermatozoa homeostasis is mediated by ATPase, such as

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and Ca<sup>2+</sup> ATPase enzym. Study has shown that 4 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and PMCA4 isoform plays an important role in the sperm motility. Therefore, this study was aimed to evaluate the efficiency of SU and DGC methods in selecting spermatozoa based on the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and Ca<sup>2+</sup> ATPase activity and the isoforms as well.

**METHODS:** The semen analysis, spermatozoa isolation, protein isolation and membrane fraction preparation were performed. The study analysis was conducted based on WHO 2010, before and after SU and DGC sperm preparation. Enzyme activity was measured by ATPase 39 s ability to release organic phosphate from ATP. The expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase 4 and PMCA4 was done by western blot method, while the protein distribution was used immunocytochemistry method.

**RESULT:** There was an increase of concentration, motility, morphology and velocity of spermatozoa between normozoospermia group before and after DGC and between before and after SU. Similarly, the specific activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and Ca<sup>2+</sup> ATPase also increased when compared to before and after washing. There were significant differences in the specific activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in the normozoospermia group before and after DGC and between before and after SU. In contrast, the specific activity of Ca<sup>2+</sup> ATPase not significantly different between before and after DGC and between before and after SU methods. Distribution of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase 4 and PMCA4 did not change after washing with DGC or SU methods.

**CONCLUSIONS:** Specific activities of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and Ca<sup>2+</sup> ATPase are needed to support ion homeostasis, so that spermatozoa have better motility abilities after being prepared with DGC and SU methods.