

# Inhibin Sebagai Bahan Alternatif Kontrasepsi Pria

Cornelis Adimunca\*, Sutyarso\*\*

\*) Pusat Penelitian Penyakit Tidak Menular, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta

\*\* \*) Jurusan Biologi MIPA Universitas Lampung (UNILA), Lampung

## PENDAHULUAN

Berbagai usaha telah dan terus dilakukan oleh para ahli di bidang andrologi, untuk memperoleh bahan kontrasepsi pria yang aman dan bersifat reversibel. Usaha tersebut didorong oleh kesadaran penuh akan pertambahan penduduk di dunia<sup>(1)</sup>.

Mengingat pria merupakan 50% dari program Keluarga Berencana yang terlupakan<sup>(2)</sup>, keterlibatan pria dalam program ini harus diupayakan secara intensif oleh semua pihak, yaitu dengan mencari bahan untuk kontrasepsi. Saat ini alat kontrasepsi pria hanya terbatas pada kondom dan vaksetomi, sedangkan bahan atau substansi yang dapat mengendalikan kualitas dan kuantitas spermatozoa belum dikembangkan. Salah satu substansi yang dapat mengendalikan pembentukan spermatozoa adalah inhibin.

Inhibin tergolong peptida yang dihasilkan dalam testis. Secara teori, kerja inhibin menghambat pelepasan FSH (*Follicle Stimulating Hormon*) tanpa mempengaruhi sekresi testosteron<sup>(2)</sup>. Secara normal, FSH tersebut sangat diperlukan dalam proses spermatogenesis dan LH (*Luteinizing Hormon*) diperlukan untuk merangsang produksi testosteron. Didasarkan hal tersebut, maka sterilitas dapat dibuat tanpa defisiensi androgen yaitu, dengan hambatan selektif FSH oleh inhibin. Dengan demikian inhibin

mempunyai potensi sebagai bahan kontrasepsi pria.

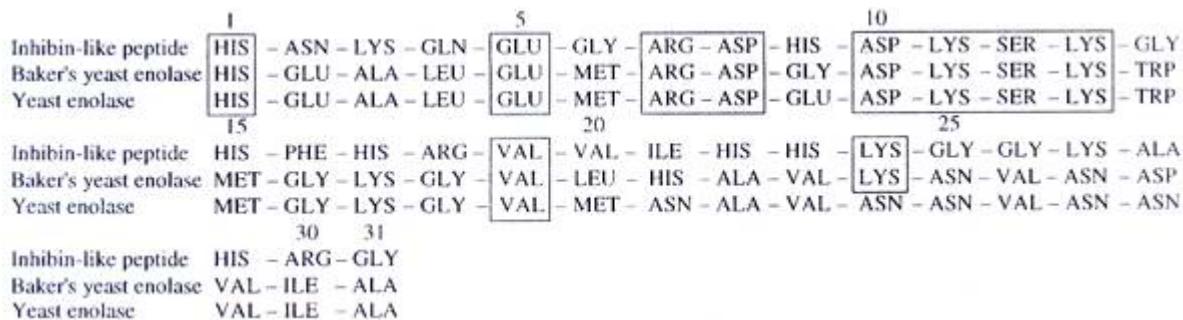
Tujuan makalah ini adalah untuk mencari dan menginformasikan sifat dan kegunaan inhibin, untuk dapat digunakan dalam program Keluarga Berencana.

## SIFAT INHIBIN

Inhibin merupakan protein (non-steroid), mempunyai Berat Molekul lebih dari 10.000 dan larut dalam air. Diduga, inhibin disekresi oleh sel Sertoli atau beberapa unsur tubulus seminiferus dan ditemukan pula dalam cairan antrum folikuli<sup>(4)</sup>.

Inhibin pertama kali diperkenalkan oleh Mc Cullagh tahun 1932, mempunyai aktivitas anti-gonadotropin dan bersifat termolabil<sup>(5)</sup>. Ini berarti bahwa, sekresi FSH secara tidak bebas diatur oleh inhibin, sedangkan testosteron secara umpan balik menghambat sekresi LH.

Isolasi peptida basa dan plasma semen manusia memperlihatkan adanya aktifitas seperti inhibin (*inhibin-like activity*), yaitu menekan sekresi FSH baik secara *in vitro* maupun *in vivo*<sup>(6)</sup>. Peptida tersebut telah dikarakterisasi dan diurutkan asam aminonya secara sintetik dan menunjukkan aktivitas biologi penuh secara *in vitro*. Peptida sintetik tersebut tersusun atas kelipatan 31 asam amino (**Gambar 1**).



Gambar 1. Susunan asam amino dan inhibin-like yang berasal dan seminal plasma manusia.

## CARA ISOLASI INHIBIN

Plasma semen dan sapi atau manusia, disentrifus pada 2.200 g selama 15 menit, untuk memisahkan spermatozoa dan cairan plasma semen. Protein dalam supernatan diendapkan dengan ethanol absolut 86%, kemudian endapan dipisahkan dengan sentrifugasi pada suhu 4°C. Selanjutnya endapan dilarutkan kembali dengan akuades dan dikeringkan secara *freeze-dried*. Fraksi yang diperoleh disebut *crude-material*. Supernatan yang mengandung steroid diekstraksi dengan kloroform-eter dua bagian (1:1), kemudian dengan dua bagian dietil eter. Fraksi yang larut dalam eter dipisahkan dan digunakan untuk uji steroid. Fraksi ini tidak menghambat sekresi FSH dan LH setelah diinjeksikan pada tikus jantan yang telah dikastrasi. Sebaliknya terjadi hambatan sekresi FSH, sedangkan sekresi LH normal, setelah tikus diinjeksi dengan fraksi *crude material* yang telah dimurnikan. Pemurnian *crude material* menggunakan gel filtrasi Sephadex G 100 pada suhu 4°C dan dielusi dengan 0,05 M buffer fosfat pH 7,4 atau 0,05 M sodium asetat pH 4.

Cara yang lebih sederhana adalah sebagai berikut<sup>(7)</sup>: Cairan rete testes biri-biri (*ram*) disentrifus pada 3.000 g selama 15 menit dengan suhu 4°C, untuk mengendapkan spermatozoa. Supernatan yang diperoleh langsung dipergunakan dalam penelitian tanpa terlebih dahulu dimurnikan. Dengan cara yang sama, telah berhasil diisolasi substansi penghambat sekresi FSH dari plasma semen sapi<sup>(8)</sup>. Hasilnya menunjukkan bahwa substansi tersebut sebagai penghambat sekresi FSH pada tikus percobaan.

Selain cara *in vivo* di atas dapat pula dilakukan secara *in vitro*. Hasil isolat kultur sel granula folikel pre-ovulasi, dimasukkan ke kultur sel-sel hipofisis<sup>(4)</sup>. Diperoleh hasil bahwa isolat tersebut mengandung substansi inhibin yang menekan produksi FSH dalam kultur sel-sel hipofisis. Dari kultur tubulus seminiferus secara *in vitro*<sup>(9)</sup> diperoleh petunjuk bahwa sekresi inhibin pada tikus dewasa, bervariasi menurut tingkat (*stage*) dan siklus tubulus seminiferus. Kandungan inhibin tinggi pada tingkat II sampai VI dan rendah pada tingkat VII–VIII dari siklus. Apabila dikultur lebih dari 48 jam, maka sekresi inhibin tinggi pada tingkat III sampai VI dan rendah pada tingkat VII–VIII.

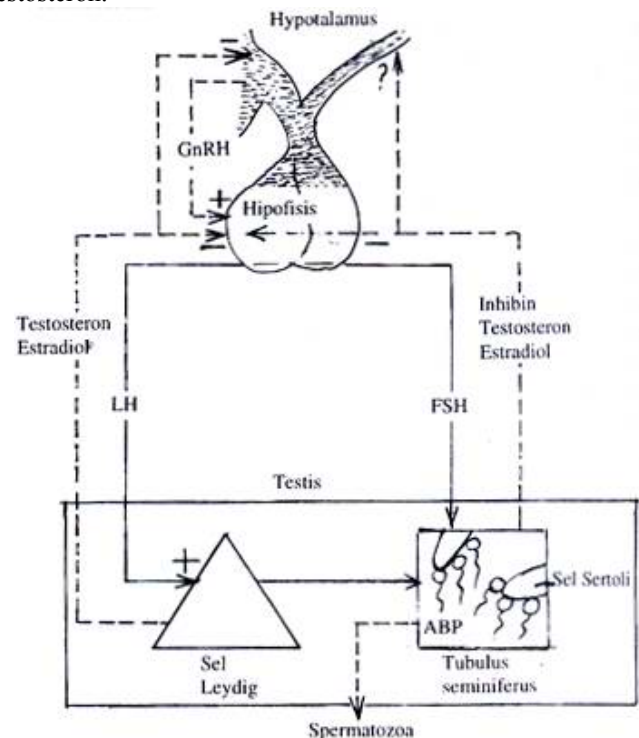
## EKSPRESI GEN UNTUK PROTEIN INHIBIN

Inhibin mempunyai aktifitas menghambat FSH bila terdapat dalam jumlah berlebih melalui mekanisme umpan balik negatif, namun belum diketahui hal apa yang mempengaruhi sel-sel dalam tubulus seminiferus untuk memproduksi inhibin. Untuk itu telah dilakukan penelitian ekspresi gen terhadap mRNA (*messenger Ribonucleic Acid*) inhibin secara *in vitro*<sup>(10)</sup>. Hasilnya menunjukkan bahwa penambahan FSH (5–50 ng/ml) pada kultur sel Sertoli, menyebabkan konsentrasi inhibin meningkat 4–7 kali dibandingkan kontrol; akan tetapi pada penambahan testosteron (1  $\mu$  mol/L), konsentrasi inhibin tidak menunjukkan peningkatan. Dengan kata lain FSH meningkatkan ekspresi mRNA inhibin sub unit-alfa tanpa dipengaruhi oleh testosteron, sebaliknya FSH atau testosteron tidak mempengaruhi ekspresi mRNA sub unit-beta B. Dengan demikian ekspresi gen dari sel Sertoli membentuk mRNA inhibin dan bertranslasi membentuk inhibin, sangat bergantung pada FSH dan tidak pada testosteron.

Juga telah dipelajari mekanisme pengendalian ekspresi mRNA sub unit-alfa, sub unit-beta A dan sub unit-beta B oleh FSH dan steroid. Penelitian secara *in vitro* ini mengkultur sel granulosa ovarium tikus dewasa. Diperoleh hasil bahwa pemberian FSH meningkatkan jumlah mRNA inhibin sub unit-alfa, sub unit-beta A dan sub unit-beta B menjadi 60, 70 dan 66 kali lebih besar dari kelompok kontrol. Pada pemberian estradiol, diperoleh jumlah mRNA inhibin sub unit-alfa dan sub unit-beta B adalah 4 kali dan 2 kali lebih besar terhadap kontrol, sedangkan mRNA inhibin sub unit-beta A tidak terukur. Pada pemberian testosteron (DHT) dan campuran androgen-estrogen, diperoleh pengaruh yang tidak konsisten. Hasil tersebut menunjukkan, bahwa ekspresi gen untuk inhibin sub unit-alfa dikontrol oleh FSH. Selain itu FSH juga berfungsi menginduksi gen untuk inhibin sub unit-beta pada sel-sel granulosa. Dengan demikian ketiga gen mempunyai pola ekspresi yang sama, yaitu dikontrol oleh FSH selama diferensiasi sel-sel granulosa.

## FUNGSI INHIBIN PADA SPERMATOGENESIS

Proses normal spermatogenesis diatur oleh sistem hormon (FSH, LH dan testosteron), yang pengendaliannya melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis (**Gambar 2**). FSH mempengaruhi sel Sertoli dan sel spermatogenik untuk metabolisme normal; sel Sertoli di bawah pengaruh FSH mensintesis protein pengikat androgen (ABP) yang berfungsi untuk mengikat testosteron, untuk selanjutnya digunakan dalam proses pembelahan dan pematangan spermatogonia menjadi spermatozoa. Adapun LH penting dalam mempengaruhi sel Leydig memproduksi testosteron.



**Gambar 2.** Hubungan poros Hipotalamus-Hipofisis-Testis. Inhibin menekan FSH dan Testosteron menekan LH.

Inhibin merupakan protein yang juga dihasilkan oleh sel Sertoli<sup>(10)</sup>. Secara normal fungsinya mengatur sekresi FSH melalui mekanisme umpan balik negatif; dengan demikian inhibin yang berlebihan akan menekan sekresi FSH oleh hipofisis. Apabila inhibin meningkat terus (penambahan secara eksogen), maka konsentrasi FSH menjadi rendah jauh di bawah normal. Akibatnya spermatogenesis dapat terganggu dan jumlah spermatozoa di bawah normal, bahkan menjadi azospermia.

Penggunaan inhibin untuk kontrasepsi pria dirasakan perlu dan sangat baik, sebab pemberian inhibin secara eksogen akan menghambat sekresi FSH tetapi tidak menghambat sekresi LH; dengan demikian maka produksi androgen (testosteron) oleh sel Leydig tidak terganggu, ini berarti libido tetap tidak terganggu. Di bawah ini ada beberapa hasil penelitian mengenai pengaruh substansi inhibin terhadap spermatogenesis.

Dengan cara isolasi seperti yang dikemukakan terdahulu dengan spektrofotometri (panjang gelombang 280 nm) diperoleh dua puncak yang berbeda yaitu PI dan PII. Dalam suasana asam PII memisah menjadi dua puncak yaitu, ACI dan ACII. Fraksi ACI tidak mempengaruhi penurunan konsentrasi FSH dan LH dalam serum. Namun fraksi ACII yang diberikan secara intra peritoneal (i.p) menurunkan secara nyata konsentrasi FSH serum, akan tetapi konsentrasi LH tidak dipengaruhi (**Tabel 1**).

Dissel-Emiliani dkk<sup>(12)</sup> juga telah melakukan penelitian pengaruh inhibin (dari cairan folikel bovin/bFF) terhadap jumlah sel spermatogenik testes mencit dan hamster. Cairan folikel Bovin yang diinjeksikan secara intraperitoneal selama dua hari pada mencit, mengakibatkan penurunan 91% spermatogonia A-4, 74% spermatogonia dan 67% spermatogonia B dibanding kontrol. Selain itu, juga FSH turun menjadi 6% lebih rendah dan kontrol. Pada *hamster*, perlakuan yang sama selama 4 hari juga menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik. Spermatogonia A-3 turun 86%, spermatogonia In turun 61%, spermatogonia B-I turun 55% dan spermatogonia B-2 turun 94% dibanding kontrol. Dengan demikian disimpulkan bahwa cairan folikel bovin me-

ngandung substansi inhibin yang dapat mengendalikan perkembangan sel-sel spermatogenik. Pengaruhnya terjadi pada epitel tubulus seminiferus, akibat rendahnya sekresi FSH.

Sharpe memberikan Ethane Dimethane Sulphonat untuk merusak fungsi sel Leydig<sup>(13)</sup>, dari hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa inhibin disekresi oleh sel Sertoli, kemudian dikeluarkan ke dalam cairan interstitial. Di samping itu, meningkatnya sekresi inhibin berkorelasi negatif terhadap sekresi FSH.

## KESIMPULAN

- 1) Inhibin dapat menekan sekresi FSH oleh hipofisis melalui mekanisme umpan balik negatif.
- 2) Inhibin dihasilkan oleh sel Sertoli dan komponen epitel tubulus seminiferus pada jantan (pria), sedangkan pada betina (wanita) dihasilkan oleh sel-sel folikel ovarium yang sedang tumbuh (menuju folikel Graft).
- 3) Inhibin adalah hormon peptida, berat molekul lebih dari 10.000 dan termolabil.
- 4) Karena inhibin menekan FSH tanpa menekan LH, maka produksi androgen (testosteron) tetap normal. Dengan demikian libido dipertahankan, namun spermatogenesis dapat dihambat.
- 5) Inhibin dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi hormonal pada pria.

## SARAN

- 1) Masih perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan antara dosis pemberian inhibin dan waktu penyembuhan (*recovery*) selama siklus spermatogenesis.
- 2) Demikian pula mengenai kemungkinan terjadinya kekebalan atau reaksi silang dalam sistem imun, setelah pemberian inhibin ini.

## KEPUSTAKAAN

1. Bremner WJ, De Kretser DM. The Prospects for New Reversible Male

**Tabel 1. Pengaruh fraksi ACII dari seminal plasma terhadap konsentrasi FSH dan LH pada tikus jantan.**

Experiment	Treatment	Injection route	No. of rats	Serum FSH (ng ml <sup>-1</sup> ± s.e.m.) NIAMD-FSH-RP,	Serum LH (ng ml <sup>-2</sup> ± s.e.m.) NIAMD-LH-RP,
Normal rats	NaCl 0.9%	i.p.	10	581.0 ± 45.6	39.8 ± 7.1
	200 µg AcII	i.p.	10	423.0 ± 39.9*	39.1 ± 4.8
	500 µg AcII	i.p.	10	342.7 ± 44.6†	29.1 ± 4.6
	NaCl 0.9%	i.p.	5	638.0 ± 46	26.4 ± 5.3
	200 µg AcII	i.p.	5	458.0 ± 59.1 *	20.0 ± 5.4
Castrated rats	NaCl 0.9%	i.v.	10	425.7 ± 30.8	48.9 ± 7.1
	160 µg AcII	i.v.	10	315.0 ± 32.2*	62.6 ± 8
	NaCl 0.9%	i.v.	10	1,261.0 ± 96	293.0 ± 25
	200 µg AcII	i.v.	10	855.0 ± 47.2†	320.0 ± 41.1
	500 µg AcII	i.v.	8	805.0 ± 31.4†	289.0 ± 45
	NaCl 0.9%	i.p.	10	1,080.0 ± 74.1	248.3 ± 61.7
	200 µg AcII	i.p.	10	795.0 ± 50.6*	324.2 ± 70.9
	NaCl 0.9%	i.p.	5	824.0 ± 83.9	421.0 ± 90.2
	200 µg AcII	i.p.	5	588.0 ± 56.2*	260.0 ± 22.7

Keterangan :

*i.p* : intraperitoneal; *i.v* : intravena

\* :  $p < 0,05$

† :  $p < 0,025$

- Contraceptives. N Engl. J Med 1976; 295: 111 1–17.
2. Moeloek N. Kontrasepsi Pria : Masa Kini dan Masa Akan Datang. Medika 1990; 16(2): 151–59.
  3. Ganong WF. Gonad : Perkembangan dan Fungsi Sistem Reproduksi. Dalam: Fisiologi Kedokteran, terjemahan oleh Sutarman, 9th (ed). EGC, Jakarta. 1980 hal. 411.
  4. Erickson GF, Hsueh AJW. Secretion of inhibin by Rat Granulosa Cells in Vitro. Endocrinology 1978; 103: 1960–1963.
  5. Franchimont P, Chari S, Demoulin A. Hypothalamus-Pituitary-Testes Interaction. J Reprod Fertil 1975; 44: 335–350.
  6. Ramasharma K, Sairam MR, Seidah NG, Chretien M, Manjunath P, Schiller PW. Isolation, Structure and Synthesis of a Human Seminal Plasma Peptide with Inhibin-like Activity. Science 1984; 223: 1199–202.
  7. Setchel BP, Jacks F. Inhibin-like Activity in Rate Testis Fluid. J Endocrinol 1974; 62: 675–676.
  8. Franchimont P, Chari S, Hagelstein MT, Dpraiswami S. Existence of a FSH inhibiting Factor "Inhibin" in Bull Seminal Plasma. Nature 1975; 257: 402–404.
  9. Gonzales GF, Risbridger GP, Hodgson YH, Poilamen P, De Kretser DM. Stage-Specific inhibin Secretion by Rat Seminiferous Tubules. Deprad Fertil Dev 1989; 1: 275–279.
  10. Toebosch AM, Robertson DM, Klaij IA, Dc Jong FH, Grootegoed JA. Effect of FSH and Testosteron on Highly Purified Rat Sertoli Cells : Inhibin Alfa-sub unit mRNA Expression and inhibin Secretion are Enhanced by FSH but not by Testosteron. J Endocrinol (England) 1989; 122: 757–762.
  11. Turner IM, Saunders PT, Shimasaki S, Hillier SG. Regulation of Inhibin sub-unit Gene Expression by FSH and Estradiol in Cultured Rat Granulosa Cells. Endocrinology 1989; 125: 2790–92.
  12. Van Dissel-Emiliani FM, Grootenhuis AJ, D Jong FH, Dc Rooij DG. Inhibin Reduces Spermatogonial Number in Testes of Adult Mice and Hamsters. Endocrinology 1989; 125: 1899–903.
  13. Sharpe RM, Madocks SMRC. Evaluation of the Relative importance of Endocrine and Paracrine Factors in Control of the Levels of inhibin in the Testicular interstitial fluid. Int J Androl 1989; 12: 295–306.



104 jenis burung,  
dan 178 jenis mamalia Indonesia  
terancam musnah !