



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS MIKRODELESI REGION AZFc KROMOSOM Y
MENGUNAKAN UJI STS sY 14, sY 254, sY 255, sY 157, sY 159 dan y-DAZ 3
PADA 70 PRIA OLIGOZOOSPERMIA BERAT DI JAKARTA**

TESIS

MAGISTER

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

OLEH

TITTA NOVIANTI

NPM : 6104010236

**KEKHUSUSAN BIOLOGI KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK-PROGRAM PASCA SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA**

JAKARTA

2006

**ANALISIS MIKRODELESI REGION AZFc KROMOSOM Y
MENGUNAKAN UJI STS sY 14, sY 254, sY 255, sY 157, sY 159 dan y-DAZ 3
PADA 70 PRIA OLIGOZOOSPERMIA BERAT DI JAKARTA**

Oleh : Titta Novianti

Tesis disetujui

Prof. Dr. Nukman H. Moeloek, dr., Sp.And.


Pembimbing I

Dr. Dwi Anita Suryandari, Dra. M.Biomed.


Pembimbing II

Dr. rer. Physiol. Septelia Inawati W., dr.


Ketua Program Studi Ilmu Biomedik

Prof. Dr. Siti Aisah, dr., Sp. KK(K).


Wakil Dekan I FKUI

H. Menaldi Rasmin, dr., Sp.P(K), FCCP.


Dekan FKUI

Nama : Titta Novianti Tanggal : 22 Desember 2006
Perguruan Tinggi : Program Pascasarjana Tempat : Jakarta
Universitas Indonesia
Judul : ANALISIS MIKRODELESI REGION AZFc KROMOSOM
Y MENGGUNAKAN UJI STS sY 14, sY 254, sY 255,
sY 157, sY 159, dan y-DAZ 3 PADA 70 PRIA
OLIGOZOOSPERMIA BERAT DI JAKARTA
Kekhususan : Biologi Kedokteran (Biomedik)

Abstrak

Ruang lingkup dan cara penelitian : Kasus infertilitas pada pasangan infertil, 50 % penyebabnya adalah pria. Penyebab infertilitas pada pria, sekitar 30-40 % belum diketahui penyebabnya. Faktor genetik berupa mikordelesi kromosom Y, merupakan salah satu penyebab infertilitas pada pria. Hilangnya beberapa gen pada *Azoospermia Factor* (AZF) kromosom Y, diduga berkaitan erat dengan gangguan pada proses spermatogenesis. Hampir 80 % kasus mikordelesi pada pria infertil terjadi pada region AZFc, terutama pada gen DAZ. Frekuensi pria oligozoospermia berat yang mengalami mikordelesi pada region ini berkisar 7-10 %. Penelitian mikordelesi kromosom Y ini penting untuk menganalisis kandidat gen yang bertanggung jawab pada proses spermatogenesis, serta membantu analisis klinis secara genetik, terutama bagi peserta program teknik reproduksi berbantuan. Pada penelitian ini dilakukan PCR hasil isolasi DNA, menggunakan 6 uji STS (*sequence tagged site*) pada 70 pria oligozoospermia berat di Indonesia, 10 pria normal (sebagai kontrol positif) dan 8 orang wanita (sebagai kontrol negatif). Elektroforesis hasil PCR pada gel agarose 2 % dalam larutan dapar TAE 1X digunakan untuk melihat ada tidaknya pita spesifik Uji STS (STS sY 14, sY 254, sY 255, sY 157, sY 159, dan y-DAZ 3). Delesi pada uji STS ditunjukkan dengan tidak adanya pita spesifik DNA. Kontrol positif ke 6 uji STS disekuensing untuk melihat ketepatan lokus urutan basa DNA yang diamplifikasi.

Hasil dan kesimpulan : Dalam penelitian ini ditemukan 6 pria oligozoospermia berat mengalami delesi dari 70 sampel yang diperiksa (8,57 %). Tiga orang delesi pada STS sY 159, dan 2 orang delesi pada STS y-DAZ 3 serta 1 orang delesi pada STS sY 254, sY 255 dan y-DAZ 3. Pada pria normospermia tidak ditemukan adanya delesi pada ke 6 uji STS. Diduga bahwa uji STS pada region AZFc yang mengalami delesi tersebut merupakan kandidat gen yang bertanggung jawab pada proses spermatogenesis.

Kata kunci : mikordelesi kromosom Y, oligozoospermia berat, AZFc, gen DAZ, STS sY 159

Pembimbing : Prof. Dr. Nukman H. Moeloek, dr., Sp. And.
Dr. Dwi Anita Suryandari, Dra. M.Biomed.

DAFTAR ISI

HALAMAN

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. STRUKTUR KROMOSOM Y	8
B. PROSES SPERMATOGENESIS	13
C. AZOOSPERMIA FACTOR (AZF)	17
1. Region AZFc dan gen-gen kandidatnya	18
2. Gen DAZ dan peranannya pada proses spermatogenesis	20
D. DELESI KROMOSOM Y	22
1. Mekanisme delesi pada kromosom Y	22
2. Mikrodelesi gen DAZ pada region AZFc	24
3. Metode deteksi mikrodelesi pada gen DAZ	25

4. Hubungan fenotip-genotip pada mikordelesi region AZFc	27
5. Efek mikordelesi kromosom Y pada reproduksi berbantuan	29
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	31
A. STRATEGI PENELITIAN	31
B. ALAT DAN BAHAN	33
1. Pengambilan sampel darah pasien	33
2. Isolasi DNA dari darah tepi	35
3. Polymerase Chain Reaction (PCR)	36
4. Elektroforesis gel agarose	38
5. Sekuensing DNA	38
C. CARA KERJA	39
1. Isolasi DNA dari darah tepi	39
2. Perhitungan konsentrasi DNA	40
3. Amplifikasi fragmen kromosom Y	41
4. Deteksi Hasil PCR	42
5. Sekuensing	43
6. Analisis Mikordelesi Yq.11	43
BAB IV. HASIL PENELITIAN	44
A. ISOLASI DNA DARAH TEPI	44

	B. AMPLIFIKASI FRAGMENT KROMOSOM Y	
	DENGAN METODE PCR	45
	C. HASIL SEKUENSING DNA	48
BAB V.	PEMBAHASAN	49
BAB VI.	SARAN DAN KESIMPULAN	58
	DAFTAR PUSTAKA	68

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Infertilitas merupakan masalah kesehatan yang utama bagi pasangan yang belum dikaruniai keturunan, dan penyebabnya hampir 50 % adalah pria (Dada *et al.*, 2003). Infertilitas memiliki pengertian ketidakmampuan memperoleh keturunan dengan melakukan hubungan seksual secara normal tanpa upaya untuk mencegah kehamilan dalam usia perkawinan 1 tahun (Dohle *et al.*, 2005).

Perubahan produksi sperma dapat diakibatkan oleh keadaan patologis testis yang mengakibatkan gangguan proses spermatogenesis dan terhentinya proses pematangan sperma, bahkan tidak dihasilkannya sel germinal. Gangguan proses spermatogenesis dapat juga terjadi karena abnormalitas pada organ reproduksi, sistem endokrin, jaringan saraf, atau terjadi infeksi. Sekitar 30% - 40 % kasus infertil pada pria tidak diketahui penyebabnya, namun seiring dengan kemajuan ilmu biologi molekuler, faktor genetik diduga merupakan salah satu faktor penyebab infertilitas pria (Foresta *et al.*, 2001; Dada *et al.*, 2003).

Penelitian secara genetik saat ini mulai dikembangkan untuk melihat penyebab infertilitas pada pria (Affara, 2001). Menurut Quilter (2003), mikrodeselesi

kromosom Y merupakan salah satu penyebab infertilitas pada pria secara genetik. Mikrodelesi kromosom Y atau hilangnya beberapa pasang basa pada gen yang bertanggung jawab terhadap proses spermatogenesis, dapat mengakibatkan gangguan pada proses tersebut. Gangguan proses spermatogenesis dapat menyebabkan jumlah serta kualitas sperma yang dihasilkan saat ejakulasi memiliki nilai analisis semen di bawah nilai standar WHO (Maduro *et al.*, 2003; Dohle *et al.*, 2005).

Hasil analisis semen secara abnormal karena gangguan pada proses spermatogenesis antara lain: azoospermia (tidak dihasilkannya spermatozoa saat ejakulasi), oligozoospermia (jumlah spermatozoa yang dihasilkan ≤ 20 juta/ml), teratozoospermia (sperma secara morfologi abnormal), astenozoospermia (gerakan sperma abnormal) atau oligo-asteno-teratozoospermia (jumlah, morfologi serta gerakan sperma abnormal). Jika hasil uji analisis semen secara kualitas dan kuantitas di bawah nilai standar yang telah ditetapkan WHO, maka spermatozoa sulit membuahi sel telur (Dohle *et al.*, 2005).

Kromosom Y merupakan kromosom unik yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut, berukuran sangat kecil, selalu dalam keadaan haploid, memiliki sekuen gen yang berulang, penentu determinasi seks serta penentu fertilitas seorang pria (Quintana-Murci & Fellous, 2001). Kromosom Y terdiri atas lengan pendek (Yp) dan lengan panjang (Yq) serta memiliki lebih dari 30 gen dan beberapa gen famili yang telah dipetakan pada kromosom Y (Foresta *et al.*, 2001; Maduro *et al.*, 2003).

Tiepolo & Zuffardi (1976) mengemukakan hipotesisnya bahwa, terdapat korelasi antara delesi pada kromosom Y dengan infertilitas pria. Delesi gen tertentu pada kromosom Y diduga dapat menyebabkan terjadinya azoospermia. Mereka mempostulasikan bahwa faktor genetik penyebab azoospermia terdapat pada segmen Yq11, yang mengandung klaster gen yang dikenal sebagai AZF. Klaster gen AZF diduga berperan penting pada proses perkembangan sel germinal dalam testis, yang dapat dipetakan menjadi beberapa sekuen DNA berupa STS (*Sequence Tagged Site*) (Foresta *et al.*, 2001).

Delesi beberapa pasang basa pada STS dapat dideteksi secara genetika molekular menggunakan metode STS-PCR atau *Southern Hybridization*. Analisis pemetaan secara molekular pada pria yang mengalami mikordelesi: dapat melengkapi hipotesis awal mengenai lokus tunggal yang berperan penting pada proses spermatogenesis pada lengan Yq. Diduga terdapat tiga region *non-overlapping* yang dapat mengalami delesi pada pria infertil, yaitu region AZFa, AZFb dan AZFc. Beberapa gen pada region AZF tersebut diekspresikan di testis dan merupakan kandidat gen AZF (Foresta *et al.*, 2001; Ali & Hasnain, 2003; Maduro *et al.*, 2003).

Delesi pada lengan panjang kromosom Y dapat mengakibatkan gangguan pada proses spermatogenesis, sehingga menyebabkan berkurangnya jumlah sperma dengan jumlah sperma < 5 juta/ml (oligozoospermia berat) serta tidak dihasilkannya sperma (azoospermia) (Foresta *et al.*, 2001; Dada *et al.*, 2003). Kegagalan proses

spermatogenesis tersebut merupakan penyebab utama infertilitas pada pria. Faktor genetik penyebab infertilitas adalah delesi sebagian lengan panjang kromosom Y (Shinka *et al.*, 2004)..

Region AZFc merupakan region yang mengalami delesi paling tinggi frekuensinya pada pria infertil dan diduga merupakan kandidat utama penyebab azoospermia (Biewlawski & Yang, 2001; de Vries *et al.*, 2002). Kebanyakan delesi yang terjadi pada region tersebut merupakan kejadian *de novo*, dengan frekuensi kejadian berkisar antara 15-20% pada pria azoospermia dan 7-10 % pada pria oligozoospermia (de Vries *et al.*, 2002). Prevalensi terjadinya mikrobelesi pada pria oligozoospermia berat adalah sekitar 10,5 % (Foresta *et al.*, 2001). Menurut Dada *et al.* (2003) frekuensi terjadinya mikrobelesi lengan panjang kromosom Y pada pria oligozoospermia berkisar antara 5-10%.

Salah satu kandidat gen AZFc yang pertama kali diisolasi adalah gen famili DAZ, yang terletak pada Yq11.23 di bagian distal eukromatik lengan panjang kromosom Y (Machev *et al.* 2004). Menurut Fernandes *et al.* (2002) fungsi gen DAZ yang sesungguhnya pada sel germinal belum diketahui, namun protein DAZ telah ditemukan pada akhir fase spermatid, pada ekor sperma, pada fase spermatogonia dan spermatosis. Diduga gen DAZ berperan pada berbagai fase spermatogenesis dan fase pematangan spermatozoa. Mikrobelesi gen DAZ ditemukan pada 5 pria oligozoospermia dari 63 pria yang diperiksa (8 %) di Italia. Machev *et al.* (2004)

menemukan kandidat gen lainnya pada region AZFc yaitu gen CDY1 yang berperan mengkode protein *histon acetyltransferase* dan gen MSY (*male specific region Y chromosome*).

Penelitian tentang mikrodeselesi kromosom Y pada 50 pria oligozoospermia berat di Indonesia yang telah dilakukan oleh Hendra (2005), menemukan 1 pria yang mengalami delesi pada STS sY 254 dan sY 255 pada region AZFc, tepatnya pada lokus gen DAZ.

B. PERUMUSAN MASALAH

Beberapa literatur hasil penelitian tentang faktor genetik penyebab infertilitas pada pria, menunjukkan frekuensi delesi pada region AZFc kromosom Y yang cukup tinggi. Pada region tersebut diduga terdapat beberapa kandidat gen yang bertanggung jawab terhadap proses spermatogenesis. Variasi frekuensi dan lokasi delesi pada region AZFc juga cukup tinggi untuk setiap etnik di dunia. Hal tersebut mungkin diakibatkan karena perbedaan latar belakang genetik, pola hidup serta faktor lingkungan (Affara, 2001).

Pada pria infertil Indonesia, khususnya di Jakarta, kemungkinan ditemukan adanya variasi frekuensi serta lokasi mikrodeselesi pada region AZFc yang berbeda dengan hasil penelitian pria infertil di negara lain. Penelitian tentang mikrodeselesi pada kromosom Y di Indonesia perlu dilakukan lebih lanjut untuk melengkapi hasil

penemuan Hendra (2005). Hasil yang telah diperoleh Hendra (2005), ditemukan adanya delesi sebanyak 1 pria oligozoospermia berat dari 50 pria oligozoospermia berat yang diperiksa, pada region AZFc (STS sY 254 dan sY 255). Penelitian lanjutan dilakukan dengan menambah jumlah lokus STS pada region AZFc yang mengandung repetitif DNA cukup tinggi dan berpotensi terjadinya delesi pada pria oligozoospermia berat. Jumlah pria oligozoospermia berat yang diperiksa menjadi 70 pria, berdasarkan perhitungan prevalensi terjadinya delesi dari hasil penelitian Hendra (2005).

Hal tersebut menimbulkan hipotesis sebagai berikut; terdapat lokus gen lainnya pada region AZFc yang mengalami delesi pada pria oligozoospermia berat di Indonesia, khususnya di Jakarta sebagai kandidat gen penyebab infertilitas, sebagai lanjutan dari hasil penelitian Hendra (2005)

C. TUJUAN PENELITIAN

Dari perumusan masalah di atas, maka disusun tujuan penelitian sebagai berikut.

1. Tujuan Umum

Menganalisis mikordelesi region AZFc pada kromosom Y pada pria Indonesia oligozoospermia berat.

2. Tujuan khusus

1. Mengetahui kandidat gen yang mengalami delesi pada region AZFc kromosom Y pada pria oligozoospermia berat di Indonesia.

2. Menghitung angka kejadian (frekuensi) region AZFc kromosom Y pada pria oligozoospermia berat di Indonesia menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan 6 STS uji (sY 14, sY 254, sY 255, sY 157, sY 159 dan y-DAZ 3).

D. MANFAAT PENELITIAN

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan pengetahuan mengenai kelainan genetik mikrodeselesi kromosom Y sebagai penyebab infertilitas pria oligozoospermia berat di Indonesia. Hasil lainnya, diharapkan dapat mengetahui beberapa kandidat gen pada region AZFc penyebab infertilitas pada pria oligozoospermia berat di Indonesia serta frekuensi terjadinya delesi pada region tersebut.

Pemeriksaan mikrodeselesi diharapkan dapat digunakan sebagai berikut :

1. Bahan acuan dalam pemeriksaan mikrodeselesi secara klinis bagi pria infertil di Indonesia.
2. Bahan konseling genetik bagi pasangan peserta program teknik reproduksi berbantuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Affara NA. 2001. The role of the Y chromosome in male infertility. *Expert reviews in molecular medicine*.
- Ali S, Hasnain SE. 2002. Mini-review: Molecular dissection of the human Y-chromosome. *Gene*. 283: 1-10.
- Ali S, Hasnain SE. 2003. Review: Genomics of the human Y-chromosome: 1. Association with male infertility. *Gene*. 321: 25-37.
- Asbagh FA, Sina A, Majmabadi H, Akbari MT, Tabarrold A, Pourmand GH. 2003. Prevalence of Y chromosome microdeletions in Iranian infertile men. *ACA medica Iranica*. 41: 164-170.
- Bienvenu T, Patrat C, Elreavey KMc, de Almeida M, Jouannet P. 2001. Reduction in DAZ gene copy number in two infertile men with impaired spermatogenesis. *Annales de Genetique*. 44: 125-128.
- Biewlawski JP, Yang Z. 2001. Positive and negative selection in the DAZ gene family. *Molecular Biology and Evolution*. 18: 523-529.
- Blanco P, Shlumukova M, Sargent CA, Jobling MA, Affara N, Hurles ME. 2000. Divergent outcomes of intrachromosomal recombination on the human Y chromosome: male infertility and recurrent polymorphism. *J. med. Genet* 37: 752-758.
- Chandra B. 1996. *Pengantar Prinsip dan Metode Epidemiologi*. Penerbit buku kedokteran, Jakarta: 38.
- Chiang HS, Yeh SD, Wu CC, Hiang BC, Tsai HJ, Fang O. 2004. Clinical and pathological correlation of the microdeletion of Y chromosome for the 30 patients with azoospermia and severe oligoasthenospermia. *Asian J Andro*. 6: 369-375.
- Choi JM, Chung P, Veeck L, Mielrik A, Palermo G, Schlegel PN. 2004. AZF microdeletions of the Y chromosome and in vitro fertilization outcome. *Fertility and Sterility*. 81: 337-341.
- Dada R, Gupta NP, Kucheria K. 2003. Molecular screening for Yq microdeletion in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia. *J.Biosel*. 28: 163-168

- Dai T, Vera Y, Salido EC, Yen PH. 2001. Characterization of the mouse Dazap 1 gene encoding an RNA-binding protein that interacts with infertility factors DAZ and DAZL. *BMC Genomics*. 2: 6-16.
- de Vries JWA., Hoffer MJV, Repping S, Hoovers JMN, Leschot NJ, & van der Veen F. 2002. Reduced copy number of DAZ genes in subfertile and infertile men. *Fertility and Sterility*. 77: 68-75.
- Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W. 2005. EAU Guidelines on male infertility. *European Urology*. 48: 703-711.
- Ferlin A, Moro E, Rossi, Foresta C. 2002. A novel approach for the analysis of DAZ gene copy number in severely idiopathic infertile men. *J. Endocrinol. Invest.* 25: 1-3.
- Fernandes S, Huellen K, Goncalves J, Dukat H, Zeisler J, de Meyts ER, Skakkebaek NE, B. Habermann, W. Krause, M. Sousa, A. Barros & P.H. Vogt. 2002. High Frequency of DAZ1/DAZ2 gene deletion in patients with severe oligospermia. *Molecular Human Reproduction*. 8: 286-298.
- Foresta, C., E. Moro, & A. Ferlin. 2001. Y chromosome microdeletion and alterations of spermatogenesis. *Endocrine Reviews*. 22 (2): 226-239.
- Foresta C, Bettellaa A, Moro E, Rossato M, Merico M, Garolla A, Ferlin A. 2002. Inhibin B plasma concentrations in infertile patients with DAZ gene deletions treated with FSH. *European Journal of Endocrinology*. 146: 801- 806.
- Foresta C, Garolla A, Bartolini L, Betella A, Ferlin A. 2004. Genetic abnormalities among severely oligospermic men who are candidates for intracytoplasmic sperm injection. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90: 152-156.
- Fox MS., Reijo RA. 2002. Male infertility, genetic analysis of DAZ genes on the human Y chromosome and genetic analysis of DNA repair. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 186: 231-239.
- Hellani A, Al-Hassan S, Iqbal MA, Coskun S. 2006. Y-chromosome microdeletions in fertile men with idiopathic oligo- or azoospermia. *Journal of Experimental & Clinical Assisted Reproduction*. 3: 124-127.
- Hendra E. 2005. *Analisis Mikrodelesi kromosom Y pada beberapa pria penderita oligozoospermia berat*. Tesis Magister Program Studi Ilmu Biomedik FK-UI.

<http://academic.pg.cc.md.us/~aimholtz//AandP/206>. Download 4 April 2006

http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/devel/animal_development.htm. Download 4 April 2006.

<http://images.google.co.id/imgres?imgurl>. Download 4 April 2006.

- Kamp C, Hirschmann P, Voss H, Huellen K, Vogt PH. 2000. Two long homologous retroviral sequence blocks in proximal Yq11 cause AZFa microdeletions as a result of intrachromosomal recombination events. *Human Molecular Genetics*. 9: 2563-2572.
- Kent-First M, Mullen A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Nolken W, Meisner L, Chandley A, Gouchy G, Jorgensen L, Haughurst T, Grosch J. 1999. Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of fourth AZF region (AZFd) by Y chromosome microdeletion detection. *Mol. Reprod. Dev.* 53: 27-41.
- Kim WS, Kim DK, Paick JS. 1999. Microdeletion with azoospermia factor sub regions of the Y chromosome in patient with idiopathic azoospermia. *Fertile and Steril.* 72: 349-352.
- Kimmins S, Kotaja N, Davidson I, Sassone-Corsi P. 2004. Testis-specific transcription mechanisms promoting male germ-cell differentiation. *Reproduction and Fertility*. 128: 5-12.
- Kittler R, Erter A, Brauer S, Stoneking M, Kayser M. 2003. Apparent intrachromosomal exchange on the human Y chromosome explained by population history. *European Journal of Human Genetics*. 41: 304-314.
- Kostiner DR, Turek PJ, Reijo RA. 1998. Male infertility: analysis of the markers and genes on the human chromosome. *Hum. Reprod.* 13: 3032-3038.
- Kühnert B, Gromoll J, Kostova E, Tschanter P, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. 2004. Case Report: Natural transmission of an AZFc Y-chromosomal microdeletion from father to his sons. *Human Reproduction*. 19: 886-888.
- Kuo PT, Wang ST, Lin YM, Lin YH, Teng TN, Hsu CC. 2004. Expression profiles of DAZ gene family in human testis with and without spermatogenic failure. *Fertility and Sterility*. 81: 1034-1040.

Lin YM, Lin YH, Teng YN, Hsu CC, Lin S, Kuo PL. 2002. Gene-based screening for Y chromosome deletions in Taiwanese men presenting with spermatogenic failure. *Fertility and Sterility*. 77: 897-903.

Machev N, Saut N, Longepied G, Terriou P, Navarro A, Levy N, Guichaoua M, Metzler-Guillmain C, Collignon P, Frances AM, Belougne J, Clemente E, Chiaroni J, Chevillard C, Durand C, Ducourneau A, Pech N, McElreavey K, Mattei MG, Mitchell MJ. 2004. Sequence family variant loss from the AZFc Interval of human Y chromosome, but not gene copy loss, is strongly associated with male infertility. *J. Med. Genet.* 41: 814-825.

Maduro MR, Lo KC, Chuang WL, Lamb DJ. 2003. Genes and male infertility: What can go wrong? *Journal of Andrology*. 24: 485-491.

Matsumoto AM. 1996. Spermatogenesis. *Dalam: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Vol 1. Lippincott-Raven, New York: 359-384.

Muhhall JP, Reijo R, Alagappan R, Brown L, Page D, Carson R, Oates RD. 1997. Azoospermia men with deletion of DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis fertilizations normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.* 12: 500-508.

Nieschlag E, Behre HM. 2000. *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction*. Springer.

Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC. 2002. Clinical characterization of 42 oligozoospermic or azoospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome and of 18 children conceived via ICSI. *Hum. Reprod.* 17: 2813-2824.

Page DC, Silbers. 1999. Men with infertility caused by AZFc deletions can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum. Reprod.* 14: 1722-1726.

Quilter CR, Svennevik EC, Serhal P, Ralph D, Bahadur G, Stanhope R, Sutterlin M, Delhanty JDA, Taylor KE. 2003. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening of a random group of infertile males. *Fertility and Sterility*. 79: 301-307.

Quintana-Murci L, Fellous M. 2001. The human Y chromosome: the biological role of a "functional wasteland". *J. Biomed. Biotech.* 1: 18-24.



- Raicu F, Popa L, Cimponeriu DC, Dan L, Hince E, Dracea LL, Marinescu B, Gavrilă L. 2003. Screening for microdeletion in human Y chromosome AZF candidate genes and male infertility. *J. Cell. Mol. Med.* 7: 43-48.
- Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, Rozen S, Jaffe T, Strauss D. 1995. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nature Genet.* 10: 383-393.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. Vol 1. Cold Spring Harbour Laboratory Press. New York.
- Sao Pedro SL, Fraietta R, Spaine D, Porto CS, Srougi M, Cedenho AP, Avellar MCW. 2003. Prevalence of Y chromosome deletions in a Brazilian Population of nonobstructive azoospermic and severely oligozoospermic men. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 36: 787-793.
- Sawai H, Komori S, Koyama K. 2002. Molecular analysis of the Y chromosome AZFc region in Japanese infertile males with spermatogenic defects. *Journal of Reproductive Immunology.* 53: 37-44.
- Shinka T, Sato Y, Chen G, Naroda T, Kinoshita K, Unemi Y, Tsuji K, Toida K, T. Iwamoto & Y. Nakahori. 2004. Molecular characterization of heat shock-like factor encoded on the human Y chromosome, and implications for male infertility. *Biology of Reproduction.* 71: 297-306.
- Simoni M, Bakker E, Krausz C. 2004. EAA/AMQN best practise guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int. J. And.* 27: 1-10.
- Sudoyo H. 2000. *Molecular Genetics: Laboratory manual*. Diktat pengantar praktikum mahasiswa pasca sarjana biomedik. Eijkman Institute for Molecular Biology.
- Tiepolo L, Zuffardi O. 1976. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet.* 34: 119-124
- Tsui S, Dai T, Roettger S, Schempp W, Salido EC, Yen PH. 2000. Identification of two novel proteins that interact with germ-cell-specific RNA-binding proteins DAZ and DAZL1. *Genomics.* 65: 206-273.



RINGKASAN

Kelainan materi genetik pada kromosom Y yang mengandung gen yang berperan pada proses spermatogenesis dapat mengakibatkan infertilitas pada pria. Tiepolo & Zuffardi (1976), pertama kali mengemukakan hipotesis hubungan antara delesi pada kromosom Y dengan infertilitas pada pria. Diduga perubahan materi genetik yang cukup besar pada lengan panjang kromosom Y (Yq11) akan mengganggu proses spermatogenesis. Bagian eukromatin lengan panjang kromosom Y mengandung gen yang berperan pada proses pematangan sel germinal serta perubahan pada tahapan proses spermatogenesis. Gen-gen tersebut berkelompok, disebut sebagai *Azoospermia Factor* (AZF).

Tingginya pengulangan basa DNA pada lengan panjang kromosom Y dapat memudahkan terjadinya delesi, sehingga menyebabkan kegagalan proses spermatogenesis. Hasil pemetaan delesi kromosom Y, menemukan adanya tiga region yang bertanggung jawab menyebabkan azoospermia atau *Azoospermia Factor* (AZF), terdiri atas AZFa, AZFb dan AZFc yang dipetakan pada sub region Yq11.

. Region AZFc, merupakan region paling penting dan hampir 80 % kasus mikrodelesi terjadi pada region ini, terutama pada gen DAZ. Region AZFc yang terletak pada lengan panjang kromosom Y tersebut merupakan region yang mengalami delesi dengan frekuensi paling tinggi pada pria infertil. Diduga pada

g

B. SARAN

- a. Pemeriksaan mikordelesi dengan beberapa STS yang telah diujikan dapat dipertimbangkan sebagai salah satu upaya penegakan diagnosis klinis membantu para tenaga medis dan ahli andrologi pada pria oligozoospermia berat dalam penanganan kasus infertilitas idiopatik pria di Indonesia.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekspresi protein gen pada region AZFc di dalam testis pria oligozoospermia berat di Indonesia, sehingga terlihat peranan gen tersebut lebih spesifik pada tahapan spermatogenesis.
- c. Perlu dilakukan penelitian mikordelesi dengan menambah STS pada region AZF lainnya dengan melihat perbedaan etnik yang ada di Indonesia serta berdasarkan kriteria pria infertil lainnya.
- d. Mikordelesi kromosom Y, dapat dilakukan sebagai pemeriksaan rutin bagi pria yang mengalami infertilitas sehingga dapat ditangani secara optimal, terutama pada peserta program reproduksi berbantuan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Frekuensi mikrolelesi pada region AZFc kromosom Y sebesar 8,57 % (6 dari 70 pria oligozoospermia berat yang diperiksa, di Jakarta).
2. Lokasi delesi yang ditemukan pada region AZFc adalah pada uji STS sY 254, sY 255, sY 159, dan y-DAZ 3. Satu orang pria (1,42 %) mengalami delesi pada STS sY 254, sY 255 dan y-DAZ 3, sebanyak 3 pria (4,28 %) mengalami delesi pada STS sY 159 serta 2 pria (2,87 %) mengalami delesi pada STS y-DAZ 3.

Pada sampel normosperma tidak ditemukan adanya delesi pada ke 6 uji STS yang digunakan, maka ke-4 uji STS tersebut merupakan kandidat gen yang bertanggung jawab mengurangi jumlah sperma bagi pria oligozoospermia berat di Indonesia, khususnya di Jakarta.