



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2005

**PENGARUH IMUNISASI SPERMA TERHADAP ANGKA  
KEBUNTINGAN, KEMATIAN DINI DAN EFEK TERATOGENIK  
PADA TIKUS PUTIH**

Oleh:

**Drh. Tri Wahyu Suprayogi, M.Si.**

**Drh. Suherni Susilowati, M.Kes.**

**Drh. Indah Norma Triana, M.Si.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian  
dan Pengabdian kepada Masyarakat

Nomor : 036/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005

Nomor Urut : 36

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**November, 2005**

- IMMUNITY - ENDOCRINE ASPECTS



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2005

## PENGARUH IMUNISASI SPERMA TERHADAP ANGKA KEBUNTINGAN, KEMATIAN DINI DAN EFEK TERATOGENIK PADA TIKUS PUTIH

KKC  
KK  
LP 19/08

Oleh:

Drh. Tri Wahyu Suprayogi, M.Si.  
Drh. Suherni Susilowati, M.Kes.  
Drh. Indah Norma Triana, M.Si.

Sup  
p.

### LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian  
dan Pengabdian kepada Masyarakat  
Nomor : 036/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005  
Nomor Urut : 36

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2005





**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
LEMBAGA PENELITIAN DAN  
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 596200  
E-mail : infolemlit@unair.ac.id - http://lppm.unair.ac.id

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA**

1.a. Judul Penelitian	: PENGARUH IMUNISASI SPERMA TERHADAP ANGKA KEBUNTINGAN, KEMATIAN DINI DAN EFEK TERATOGENIK PADA TIKUS PUTIH
b. Macam Penelitian	: ( ) Fundamental (v) Terapan ( ) Pengembangan
c. Kategori	: I / II / III
2. Ketua Peneliti	
a. Nama Lengkap dan Gelar	: Tri Wahyu Suprayogi, MSi, Drh.
b. Jenis Kelamin	: Laki-laki
c. Pangkat/Golongan/NIP	: Penata/III C/131 877 885
d. Jabatan Fungsional	: Lektor
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Kedokteran Hewan
f. Univ/Inst/ Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu yang Diteliti	: Biologi Reproduksi
3. Jumlah Tim Peneliti	: 3 orang
4. Lokasi Penelitian	: Lab. Inseminasi Buatan FKH UNAIR
5. Kerjasama dengan Institusi Lain	:
a. Nama Instansi	:
b. Alamat	:
6. Masa Penelitian	: 5 Bulan
7. Biaya Yang Diperlukan	: Rp. 6.000.000,- ( Enam Juta Rupiah ).

Surabaya, Oktober 2005

Mengetahui :  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga

Ketua Peneliti,

Prof. Dr. Ismudiono, MS, Drh.  
NIP: 130 687 297

Tri Wahyu Suprayogi, Msi, Drh.  
NIP: 131 877 885

Mengetahui :  
Ketua Lembaga Penelitian Unair,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.  
NIP : 130 701 125

**RINGKASAN PENELITIAN**

Judul Penelitian	: Pengaruh Imunisasi Sperma Terhadap Angka Kebuntingan, Kematian Dini dan Efek Teratogenik pada Tikus Putih
Ketua Peneliti	: Tri Wahyu Suprayogi, M Si, Drh.
Anggota Peneliti	: Suherni Susilowati, M Kes, Drh. Indah Norma Triana, M Si, Drh.
Fakultas/Puslit	: Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Sumber Biaya	: DP3M Ditjen Dikti Depdiknas tahun 2005

---

Salah satu metode kontrasepsi yang dikembangkan saat ini adalah metode imunokontrasepsi atau vaksin kontrasepsi ( Alexander, 1993 ). Imunisasi spermatozoa akan menginduksi produksi antibodi antispermatozoa yang akan menyelubungi antigen pada kepala dan ekor spermatozoa, yang akan mengganggu proses kapasitasi, sehingga akan menghambat terjadinya reaksi akrosom akibatnya kemampuan fertilisasi berkurang. Respon imun yang terbentuk akan mengurangi ikatan spermatozoa terhadap zona pelusida dan mengurangi jumlah embrio yang mencapai tahap blastosit ( King,dkk, 2001 ).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase kebuntingan, kematian dini dan efek teratogenik pada tikus putih setelah imunisasi dengan sperma. Sedangkan manfaat penelitian ini adalah memperoleh bahan yang bersifat imunogen yang dapat digunakan sebagai imunokontrasepsi. Adapun hipotesis penelitian ini adalah terdapat perbedaan persentase angka kebuntingan, kematian dini, efek teratogenik pada tikus putih setelah imunisasi dengan sperma dan tanpa imunisasi.

Penelitian ini menggunakan suspensi sperma, dimana sperma ditampung dengan vagina buatan , kemudian disentrifuge dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit, cairan bagian atas tabung dibuang dan peletnya ditambah dengan PBS ( Phosphat Buffer Saline ) dan siap untuk disuntikkan pada tikus putih betina. Sebanyak 30 ekor tikus putih betina dibagi secara acak menjadi 3 kelompok:

Kelompok I : sebagai kontrol ( imunisasi dengan Na Cl fisiologis )

Kelompok II : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/ 2 hari sekali selama 21 hari.

Kelompok III : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/setiap hari selama 21 hari. Kemudian dilakukan perkawinan dengan tikus putih dengan perbandingan 1 tikus putih jantan dikawinkan dengan 2 ekor tikus putih betina.

Imunisasi Pada Tikus Putih Betina untuk melihat kematian dini

Sebanyak 30 ekor tikus putih betina dibagi menjadi 3 kelompok secara acak.

Kelompok I : sebagai kontrol ( imunisasi dengan Na Cl fisiologis )

Kelompok II : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/ 2 kali sehari selama 21 hari

Kelompok III : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/setiap hari selama 21 hari

Kemudian pada akhir imunisasi , semua tikus putih betina dikawinkan dengan tikus putih jantan dengan perbandingan 1 tikus putih jantan dikawinkan dengan 2 ekor tikus putih betina. Selanjutnya dilakukan pembedahan 3 hari setelah perkawinan untuk melihat adanya kematian dini.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase angka kebuntingan pada kelompok I masih 100%, sedangkan pada kelompok II sebesar 70% , tidak terjadi kematian dini dan efek teratogenik pada penyuntikan dengan suspensi sperma.

Kesimpulan penelitian ini adalah penyuntikan suspensi sperma pada tikus putih betina belum 100% menurunkan angka kebuntingan, tidak mempengaruhi kejadian kematian dini dan efek teratogenik.

Saran penelitian ini adalah dosisnya dapat ditingkatkan agar menurunkan angka kebuntingan sehingga dapat digunakan sebagai imunokontrasepsi.

## SUMMARY

The influence of sperm immunization to percentage of graviditas, early embryonal death and teratogenic effect on female white rats has been studied. The aim of this studied was observe the percentage of graviditas, early embryonal death and teratogenic effect on female white rats after sperm immunization.

Collection of semen by using artificial vagina from local male goats and then centrifuged 10000 rpm for 10 minutes and then pellet plus Phosphat Buffer Saline (PBS) injected to female white rat. Thirty white female rat divided three group.

Group I: immunization by Na Cl fisiologis. Group II: immunization by 0,1 cc suspension of sperm/sc/ two days for 21 days. Group III: immunization by 0,1 cc suspension of sperm/sc/ day for 21 days. And then mated with male rats. Examination for know of graviditas and teratogenic effect, 21 days after immunization.

Thirty white female rat divided three groups. Group I : immunization by Na Cl fisiologis. Group II: immunization by 0,1 cc suspension of sperm/sc/ two day for 21 days. GroupIII : immunization by 0,1 cc suspension of sperm/sc/ day for 21 days. And then mated with male rats. Examination for known of early embryonal death, 3 days after immunization.

The result show that percentage of graviditas has significant different in the group ( $p > 0,05$ ). Has not effect to teratogenic and early embryonal death.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah Nya sehingga dapat diselesaikannya penulisan hasil laporan penelitian dengan judul :Pengaruh Imunisasi Sperma Terhadap Angka Kebuntingan, Kematian Dini Dan Efek Teratogenik Pada Tikus Putih.

Pada kesempatan ini disampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Puruhito Prof. Dr. Med. dr.atas kepercayaannya mengabulkan proposal penelitian ini untuk dilaksanakan dengan SK.Rektor No.729/JO3.2/PG/2005 Tanggal 15 Juli 2005.
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Prof.Dr.H Sarmanu,MS, Drh. atas kelancaran administrasi mulai dari proses pengajuan proposal sampai dengan pelaporan hasil penelitian ini.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof.Dr. Ismudiono, MS. Drh. Atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian ini.

Sebagai suatu karya manusia, sudah barang tentu ada beberapa kekurangan di beberapa laporan ini. Saran dan kritik yang konstruktif sangat diharapkan untuk pematangan peneliti sendiri agar laporan ini memberi manfaat kepada pihak-pihak yang berkepentingan.

Surabaya, Oktober, 2005

Peneliti

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
RINGKASAN.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang Masalah.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	3
I.3. Hipotesis Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1. Sistem Reproduksi Tikus Jantan.....	4
II.2. Alat Reproduksi Tikus Betina.....	4
II.3. Semen.....	6
II.4. Spermatozoa.....	7
II.5. Fertilisasi.....	9
II.6. Antifertilitas.....	10
II.7. Imunokontrasepsi.....	11
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	13
III.1. Tujuan Penelitian.....	13
III.2. Manfaat penelitian.....	13
BAB IV METODE PENELITIAN.....	14
IV.1. Tempat dan waktu Penelitian.....	14
IV.2. Alat – bahan Penelitian.....	14
IV.3. Variabel Penelitian.....	14
IV.4. Prosedur Penelitian.....	14
IV.5. Analisis Data.....	14
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	18
DAFTAR PUSTAKA.....	19



## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Persentase angka kebuntingan pada tikus putih yang di imunisasi dengan sperma .....	16

**DAFTAR LAMPIRAN**

**Halaman**

**Lampiran 1. Analisis Pengaruh Imunisasi Sperma Secara Subcutan  
Terhadap Angka Kebuntingan Pada Tikus Putih Betina ..... 22**

## BAB I PENDAHULUAN

### I.1. Latar Belakang Masalah :

Metode kontrasepsi hormonal seperti pil, implant dan suntikan depo progesterone bersifat mengganggu fungsi fisiologis endokrin pada poros hipotalamus-hipofisis-ovarium. Keluhan yang ditimbulkan karena pemakaian kontrasepsi tersebut bervariasi, dapat berupa timbulnya bercak hitam pada wajah, perubahan siklus haid yang menimbulkan ketidaknyamanan, kenaikan berat-badan meskipun masih dapat menimbulkan kehamilan. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan suatu penelitian yang nantinya diharapkan dapat menemukan suatu metode yang efektif dalam menghambat kehamilan tanpa efek samping apapun. Salah satu metode kontrasepsi yang dikembangkan saat ini adalah metode imunokontrasepsi atau vaksin kontrasepsi ( Alexander, 1993 ). Metode ini menggunakan bahan imunologis, salah satunya adalah protein spermatozoa. Kerja kontrasepsi tersebut adalah pembentukan respon imun tubuh yang dapat menghambat fertilisasi.

Spermatozoa mempunyai sifat sebagai antigen, adanya autoantigen seperti SCA ( Spermatozoa – Coating Antigen ), plasma membrane antigen, akrosomal antigen, sitoplasma dan mitokondria antigen dan lainnya ( Voisin, 1984 ). Imunisasi sperma telah terbukti telah memberikan respon produksi antibodi. Antibodi Imobilizing Spermatozoa dapat menyebabkan infertilitas baik pada laki-laki maupun wanita. Pada wanita antibodi antispermatozoa mempengaruhi kemampuan migrasi spermatozoa pada saluran reproduksi wanita dan beberapa proses dalam fertilisasi ( Hiroaki, S, 1996 ).

Menurut Patrico Morales ( 1996 ), spermatozoa mempunyai protein atau reseptor untuk ikatan dengan zona pelucida yaitu galactosyltransferase, D manosidase, protein



tyrosin kinase dan lektin. Ikatan spesifik spermatozoa pada zona pelucida dimediasi oleh molekul galaktosyltransferase pada permukaan kepala spermatozoa yang terikat pada O-linked Oligosacharida pada ZP3 dari zona pelucida, yang akan menginduksi proses reaksi akrosom pada spermatozoa berupa pelepasan isi akrosom secara exocytosis, hal ini berguna bagi spermatozoa untuk menembus zona pelucida ( Albert, B, et al, 1994 ).

Imunisasi spermatozoa akan menginduksi produksi antibodi antispermatozoa yang akan menyelubungi antigen pada kepala dan ekor spermatozoa, yang akan mengganggu proses kapasitasasi, sehingga akan menghambat terjadinya reaksi akrosom akibatnya kemampuan fertilisasi berkurang. Respon imun yang terbentuk akan mengurangi ikatan spermatozoa terhadap zona pelucida dan mengurangi jumlah embrio yang mencapai tahap blastosit ( King, dkk, 2001 ) dan merupakan penyebab utama imunological Infertility ( Krause, dkk, 2001 ). Hill ( 1993 ), berpendapat bahwa adanya respon imun yang ditimbulkan karena adanya produksi sitokin yang dihasilkan oleh sel T. Sitokin tersebut antara lain  $IFN\gamma$  , dan  $TNF\alpha$  yang diproduksi oleh Th1 yang akan menghambat motilitas spermatozoa dan perkembangan embrio. Sitokin tersebut juga mempengaruhi steroidogenesis, spermatogenesis dan fungsi sperma ( Nabet, dkk, 1997 ) proses fertilisasi, implantasi dan perkembangan embrio ( Vanko dan Sukhih, 1999; Wilkinson, dkk, 2003 ). Pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa imunisasi ekstrak testis tikus pada mencit betina mampu menurunkan jumlah foetus dalam setiap kebuntingan hewan coba ( Qatrina, B.W,2000).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin meneliti pengaruh imunisasi sperma terhadap angka kebuntingan, kematian dini dan efek teratogenik pada tikus putih.

**I.2. Rumusan Masalah :**

1. Apakah terdapat perbedaan terhadap angka kebuntingan pada tikus putih pada perlakuan imunisasi dan pada kelompok kontrol
2. Apakah terdapat perbedaan terhadap kematian dini pada tikus putih pada perlakuan imunisasi dan pada kelompok kontrol
3. Apakah terdapat perbedaan terhadap efek teratogenik pada tikus putih pada perlakuan imunisasi dan pada kelompok kontrol

**I.3. Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat perbedaan terhadap angka kebuntingan pada tikus putih pada perlakuan imunisasi dan pada kelompok kontrol
2. Terdapat perbedaan terhadap kematian dini pada tikus putih pada perlakuan imunisasi dan pada kelompok kontrol
3. Terdapat perbedaan terhadap efek teratogenik pada tikus putih pada perlakuan imunisasi dan pada kelompok kontrol

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Sistem Reproduksi Tikus Jantan.**

Alat reproduksi tikus jantan terdiri dari testis dan saluran-salurannya serta kelenjar asesoris. Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus yang mempunyai kemampuan memproduksi spermatozoa. Saluran reproduksi terdiri dari epididimis, vas deferens, ampula dan penis dimana di dalamnya terdapat uretra. Epididimis adalah suatu pembuluh yang berada dibagian dorsal testis, lanjutan dari duktus eferensia, terdiri dari 3 bagian yaitu caput, korpus dan kauda epididimis ( Salisbury dan Van Demark, 1985 ). Kelenjar asesoris atau pelengkap yang berkembang adalah kelenjar prostat yang terletak disekitar uretra dan kantong kencing. Kelenjar asesoris tersebut menghasilkan cairan yang merupakan media pembawa spermatozoa pada waktu ejakulasi.

#### **II.2. Sistem Reproduksi Tikus Betina**

Alat reproduksi mencit betina terdiri dari ovarium sebagai organ reproduksi primer yang menghasilkan sel telur serta hormon reproduksi betina yaitu estrogen dan progesterone, dilengkapi dengan saluran reproduksi sebagai organ reproduksi sekunder yang terdiri dari oviduk, uterus, servik, vagina dan vulva. Saluran-saluran reproduksi betina selain bertugas menerima telur yang diproduksi oleh ovarium juga menampung spermatozoa yang dipancarkan oleh alat kelamin jantan ( Hafez, 1993 ).

Ovarium berfungsi sebagai penghasil sel telur dan hormon reproduksi yaitu hormon steroid ( estrogen dan progesterone ) dan hormon non steroid yaitu inhibin ( Partodihardjo, 1987 ). Pada mencit, hormon-hormon ini disekresi oleh sel-sel

interstitial, korpus luteum , teka interna, dan mungkin juga oleh sel-sel granulose. Tikus mempunyai ovarium yang kecil berwarna kemerah-merahan dan diselubungi oleh membran jaringan penghubung yang transparan, disebut tunika albugenia. Pada tikus yang belum dewasa kelamin, permukaan ovariumnya rata dan licin. Setelah dewasa kelamin, dimana folikel dan korpus luteum mulai dihasilkan, maka permukaan ovarium terdapat bentukan nodul sehingga permukaan ovarium menjadi tidak rata ( Cook, 1983 ).

Tuba falopii atau oviduk merupakan saluran berpasangan yang berfungsi menyalurkan sel telur dari ovarium menuju tanduk uterus , merupakan tempat pembuahan atau fertilisasi sel telur dan spermatozoa yaitu pada bagian ampula. Di dalam tuba falopiii inilah terjadi kapasitasi spermatozoa, fertilisasi dan pembelahan embrio yang pertama ( Partodihardjo, 1987 ).

Uterus adalah saluran reproduksi yang berfungsi untuk menerima sel telur yang telah dibuahi dari tuba falopii, memberi makanan dan perlindungan bagi fetus, dan mendorong fetus ke arah luar pada saat kelahiran. Pada tikus, uterus memiliki dua buah servik, dua buah kornua yang terpisah secara sempurna, dan tanpa korpus uteri ( Hardjopranjoto, 1995 ). Dinding uterus terdiri dari suatu lapis membran mukosa atau endometrium, lapisan otot polos intermedian atau miometrium dan lapisan serosa bagian luar atau perimetrium ( Frandson, 1992 ).

Servik atau leher uterus merupakan sfingter otot polos yang kuat dan tertutup rapat, kecuali pada saat terjadi birahi atau pada saat kelahiran. Fungsi utama servik adalah menyumbat lumen uterus terhadap gangguan yang tidak diinginkan yang bersifat makroskopis maupun mikroskopis. Lumen sevik menyempit karena penjuluran-penjuluran selaput lendir yang mengarah ke lumen, penjuluran tersebut dikenal sebagai

cincin anuler. Lapisan epitel yang membatasi lumen leher rahim terdiri dari sel-sel epitel silindris, selaput lendirnya berkelenjar dan dindingnya selain berotot tebal juga berserat kolagen dan fibrous ( Hafez, 1993 ). Kelenjar-kelenjar servik merubah sifat sekresinya dari cair menjadi kental. Lendir kental ini berfungsi sebagai sumbat lumen servik, sehingga servik tertutup ( Partodihardjo, 1987 ).

Vagina merupakan organ reproduksi betina dimana semen biasanya disimpan dan juga merupakan tempat pengeluaran fetus dan plasenta selama proses kelahiran . Epitel dinding lumen vagina tersusun berlapis-lapis yang tebalnya berubah-ubah sesuai dengan siklus birahi hewan tersebut. Di dalam selaput lendir vagina kebanyakan berasal dari sekresi kelenjar servik ( Hafez, 1993 ).

### **II.3.Semen**

Semen atau air mani dari beberapa spesies hewan menunjukkan perbedaan sifat, volume, kekentalan, keasaman ( pH ), konsentrasi sel sperma, warna dan bau ( Hardijanto dan Hardjopranto, 1994 ). Semen diproduksi saat ejakulasi, terdiri atas bagian sel yaitu spermatozoa dan plasma semen. Spermatozoa berasal dari vas deferens dibagian caudal epididimis. Plasma semen berasal dari tubulus seminiferus dan terbentuk dari sekresi kelenjar asesoris . Kelenjar asesoris yang utama adalah vesikula seminalis, kelenjar prostata dan kelenjar bulboethralis ( kelenjar cowper ) ( Hunter, 1995 ).

Semen normal banyak sekali mengandung spermatozoa. Jumlah spermatozoa dalam semen untuk masing-masing hewan berbeda. Unsur-unsur mineral seperti Na, K, Ca, P, merupakan unsur anorganik yang terdapat pada sperma, sedangkan unsur-unsur organik biasanya dalam bentuk senyawa fruktosa, asam askorbik, asam sitrat, komponen



sulfhidril, beberapa asam amino, beberapa kompleks protein, kompleks enzim dan juga vitamin-vitamin yang larut dalam air ( Salisbury dan Van Demark, 1984 ). Semen terdiri dari dua bagian, sel spermatozoa atau disingkat sperma atau sel-sel kelamin jantan yang tersuspensi di dalam suatu cairan atau medium semigelatinous yang disebut plasma semen ( Ismudiono, 1999 ).

#### II.4.Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel gamet jantan yang diproduksi oleh tubulus seminiferus di dalam testes. Spermatozoa normal terdiri dari kepala, leher, bagian tengah dan ekor yang berbeda susunan kimiawinya. Pada dasarnya komposisi kimia yang terdapat dalam sel spermatozoa adalah asam nukleat , protein dan lipid ( Hafez, 2000 ). Spermatozoa merupakan sel struktur kompleks yang kaya akan protein yang dapat bertindak sebagai antigen. Antigen-antigen tersebut banyak terkandung dalam membran plasma maupun bagian lain dari spermatozoa yang dimungkinkan bisa menjadi target potensial untuk perkembangan vaksin kontrasepsi di masa depan ( Aitken, et al, 1998 ).

Menurut Yishiki et al ( 2004 ) dan Maslich ( 1992 ), spermatozoa bersifat sebagai antigen terhadap system imunologis tubuh dikarenakan :

1. Pada pertumbuhan dan perkembangan embrional , sistem imunologis membentuk toleransi terhadap “self antigen “ . Spermatozoa baru terbentuk jauh sesudah sistem imun terbentuk ( recognition ) oleh sistem imun tersebut.
2. Spermatozoa memiliki susunan genetik ( genetic make up ) yang berbeda dengan sel-sel somatik, sehingga sistem imun tidak pernah mengenal spermatozoa yang haploid

3. Spermatozoa tidak pernah berhubungan dengan sistem sirkulasi karena dibatasi oleh Blood Testes Barrier .

Sedangkan antigen dalam semen dapat bersifat ;

1. Hetero-antigen, yaitu apabila antigen disuntikkan pada spesies yang berbeda akan menghasilkan antibodi.
2. Auto atau Iso-antigen , yaitu apabila antigen disuntikkan pada dirinya sendiri, atau pada spesies yang sama tapi berbeda secara genetik , akan menghasilkan antibodi, yaitu masing-masing auto-antibodi atau iso-antibodi.

Antigen dalam spermatozoa yang bersifat auto-antigen adalah :

-Spermatozoa Coating Antigen (SCA)

merupakan molekul ekstraseluler ( misalnya laktoferin ) yang melekat pada spermatozoa selama dalam perjalanan di dalam saluran genital betina.

-Plasma membran antigen

Merupakan antigen potensial terbesar karena dapat langsung merangsang sel-sel imun yang bertanggung jawab terhadap aglutinasi spermatozoa , immobilisasi spermatozoa, toksisitas spermatozoa dan sitotoksitas.

-Akrosomal antigen

Mencakup glikoprotein, protein, akrosin dan enzim hyaluronidase

-Sitoplasma dan Mitokondria Antigen

Yang paling penting adalah LDH-X (LDHC4 ) yang bersifat auto-antigen dan menyebabkan beberapa tingkat infertilitas.

-Inti sel antigen

Merupakan antigen yang ada di dalam spermatozoa dan bersifat spesifik.

-Sejumlah antigen lain yang masih belum dapat diklasifikasikan

Beberapa antigen spermatozoa masih belum dapat diklasifikasikan atau mungkin bergabung dengan sel-sel lain ( Voisin, 1984 ).

Menurut Fayemi ( 2004 ), imunisasi dengan antigen spermatozoa akan menginduksi produksi antibodi antispermatozoa yang akan mengganggu proses kapasitas, mengurangi motilitas spermatozoa dan mencegah terjadinya fertilisasi.

## II.5. Fertilisasi

Fertilisasi atau pembuahan adalah peristiwa bergabungnya sebuah spermatozoa dengan sebuah ovum membentuk individu baru yang disebut zigot. Pada waktu proses fertilisasi, ovum masih terbungkus dengan banyak sel kumulus yang berasal dari folikel. Oleh karena itu, untuk terjadinya proses fertilisasi atau untuk dapat mencapai inti ovum, spermatozoa harus menembus : (1). Sel granulose yang ada disekeliling ovum. (2). Zona pelusida sebagai pembungkus ovum dan (3). menembus membran vitelin(Hardjopranto, 1995 ).

Sel spermatozoa setelah memasuki ampulla dari tuba falopii menjadi semakin aktif bergerak. Ini disebabkan oleh adanya zat yang menyebabkan pergerakan spermatozoa menjadi semakin aktif di dalam cairan tuba falopii, zat tersebut antara lain adalah bikarbonat, asam amino bebas, oksigen , karbohidrat,steroid, CO<sub>2</sub> dan nukleotida yang semuanya dihasilkan oleh sel mukosa tuba falopii ( Partodihardjo, 1987 ). Dalam proses fertilisasi selain sel spermatozoa akan menembus sel granulose atau sel kumulus karena pergerakannya sendiri, juga karena adanya enzim hialuronidase yang mampu menghancurkan sel kumulus. Secara normal, hanya satu spermatozoa yang memasuki

ovum, hal ini karena zona pelusida mengalami perubahan setelah masuknya spermatozoa pertama dan menghalangi masuknya spermatozoa berikutnya. Perubahan inilah yang disebut reaksi zona. Pada ovum tikus betina, tempat masuknya spermatozoa mudah dideteksi oleh karena terdapat celah pada zona pelusida. Diduga reaksi pencegahan terhadap spermatozoa berikutnya akibat adanya perubahan struktur zona pelusida yang dimulai dari tempat masuknya spermatozoa kemudian meluas kesemua daerah zona pelusida, dan perubahan ini terjadi paling lambat pada daerah yang berlawanan dengan tempat masuknya spermatozoa pertama sehingga spermatozoa berikutnya mempunyai kesempatan masuk ke daerah tersebut. Fase terakhir penetrasi ovum meliputi pertautan kepala spermatozoa pada permukaan vitelus. Membran plasma spermatozoa menempel pada membran plasma ovum, pada daerah penempelan tersebut kedua membran plasma melebur sehingga terjadi persatuan antara inti dari spermatozoa dan inti dari ovum. Kepala spermatozoa tampak membengkak, vitelus berkurang volumenya dan diakhiri dengan penyatuan pronukleus jantan dan betina ( Toelihere, 1981 ; Suhana dan Rafiah, 1982).

## **II.6. Antifertilitas**

Antifertilitas merupakan suatu bahan yang dapat menghambat secara fisiologis system reproduksi hewan betina maupun jantan dengan tujuan untuk mencegah kebuntingan. Suatu bahan antifertilitas yang dapat menghambat terjadinya fertilisasi disebut kontrasepsi, sedangkan apabila bekerja sesudah fertilisasi disebut abortivum ( Rahayu, 1988). Tujuan utama pengembangan anti fertilitas adalah untuk membuat imunisasi aktif terhadap spermatozoa, oosit, zigot, embrio dini ( pra implantasi ) maupun terhadap hormon Human Chorionic Gonadotrophin atau HCG ( Jones, 1996, Kaul, et al,

1996 dalam Lar, 2003 ), namun ketiga metode yang terakhir nampaknya akan menimbulkan problem etika social karena dapat dikategorikan sebagai abortivum. Penelitian pada hewan coba bahwa agen imunologis langsung bekerja pada gamet dalam mencegah fertilisasi, sehingga tidak tergolong abortivum. Bahan yang dapat digolongkan sebagai antifertilitas dapat bekerja pada berbagai posisi yaitu poros hipotalamus-hipofisa anterior, ovarium, tuba falopii, uterus, vagina pada vagina dan proses spermatogenesis pada pria ( William, 1986, yang dikutip Mulyati,dkk, 2001 ).

Antifertilitas yang bekerja pada ovarium dapat mempengaruhi pembentukan folikel, perkembangan folikel dan proses ovulasi. Antifertilitas yang bekerja pada tuba folopii dapat mempengaruhi transportasi ovum maupun spermatozoa dan proses fertilisasi serta transportasi zigot. Antifertilitas yang bekerja pada uterus mempengaruhi implantasi, organogenesis dan perkembangan janin. Antifertilitas yang bekerja pada hipotalamus-hipofisa mempunyai aktifitas gonadotropin dengan mekanisme umpan balik negatif, dan pada hipotalamus yang menyebabkan penurunan Gonadotropin Releasing Hormon (Gn-RH) ( Lee and Chi, 1985 ).

## **II.7.Imunokontrasepsi**

Imunokontrasepsi merupakan kontrasepsi yang diberikan secara subkutan dengan menggunakan bahan yang bersifat antigen yang bertujuan untuk mencegah konsepsi ( Hamamah et, al, 1997 ). Kandidat antigen spesifik yang telah diidentifikasi untuk imunokontrasepsi adalah antigen spermatozoa, antigen zona pelusida dan antigen humoral ( Feng, et al, 1999 ).

Prinsip dasar imunokontrasepsi adalah menggunakan mekanisme pertahanan imun tubuh untuk menghasilkan perlindungan terhadap kehamilan atau kebuntingan yang tidak direncanakan tanpa mengganggu fungsi fisiologis hormonal dan system reproduksi. Tujuan utama pengembangan imunokontrasepsi adalah untuk membuat imunisasi aktif terhadap spermatozoa, sel telur, zoot, embrio dini maupun Human Chorionic Gonadotropin ( HCG ). Keberhasilan imunokontrasepsi ditentukan dari kemampuannya mencegah fertilisasi tanpa mengganggu kesehatan pemakai. Menurut Gupta, et al ( 1997 ) imunokontrasepsi dengan menggunakan zona pelusida dari oosit mature tidak menimbulkan perubahan pada siklus birahi, profil hormonal dan perkembangan folikel pada ovarium.

Imunokontrasepsi dimasa mendatang akan menjadi suplemen yang sangat penting pada program keluarga berencana, hal ini disebabkan karena spesifisitas yang tinggi, efek samping rendah, harga yang lebih murah dan pemakaiannya yang lebih mudah dan tidak sesering alat kontrasepsi hormonal yang ada saat ini ( Naz, et al, 1995, Paterson, et al, 1999 ).



## **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **III.1. Tujuan Penelitian**

- a. Untuk mengetahui persentase kebuntingan pada tikus putih setelah imunisasi dengan sperma
- b. Untuk mengetahui persentase kematian dini pada tikus putih setelah imunisasi dengan sperma
- c. Untuk mengetahui efek teratogenik pada tikus putih setelah imunisasi dengan sperma

#### **III.2. Manfaat Penelitian**

Dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh bahan yang bersifat imunogen yang dapat digunakan sebagai imunokontrasepsi.

**BAB IV****METODE PENELITIAN****IV.1. Tempat Dan Waktu Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dilaboratorium Inseminasi Buatan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, yang dilaksanakan selama 5 bulan yaitu bulan Juni sampai Oktober 2005.

**IV.2. Alat dan Bahan Penelitian**

Mikroskop, tabung reaksi, tabung sentrifuse dan alat sentrifuse, Erlenmeyer, beker glas, spuit disposibel 1 ml, 5 ml, aquadest, Na Cl fisiologis, PBS ( Phosphat Buffer Saline ), kandang tikus, tikus dan betina.

**IV.3. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : sperma kambing
2. Variabel kendali : tikus putih jantan dan betina
3. Variabel terikat : angka kebuntingan, kematian dini dan efek teratogenik

**IV.4. Prosedur Penelitian.**

Penelitian ini termasuk penelitian di laboratorium dan dilapangan. Rancangan penelitian ini termasuk Rancangan Acak Lengkap.

**Prosedur Penelitian****1. Pembuatan suspensi sperma**

Semen kambing ditampung dengan vagina buatan kemudian dilakukan pemisahan spermatozoa dari cairan plasmanya dengan cara sentrifugasi. Semen yang sudah ditampung diambil sebanyak 0,25 ml dimasukkan dalam tabung sentrifus dan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Cairan bagian atas dibuang dan peletnya ditambah dengan PBS ( Phosphat Buffer Saline ).



## 2. Imunisasi Pada Tikus Putih Betina

30 ekor tikus putih betina dibagi menjadi 3 kelompok secara acak

Kelompok I : sebagai kontrol ( imunisasi dengan Na Cl fisiologis )

Kelompok II : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/ 2 hari sekali selama 21 hari.

Kelompok III : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/setiap hari selama 21 hari.

Kemudian dilakukan perkawinan dengan tikus putih dengan perbandingan 1 tikus putih jantan dikawinkan dengan 2 ekor tikus putih betina.

Untuk mengetahui kebuntingan dan efek teratogenik dilakukan 21 hari setelah imunisasi.

## 3. Imunisasi Pada Tikus Putih Betina untuk melihat kematian dini

30 ekor tikus putih betina dibagi menjadi 3 kelompok secara acak.

Kelompok I : sebagai kontrol ( imunisasi dengan Na Cl fisiologis )

Kelompok II : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/ 2 hari sekali selama 21 hari

Kelompok III : imunisasi dengan 0,1 ml suspensi sperma sc/setiap hari selama 21 hari

Kemudian pada akhir imunisasi , semua tikus putih betina dikawinkan dengan tikus putih jantan dengan perbandingan 1 tikus putih jantan dikawinkan dengan 2 ekor tikus putih betina. Selanjutnya dilakukan pembedahan 3 hari setelah perkawinan untuk melihat adanya kematian dini.

## IV.5 Analisa Data

Data yang diperoleh dicatat dan ditabulasikan dan untuk mengetahui angka kebuntingan dianalisa dengan Q Kuadrat ( Santoso dan Fandy, 2001 ).

**BAB V****HASIL DAN PEMBAHASAN**

**V.1. Hasil angka kebuntingan pada tikus putih yang disuntik dengan suspensi sperma dapat dilihat pada table 1 berikut :**

Tabel 1. Persentase angka kebuntingan pada tikus putih

Kelompok Perlakuan	Bunting		Tidak Bunting	
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
P0	10	100	0	0
P1	10	100	0	0
P2	7	70	3	30

Keterangan :

Po: Kelompok kontrol yaitu tikus yang disuntik dengan Na Cl fisiologis

P1: Kelompok yang disuntik dengan suspensi sperma 0,1 ml/sc/2 sekali hari selama 21 hari

P2: Kelompok yang disuntik dengan suspensi sperma 0,1 ml/sc/setiap hari selama 21 hari

Dari table 1 dapat dilihat bahwa persentase kebuntingan pada kelompok kontrol, perlakuan I, perlakuan II berturut-turut adalah 100%, 100% dan 70%. Pada kelompok II ( penyuntikan setiap hari selama 21 hari ) menunjukkan penurunan persentase angka kebuntingan sebesar 30% jika dibanding kelompok kontrol dan kelompok I. Dengan analisis statistik ( Lampiran I ) antara kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang nyata (  $p < 0,05$  ).

**V.2. Hasil kematian embrio dini pada tikus putih yang disuntik dengan suspensi sperma**

Pada penelitian ini tidak terjadi kematian embrio dini pada tikus putih yang disuntik dengan suspensi sperma baik pada kelompok I maupun pada kelompok II.

### **V.3. Hasil kejadian teratogenik pada tikus putih yang disuntik dengan suspensi sperma**

Pada penelitian ini tidak terjadi teratogenik pada tikus putih yang disuntik dengan suspensi sperma baik pada kelompok I maupun pada kelompok II.

Hal ini mungkin terjadi karena penyuntikan suspensi sperma oleh sel atau jaringan dalam tubuh dianggap sebagai zat asing yang disebut sebagai antigen dan antigen tersebut akan merangsang timbulnya respon imun dalam tubuh, baik respon imun non spesifik maupun respon imun spesifik ( Kresno, 1996 ). Pada perlakuan I dan perlakuan II masih dapat menimbulkan kebuntingan, hal ini dimungkinkan karena rendahnya dosis yang diberikan dengan interval waktu yang kurang tepat sehingga kurang optimal dalam menimbulkan antibodi antispermatozoa sehingga tidak mampu memblok semua spermatozoa yang masuk dalam saluran kelamin betina. Pada kelompok III sebesar 30% tidak mengalami kebuntingan ,hal ini mungkin antibodi terhadap spermatozoa dapat menutup seluruh reseptor pada permukaan spermatozoa sehingga spermatozoa tidak mengenal sel telur sehingga fusi antara spermatozoa dengan sel telur tidak terjadi sehingga terjadi kegagalan fertilisasi.

Kemungkinan tidak terjadinya kematian dini pada tikus putih yang disuntik dengan suspensi sperma karena bahan yang disuntikkan tersebut mempunyai efek antifertilitas pada poros hipotalamus-hipofisa anterior sehingga akan mempengaruhi ovarium yang selanjutnya mempengaruhi pembentukan folikel dan ovulasi tidak terjadi. Jadi bahan yang disuntikkan tersebut tidak mempunyai efek pada pre implantasi sehingga bahan tersebut tidak bersifat abortivum.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **VI. Kesimpulan**

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Imunisasi sperma pada tikus putih betina secara subcutan menurunkan angka kebuntingan
2. Imunisasi sperma pada tikus putih betina secara subcutan tidak berpengaruh terhadap kematian dini
3. Imunisasi sperma pada tikus putih betina secara subcutan tidak berpengaruh terhadap efek teratogenik.

#### **VI.2. Saran**

Saran penelitian ini adalah perlu ditingkatkan lagi dosis yang digunakan sehingga didapat angka tidak terjadinya kebuntingan 100%.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Albert, B, Bray, D, Lewis, J dan Raff, M, 1994. *Molecular Biology of The Cell*, Garland Publishing. New York. London.
- Bellanti, J.A, 1993. *Imunologi III. Edisi Bahasa Indonesia*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Deborah, J.B dan Patricia, M.S, 1992. *Molecular Mechanisms of Fertilization and Action of Development*. *Animal Reproduction Science*. 28. pp.79-86.
- Evans, G dan W.M.C. Maxwell, 1987. *Salomon Artificial Insemination of Sheep and Goat*. Department of Animal Husbandry. Sydney.
- Feng, H; J.I sandlow, AE Sparks and A. Sandra. 1999. *Development of Imunocontraception Vaccine. Current Status*. *J.Reprod.med*. 44 (9) : 756-765.
- Goodman, J.W, 1994. *Immunogens and Antigens In Daniel P.S, Abba, I.T and Tristran, G.P. Ed. Basic and Clinical Immunology*. Appleton and lange. Norwalk. Connecticut.
- Gordon, I, 1994. *Laboratory Production of Cattle Embryos*. CAB. International Cambridge.
- Gupta, S.K; P.Jethanandani; A, Afzalpurkar, R.Kaul and R.Santhanan, 1997. *Prospect of Zona Pellucida Glycoprotein as Immunogens for Contraceptive Vaccine*. *Hum.Reprod*. New Delhi India. Jul-Augus, 3(4) : 311-324.
- Hafez, E.S.E, 1993. *Reproduction in Farm Animal 6<sup>th</sup>.ed*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hamamah, S, D.Royere, M, Jean and H.Lucas, 1997. *The Future of Male Contraception by Preventing Gamete Interaction*. *Hum.Reprod*. 25(2) .
- Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994. *Ilmu Inseminasi Buatan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Hardjopranjoto, S, 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hiroaki, S; Yoshiyuki, T; Koji, Y, 1996. *Production of Human Sperm Immobilizing antibodies in Severe Combined Immunodeficient ( SCID ) mice Reconstituted with Human Peripheral Bloodlymphocytes from Infertile Women*. *American Journal of Reproductive Immunology*.
- Hunter, R.H.F, 1995. *Fisiologi dan Tehnologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Edisi I. ITB. Bandung.

- Ismudiono, 1999. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Laboratorium Fisiologi Reproduksi. Jurusan Reproduksi dan Kebidanan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga .Surabaya.
- Kresno, B.S, 1996. Imunologi. Diagnosa dan Prosedur Laboratorium. Edisi Ketiga. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.Jakarta.
- Lar,I, 2003. Identifikasi Reaksi Protein Reseptor Pada Zona Zona Pelusida dan Spermatozoa kambing dengan Teknik Imunofluorescen. Skripsi. Universitas Airlangga. Hal.3,9-13.
- Mancini, R.E dan Andrada, 1978. Immunological factors. In Human Male and Female Infertility. In Max Samter. Ed. Immunological Diseases .3th.Ed.Vol.II. Little Brown and Company United State of America. 1308-1324.
- Maslich, D,1992. Peranan Antibodi Antispermatozoa ( Antisperm Antibody :ASA ) Terhadap Timbulnya Infertilitas Pada Pria. Laporan Penelitian .Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Mulyati,S, Imam Mustofa dan S.Utama, 2001. Uji Potensi Zona Pelusida Fraksi 3 (ZP3) kambing Sebagai Bahan Antifertilitas. Laporan Dik Rutin. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 19-25.
- Naz,R.K;A Scco, O.Sigh and R.Pal. 1995. development of Contraceptive Vaccine for Human Using Antigens Derived from Gametes (Spermatozoa and Zona pellusida ) and Hormones ( Human Chorionic Gonadotrophin): Current Status. Hum.Reprod.1 (10): 1-18.
- Partodihardjo, S, 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Edisi III. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Patricio,M dan Miguel,I, 1999. Interaction of Human Spermatozoa with the Zona Pelucida of Oocyte. Home Journal Lybrary Index.
- Qatrina,B.W, 2000.Pengaruh Pemberian Ekstrak Testis Tikus ( Ratus Norvegicus ) Terhadap Fertilitas Mencit Betina ( Mus Musculus ).
- Rahayu, L. 1988. efek Antifertilitas salanum momosum pada mencit betina. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya
- Santoso,S dan Fandy,T, 2001. Riset Pemasaran. Konsep dan Aplikasi dengan SPSS. P.T. Gramedia. Jakarta.
- Suhana,N dan R.T.Rafiah, 1982. Diferensiasi. Embriologi Dalam Tingkat Selluler, Molekuler. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Toelihere,M.R, 1979. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkaasa Bandung.

- Toelihere, M.R, 1981. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung.
- Voisin, G.A, 1984. Active Immunization Against Sperm and Sperm Autoantigen in. D.B. Crighton and Immunological Aspect of Reproduction in Mammals, Butter Worth. London.

Perlakuan \* Kebuntingan Crosstabulation

			Kebuntingan		Total
			-	+	
Perlakuan	P0	Count	0	10	10
		Expected Count	1,0	9,0	10,0
		% within Perlakuan	,0%	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	,0%	37,0%	33,3%
		% of Total	,0%	33,3%	33,3%
	P1	Count	0	10	10
		Expected Count	1,0	9,0	10,0
		% within Perlakuan	,0%	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	,0%	37,0%	33,3%
		% of Total	,0%	33,3%	33,3%
	P2	Count	3	7	10
		Expected Count	1,0	9,0	10,0
		% within Perlakuan	30,0%	70,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	100,0%	25,9%	33,3%
		% of Total	10,0%	23,3%	33,3%
Total	Count	3	27	30	
	Expected Count	3,0	27,0	30,0	
	% within Perlakuan	10,0%	90,0%	100,0%	
	% within Kebuntingan	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	10,0%	90,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6,667 <sup>a</sup>	2	,036
Likelihood Ratio	7,288	2	,026
Linear-by-Linear Association	4,833	1	,028
N of Valid Cases	30		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,00.



Warnings

No measures of association are computed for the crosstabulation of Perlakuan \* Kebuntingan. At least one variable in each 2-way table upon which measures of association are computed is a constant.

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Perlakuan * Kebuntingan	20	66,7%	10	33,3%	30	100,0%

Perlakuan \* Kebuntingan Crosstabulation

			Kebuntingan	Total
			+	
Perlakuan	P0	Count	10	10
		Expected Count	10,0	10,0
		% within Perlakuan	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	50,0%	50,0%
		% of Total	50,0%	50,0%
P1	P1	Count	10	10
		Expected Count	10,0	10,0
		% within Perlakuan	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	50,0%	50,0%
		% of Total	50,0%	50,0%
Total	Total	Count	20	20
		Expected Count	20,0	20,0
		% within Perlakuan	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	100,0%	100,0%
		% of Total	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. <sup>a</sup>
N of Valid Cases	20

a. No statistics are computed because Kebuntingan is a constant.

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Perlakuan * Kebuntingan	20	66,7%	10	33,3%	30	100,0%

## Perlakuan \* Kebuntingan Crosstabulation

			Kebuntingan		Total
			-	+	
Perlakuan	P0	Count	0	10	10
		Expected Count	1,5	8,5	10,0
		% within Perlakuan	,0%	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	,0%	58,8%	50,0%
		% of Total	,0%	50,0%	50,0%
P2	Count	3	7	10	
	Expected Count	1,5	8,5	10,0	
	% within Perlakuan	30,0%	70,0%	100,0%	
	% within Kebuntingan	100,0%	41,2%	50,0%	
	% of Total	15,0%	35,0%	50,0%	
Total	Count	3	17	20	
	Expected Count	3,0	17,0	20,0	
	% within Perlakuan	15,0%	85,0%	100,0%	
	% within Kebuntingan	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	15,0%	85,0%	100,0%	

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,529 <sup>b</sup>	1	,060		
Continuity Correction <sup>a</sup>	1,569	1	,210		
Likelihood Ratio	4,691	1	,030		
Fisher's Exact Test				,211	,105
Linear-by-Linear Association	3,353	1	,067		
N of Valid Cases	20				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,50.

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Perlakuan * Kebuntingan	20	66,7%	10	33,3%	30	100,0%

## Perlakuan \* Kebuntingan Crosstabulation

			Kebuntingan		Total
			-	+	
Perlakuan	P1	Count	0	10	10
		Expected Count	1,5	8,5	10,0
		% within Perlakuan	,0%	100,0%	100,0%
		% within Kebuntingan	,0%	58,8%	50,0%
		% of Total	,0%	50,0%	50,0%
P2	Count	3	7	10	
	Expected Count	1,5	8,5	10,0	
	% within Perlakuan	30,0%	70,0%	100,0%	
	% within Kebuntingan	100,0%	41,2%	50,0%	
	% of Total	15,0%	35,0%	50,0%	
Total	Count	3	17	20	
	Expected Count	3,0	17,0	20,0	
	% within Perlakuan	15,0%	85,0%	100,0%	
	% within Kebuntingan	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	15,0%	85,0%	100,0%	

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,529 <sup>b</sup>	1	,060		
Continuity Correction <sup>a</sup>	1,569	1	,210		
Likelihood Ratio	4,691	1	,030		
Fisher's Exact Test				,211	,105
Linear-by-Linear Association	3,353	1	,067		
N of Valid Cases	20				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,50.