

1. CHLAMYDIA TRACHOMATIS
2. SEMEN
IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DISERTASI

**PENGARUH INFEKSI *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*
DI URETRA TERHADAP KUALITAS SEMEN
(STUDI EKSPERIMENTAL *IN VITRO*)**

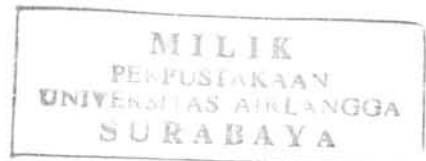
KK
Dis k 7/02
Noe
p.



Tjandrakirana M.Sjaifullah Noer

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

1998



**PENGARUH INFEKSI *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*
DI URETRA TERHADAP KUALITAS SEMEN
(STUDI EKSPERIMENTAL *IN VITRO*)**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Ilmu Kedokteran
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga

Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H, Ph.D.

Telah dipertahankan di hadapan
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga
Pada hari Selasa
Tanggal : 15 Desember 1998
Pukul : 10.00 WIB



Oleh :

Tjandrakirana M. Sjaifullah Noer
NIM : 099411642-D


**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

1998

Disertasi telah disetujui
Pada Tanggal 30 Desember 1998

Oleh :

Promotor



Prof. Dr. F.X. Arif Adimoelja, dr., M.Sc.
NIP : 130128201

Ko-promotor



Prof. H. Arjatmo Tjokronegoro, dr., Ph.D.
NIP : 130344928

PROMOTOR : Prof. Dr. F.X. Arif Adimoelja, dr., M.Sc.

KO PROMOTOR : Prof. H. Arjatmo Tjokronegoro, dr., Ph.D.

Telah diuji pada ujian tahap I

Tanggal 18 Nopember 1998

PANITIA PENGUJI DISERTASI TAHAP I

Pendidikan Program Doktor Pada Program Pascasarjana

Ketua : Prof. H.R. Prajitno Prabowo, dr., DSOG

Anggota : 1. Prof. Dr. F.X. Arif Adimoelja, dr., M.Sc.
2. Prof. H. Arjatmo Tjokronegoro, dr., Ph.D.
3. Prof. IGB. Amitaba, drh.
4. Prof. Atasijati Idajadi, dr.
5. Prof. Dr. Kontjoro Soehadi, dr.
6. Prof. Dr. OS. Tendean, dr.
7. Widodo J. Pudjihardjo, dr., M.S., MPH., Dr.PH.
8. Aucky Hinting, dr., Ph.D.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
Nomor : 9160 /JO3/PP/1998
Tanggal: 23 Nopember 1998

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan rasa syukur dan terima kasih yang tiada terhingga saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena perkenannya maka penulisan disertasi untuk memenuhi persyaratan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga dapat saya selesaikan.

Terima kasih kepada Pemerintah Republik Indonesia melalui Tim Manajemen Program Doktor, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah memberikan dana untuk pendidikan.

Kepada Rektor Universitas Airlangga Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H, Ph.D. dan mantan Rektor Prof. H. Bambang Rahino, dr., saya mengucapkan terima kasih atas izin yang diberikan kepada saya untuk dapat melanjutkan pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Terima kasih kepada Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. H. Soedijono Tirtowidardjo, dr., yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Kepada Prof. Dr. F. X. Arif Adimoelja, dr., M.Sc., saya mengucapkan terima kasih atas kesediaan beliau sebagai promotor dan memberikan bimbingan, sejak saya mengikuti pendidikan Strata 2, spesialisasi andrologi dan pendidikan Program Doktor hingga penyelesaian penulisan disertasi ini.

Kepada Prof. H. Arjatmo Tjokronegoro, dr., Ph.D., saya mengucapkan terima kasih atas kesediaan beliau sebagai ko promotor dan memberikan bimbingan selama pendidikan hingga penyelesaian penulisan disertasi ini.

Terima kasih kepada Rektor IKIP Surabaya Prof. Toho Cholik Mutohir, Drs.,M.A.,Ph.D. dan mantan Rektor H.Soerono Martorahardjo, Drs. ; Dekan MIPA Hartono, Drs. serta mantan Dekan Koepono, Drs. yang telah memberikan ijin kepada saya untuk dapat melanjutkan pendidikan pada Program pascasarjana Universitas Airlangga.

Ucapan terima kasih kepada staf pengajar di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Bambang Rahino, dr. ; Prof. Amitaba, drh; Prof. Sutandyo Wignyosubroto ; Prof. Abdul Gani, SH., M.S. ; Prof. Glinka Prof. Eddy Pranowo Soediby, dr., MPH. ; Prof. Dr. Noor Rachman, dr. ; Prof. Dr. Pitono Soeparto, dr., DSAK. ; Prof. Dr. Thomas Kardjito, dr. ; Prof. Atasiati Idajadi, dr. ; Prof. Dr. F.X. Arif Adimoelja, dr., M.Sc. ; Prof. H. Arjatmo Tjokronegoro, dr., Ph.D. ; Prof. Dr. PG. Konthen, dr. ; Prof. Dr. Joes Priatna Dahlan, dr. ; Fuad Amsyari, dr., MPH., Ph.D. ; Dr.M.Zainuddin, Apt. ; Dr.Theodorus I Setiawan, dr. ; Dr.Siti Pariani, dr. ; Dr.Suhartono Taat Putra, dr. ; Widodo Pudjirahardjo, dr.,M.S.,MPH.,DrPH ; Dr. Judayana, dr. dan Aucky Hinting, dr., Ph.D.

Kepada Prof. Atasijati Idajadi, dr., saya mengucapkan terima kasih atas kesediaan beliau sebagai konsultan dan memberikan bimbingan selama saya melakukan penelitian.

Kepada Widodo Pudjirahardjo, dr, M.S., MPH, DrPH., saya mengucapkan terima kasih atas kesediaannya sebagai konsultan dan memberikan bimbingan tidak hanya dalam bidang statistik namun sampai penyelesaian penulisan disertasi ini.

Terima kasih Kepada Aucky Hinting, dr, Ph.D. atas kesediaannya sebagai konsultan dan memberikan bimbingan sejak saya mengikuti

pendidikan Strata 2, spesialisasi andrologi, hingga penyelesaian penulisan disertasi ini. Terima kasih kepada Devi A Hinting, Ir. dan para analis, yang telah membantu melakukan penelitian di laboratoriumnya.

Kepada Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Prof. M. Dikman Anggsar, dr., saya mengucapkan terima kasih atas perkenannya melakukan penelitian di poliklinik Andrologi.

Terima kasih kepada Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Andrologi, Prof. Dr. Koentjoro Soehadi, dr. dan para sejawat di poliklinik Andrologi, khususnya Onny P. Sono, dr., Tjahjo T, dr, M.S., Lanny, dr, M.S., dan saudara Sri Rahayu, atas bantuannya selama saya melakukan penelitian.

Terima kasih kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Pasuran, khususnya Kasi P2 dan Kepala Puskesmas Prigen beserta staf, telah memberikan izin dan bantuannya dalam penelitian awal

Terima kasih kepada Kepala Dinas Kesehatan Kodya Surabaya, khususnya Kasi P2 yang memberikan izin untuk melakukan penelitian di daerah Putat jaya. Saya sampaikan pula ucapan terima kasih kepada sejawat Susi Nugroho, dr., Ayu Koentjoro, dr. dan para medis di Putat jaya.

Terima kasih kepada Kepala Laboratorium Kesehatan Surabaya, khususnya Anna, Dra., atas bantuannya selama saya melakukan penelitian.

Terima kasih kepada Kepala Pusat Veteraria Surabaya, khususnya Endang Pudjiatuti, drh. dan staf yang membantu saya melakukan penelitian.

Terima kasih kepada sejawat Andriani, Dra. dan para analis seksi imunologi dan endokrinologi di Laboratorium Prodia Jl. Bogowonto Surabaya, atas bantuannya dalam analisis spesimen.

Kehadapan ayahanda Doerjadibrata, dr. dan almarhumah ibunda Prof. Moertiningroem, dr. yang mulia, saya menghaturkan terima kasih yang tiada terhingga atas segala bimbingan yang tulus penuh kasih sayang dan doanya serta bantuan moril dan materiel sejak lahir sampai sekarang, bahkan sampai saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Kehadapan mertua saya, ayahanda dan ibunda Mohammad Noer yang mulia, saya menghaturkan terima kasih atas segala bantuan moril dan materiel serta doanya, hingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Untuk adik-adik kandung dan ipar, saya mengucapkan terima kasih atas doanya, khusus adik Dewi, dr., Ira, dr. dan Tjahjono R, dr. yang telah membantu dalam pengambilan spesimen untuk penelitian ini.

Saya ucapkan terima kasih untuk sejawat Bundi Widowati, drg, MS., Iswanto, dr, dan Lukas Budipramana, Drs, MS yang membantu membuat dokumen serta nanda Sigit Wibowo yang membantu pengetikan naskah ini.

Dengan tulus saya mengucapkan terima kasih kepada suami yang tercinta M. Sjaifullah Noer, dr., DSAK, dengan doanya yang tulus dan penuh kasih telah memberikan perhatian hingga saya mencapai jenjang pendidikan Strata 3. Dengan rasa sayang mama ucapkan terima kasih kepada ananda Rizki Noer, Fikri Noer serta Shanti Noer yang tercinta atas kesediaanmu menghantarkan, membantu membuat dokumentasi dan pengetikan penulisan ini, dan dengan kesibukan ini mama minta maaf hingga kalian merasa kurang mendapat perhatian

Akhirnya saya mohonkan doa kepada Tuhan yang Maha Esa, agar melimpahkan rahmatNya kepada semua pihak yang telah membantu saya.

RINGKASAN

Infeksi pada traktus reproduksi atau pada traktus genitalia merupakan penyebab infertilitas pada pria sekitar 10%. Meskipun angka ini relatif rendah, tetapi merupakan urutan kedua setelah varikokel.

Salah satu mikroorganisme sebagai penyebab infeksi adalah *Chlamydia trachomatis*. *Chlamydia* merupakan mikroorganisme parasit obligat intraseluler. Memiliki badan retikuli yang tidak infeksius tetapi dapat berkembang biak dan badan elementer yang bersifat infeksius. Pada dinding selnya terdapat lipopolisakarida yang mempunyai dua sifat, yaitu bersifat sebagai endotoksin yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel inang dan bersifat antigenik yang mampu menimbulkan respon imunologik tubuh (Scachter, 1991).

Fertilitas pada pria dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain faktor anatomi dan fungsi traktus reproduksi termasuk kelenjar aksesori, faktor hormon reproduksi dan kualitas maupun kuantitas semen.

Semen atau sperma adalah suatu suspensi plasma semen yang di dalamnya terdapat spermatozoa, epitel dan flora normal (Hafez, 1977). Dalam suspensi ini spermatozoa terlindung dari sel imunologis sistemik. Beberapa peneliti membuktikan adanya mikroorganisme patogen di dalam semen dapat mempengaruhi motilitas, morfologis dan konsentrasi spermatozoa, pH, volume, serta viskositas semen (Kohn, *et al.*, 1998 ; Menkveld dan Kruger, 1998).

Telah dibuktikan bahwa *Chlamydia trachomatis* dapat mencemari semen (Kruse, *et al.*, 1990 ; Radouni, *et al.*, 1996 ; Bollmann, *et al.*, 1998). Cooper (1993) dan Johansson, *et al.* (1997) melakukan eksperimen *in vitro* pada traktus

genitalia tikus dan *murine* yang dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*, untuk membuktikan pengaruh kontaminasi ini terhadap kualitas spermatozoa.

Berdasarkan uraian tersebut, maka telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mempelajari cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa dan mempelajari hubungan infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra dengan infertilitas.

Hipotesis penelitian menyatakan bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen dapat melekat dan merusak akrosom serta membran spermatozoa hingga menyebabkan kerusakan morfologis spermatozoa. Mempengaruhi motilitas spermatozoa dan reaksi akrosom serta menurunkan pH dan viskositas semen. Infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra pria meningkatkan titer IgA total, IgG total, IgM total dan ASA IgG dalam semen hingga mempengaruhi motilitas spermatozoa, serta ada korelasi positif antara ASA IgG dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*. Untuk membuktikan hipotesis tersebut, maka penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap.

1. Tahap kultur (jaringan) *Chlamydia trachomatis*

Penelitian pada tahap ini bertujuan untuk mendapatkan spesies *Chlamydia trachomatis* yang dipergunakan pada penelitian eksperimen *in vitro*. Jaringan yang digunakan sebagai media kultur adalah *yolk sac* dalam telur ayam bertunas, yang berumur tujuh hari dengan jenis ayam ras campuran budidaya yang bebas dari penyakit (*Specific Patogenic Free =SPF*).

Sampel kultur diambil dari jaringan endoservikal wanita yang telah didiagnosis *Chlamydia trachomatis* positif oleh tim gabungan Kanwil Depkes Kodya Surabaya, RSUD Dr. Soetomo dan FK Unair. Penelitian tim tersebut

menggunakan metode *Elisa* dan memberikan terapi pada penderita serta melakukan pemeriksaan ulang setelah mendapat pengobatan. Pada penelitian ini, sebelum kultur dibuat preparat hapusan dari *swab* endoservikal dengan metode *Giemsa* dan setelah kultur dilakukan pemeriksaan ulang dengan *Giemsa*, sedang untuk spesifitas spesiesnya menggunakan *iodine*.

Hasil kultur 16 sampel, ternyata yang tumbuh sebanyak 12 (75%) sedang dua sampel telur bertunas retak dan mengalami pembusukan dan yang dua kemungkinan bukan *Chlamydia*. Dari 12 sampel yang menunjukkan *Giemsa* positif dan *iodine* positif sebanyak sepuluh (62,5% dari 16 sampel), sedang yang dua menunjukkan *Giemsa* positif dan *iodine* negatif. Jadi hasil kultur pada sepuluh sampel tersebut adalah spesies *Chlamydia trachomatis*, sedang yang empat sampel dikultur ulang, ternyata bukan spesies *Chlamydia trachomatis* oleh karena setelah diperiksa dengan *iodine* tetap negatif meskipun *Giemsa* positif. Sebelum dipakai eksperimen spesies dipisahkan dari dalam sel jaringan *yolk sac* dengan menggunakan *auto vortex* dan di saring dengan *millipore filtration* untuk memisahkan dari cairan *yolk sac*, kemudian ditambah dengan *Chlamydia transport medium* (CTM). Setelah dipakai eksperimen, spesies dikultur ulang untuk membuktikan bahwa spesies *Chlamydia trachomatis* masih aktif. Hasil kultur ulang tetap berkembang biak lagi dan pada pemeriksaan *Giemsa* dan *iodine* tetap menunjukkan hasil positif.

2. Tahap eksperimental *in vitro*

Pada tahap ini bertujuan untuk mencari cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi motilitas dan morfologis spermatozoa serta untuk mempelajari pengaruhnya terhadap pH dan viskositas semen.

Sampel semen yang digunakan berasal dari pria fertil, sebanyak delapan orang yang berumur 26-28 tahun, dengan volume ejakulat minimal 2,5 ml. Sebelum mendapat perlakuan dilakukan analisis semen, ternyata semua sampel menunjukkan hasil dalam batas harga normal yang ditentukan WHO (1994) dan tidak dijumpai lekospermia serta ASA negatif. Pada anamnesa penderita telah 3 sampai 4 x mengalami uretritis asimtomatik dan telah mendapat terapi.

Perlakuan pertama adalah dilakukan *washing* pada setengah bagian semen. Sesudah dilakukan *washing* sampel dianalisis lagi, ternyata menunjukkan motilitas spermatozoa tipe a mencapai 90%, konsentrasi spermatozoa sekitar 6-10 juta spermatozoa per ml. Kemudian setelah *washing*, sampel dibagi lagi menjadi dua dan yang tidak dilakukan *washing* juga dibagi menjadi dua bagian yang sama, hingga dari delapan sampel didapatkan 32 sampel semen.

Perlakuan kedua adalah melakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* pada 16 sampel yang dilakukan *washing* dan 16 sampel yang tidak dilakukan *washing* dan sisanya sebagai kontrol. Kemudian seluruh sampel diinkubasi pada suhu 37 °C selama empat jam dan setelah itu dilakukan pemeriksaan ulang analisis semen.

Hasil pemeriksaan preparat hapusan *Giemsa* pada spesimen yang dikontaminasi menggambarkan adanya perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* dan kerusakan pada akrosom serta membran spermatozoa. Gambaran morfologis spermatozoa, sekitar 55 % kepala berbentuk *amorf*, tetapi tidak ada EB *Chlamydia trachomatis* yang masuk ke dalam spermatozoa.

Hasil uji membuktikan adanya perbedaan yang bermakna antara semen yang dikontaminasi dan yang tidak dikontaminasi dengan EB *Chlamydia trachomatis*

untuk variabel aglutinasi, semua tipe reaksi akrosom, bentuk spermatozoa normal, konsentrasi dan motilitas spermatozoa serta variabel pH, dan viskositas ($p=0,0001$).

3. Tahap *comparative cross sectional study*

Tahap penelitian ini pada manusia, yang perlu dilakukan oleh karena pada tahap eksperimen *in vitro* tidak dijumpai adanya reaksi imunologis, sedang pada manusia yang terinfeksi mikroorganisme akan timbul reaksi imunologis. Tujuan penelitian tahap ini untuk mendeteksi ada tidaknya peningkatan titer IgA total, IgG total, IgM total dalam semen dan serum, ASA IgG dalam semen. Selain itu, untuk mempelajari pengaruh faktor imunologis terhadap motilitas spermatozoa dan korelasi antara paparan ASA IgG dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Sampel semen sebanyak 45 berasal dari pria pasangan infertil dan 40 berasal dari pria pasangan fertil, umur 25-35 tahun, tanpa kelainan anatomi termasuk kelenjar aksesori dan hormon reproduksi.

Diagnosis infeksi *Chlamydia trachomatis* menggunakan metode IMx, untuk mendeteksi ada tidaknya antigen *Chlamydia trachomatis*. Ketentuan infeksi *Chlamydia trachomatis* positif-negatif dengan mencari harga rerata hasil pemeriksaan IMx dari 85 sampel. Harga rerata sebesar 1,325, jadi dinyatakan infeksi *Chlamydia trachomatis* positif minimal 1,325. Ternyata enam penderita dari kelompok pria infertil (13,3% dari 45 sampel atau 7% dari 85 sampel) dinyatakan *Chlamydia trachomatis* positif.

Hasil uji membuktikan adanya perbedaan yang bermakna antara penderita terinfeksi dan yang tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis* pada rerata titer

IgA, IgG, IgM total dalam serum maupun semen dan ASA IgG serta lekosit dalam semen ($p=0,0001$). Uji lain membuktikan tidak ada pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap pH dan viskositas plasma semen. Selain itu juga dibuktikan ada perbedaan pengaruh gabungan IgA, IgG dan IgM total dalam semen dan serum serta ASA IgG dalam semen yang bermakna terhadap motilitas spermatozoa ($p=0,0001$). Hasil ini diperkuat dengan uji pengaruh aglutinasi spermatozoa terhadap motilitas spermatozoa. Uji korelasi membuktikan adanya korelasi positif antara ASA dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* ($c=0,62771$).

Berdasarkan hasil pada semua tahap penelitian, maka dapat dinyatakan bahwa spesies *Chlamydia trachomatis* dapat berkembang biak pada jaringan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas jenis ayam budidaya SPF yang berumur tujuh hari. Hal ini dimungkinkan, sebab *Chlamydia* bersifat parasit obligat intraseluler artinya kebutuhan hidupnya didapat dari sel inang dan *yolk sac* merupakan sumber nutrisi embrio ayam.

Dengan adanya perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* dan kerusakan pada akrosom dan membran spermatozoa menyebabkan motilitas spermatozoa terganggu. Pernyataan ini dibuktikan dengan adanya perubahan reaksi akrosom, dan perubahan bentuk kepala normal, dan adanya aglutinasi spermatozoa. Struktur dinding *Chlamydia trachomatis* yang terdiri atas lipopolisakarida dapat bersifat sebagai endotoksin dan antigenik. Endotoksin dapat menyebabkan kerusakan struktur membran dan dinding sel inang (Schachter, 1990). Dalam hal ini, akrosom dan membran spermatozoa akan mengalami kerusakan, sehingga terjadi gangguan motilitas spermatozoa dan reaksi akrosom serta

perubahan jumlah bentuk spermatozoa normal atau perubahan morfologis spermatozoa.

Pada penelitian ini juga dibuktikan bahwa meningkatnya titer IgA, IgG, IgM total dan ASA IgG di dalam semen dan lekospermia, menurunkan motilitas spermatozoa. Menurunnya motilitas lebih dipengaruhi adanya ASA IgG dan lekospermia. Hal ini disebabkan partikel ASA melekat pada membran spermatozoa hingga menyulitkan pergerakan spermatozoa (Ariguno, *et al.*, 1988). Selain itu hasil metabolisme lekosit dapat menyebabkan distruksi membran, sebab terjadi oksidasi lapisan lemak di dinding spermatozoa (Takemura, *et al.*, 1984).

Simpulan dalam penelitian ini bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen pada eksperimental *in vitro* serta infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra pria mempengaruhi kualitas semen, khususnya morfologis dan motilitas spermatozoa. Infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra menyebabkan titer IgA total, IgG total, IgM total dan ASA IgG dalam semen meningkat, menyebabkan lekospermia serta ada hubungan antara peningkatan paparan ASA IgG dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*. *Chlamydia trachomatis* dapat dibiakkan dalam jaringan *yolk sac* embrio ayam bertunas jenis ayam budidaya SPF. Prevalensi infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra pria pasangan infertil sebesar 13,3 %.

ABSTRACT

Key words: *Chlamydia trachomatis* infection, sperm quality tissue culture and in vitro experimental study.

Reproductive tract infection is one of the possible prevailing factors of male infertility. *Chlamydia trachomatis* is one of microorganisms responsible for the cause of infection. Therefore, a three-step study has been conducted to investigate the effect of *Chlamydia trachomatis* infection on semen quality.

The first step of this study was a tissue culture, using the yolk sac of a seven-day old embryo-nated egg. The objective of this study was to isolate *Chlamydia trachomatis* from the tissue cultures, which was taken from endocervical swab of 16 women with high risk sexually transmitted disease. Giemsa and iodine method were used to evaluate the specimen before and after culture. The second step of this study was an in vitro experimental study. The objective was to investigate the influence of *Chlamydia trachomatis* infection on the spermatozoa and seminal plasma quality. Eight semen samples of 26 to 28-year-old fertile males, each having the minimal volume of 2,5 ml, were used for the analyses. Half of the semen of each sample was taken to undergo washing and the other half for control. Next, half of each group was contaminated by *Chlamydia trachomatis* species. Semen analysis was performed before and after these treatments. The third step of this study was a cross sectional study on 25 to 35-year old men. The objective of this study was to find out the influence of total IgA, IgG, IgM and ASA IgG titer on serum and seminal plasma quality, and also the correlation between ASA IgG titer and *Chlamydia trachomatis* infection. The samples were semen unit of 45 infertile and 40 fertile males with asymptomatic urethritis, without any abnormality in

anatomy and reproductive hormon. *Chlamydia trachomatis* detection was performed on endourethral swab by the IMx method; semen analyses, direct MAR IgG, total IgA, IgG and IgM were also conducted, each using by an appropriate method.

The result of the first study showed that *Chlamydia trachomatis* was successfully isolated from 10 samples out of 16 endocervical swab and this was conformed by a positive result on Giemsa and iodine test. The result of the second study showed that there was sperm membrane and acrosome damage. A significant difference between the control and contaminated semen on pH, Viscosity, acrosome reaction sperm morphology and motility were observed ($p=0.0001$). The result of the third study showed that 6 out of 45 infertile men (13.3%) were positive with *Chlamydia trachomatis* infection. These infected men showed an increased total IgA, IgG, IgM titer in their semen as well as in the serum. It also showed an increased ASA IgG titer in semen and this ASA IgG titer was positively correlated with the *Chlamydia trachomatis* infection ($c=0.62771$). However, the semen analysis showed an increased leucocyte number and a decreased motile sperm ($p= 0.0001$), and a decreased number of normal sperm. This decrease in sperm motility was mainly due to the presence of ASA IgG and not influenced by total IgA, IgG and IgM of the seminal plasma.

The conclusion of this study is that the presence of *Chlamydia trachomatis* in in vitro semen and infection in male urethra harm the semen quality, especially the sperm morphology and motility and the existence of ASA.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR DIAGRAM	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR SINGKATAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Kajian Masalah Penelitian.....	7
1.3 Rumusan Masalah Penelitian	8
1.4 Tujuan Penelitian	9
1.4.1 Tujuan Umum.....	9
1.4.2 Tujuan Khusus.....	9
1.5 Manfaat Penelitian	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Traktus Reproduksi Pria.....	10
2.1.1 Testis	11
2.1.2 Saluran Keluar Spermatozoa.....	12
2.1.3 Kelenjar Aksesori	12
2.2 Semen.....	13
2.2.1 Plasma Semen.....	13
2.2.2 Spermatozoa (Sperma).....	16
2.2.3 Analisis Semen	32
2.3 <i>Chlamydia Trachomatis</i>	37
2.3.1 Identifikasi Morfologi.....	37
2.3.2 Siklus Hidup	40
2.3.3 Patogenesis Infeksi <i>Chlamydia Trachomatis</i>	41
2.4 Aspek Immunologis Mukosal Traktus Reproduksi	47
Kumpulan Teori – Hasil Penelitian (Theoretical Mapping).....	56
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN... 62	
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	62
3.1.1 Dasar	62
3.1.2 Patogenesis Infeksi <i>Chlamydia Trachomatis</i>	63
3.2 Hipotesis Penelitian	66

BAB 4 METODE PENELITIAN.....	67
4.1 Rancangan Penelitian.....	67
4.2 Studi Eksperimental (Experimental Study).....	67
4.2.1 Tahap Kultur <i>Chlamydia Trachomatis</i>	68
4.2.2 Tahap Eksperimental In Vitro	76
4.3 <i>Comparative Cross Sectional Study</i>	88
4.3.1 Populasi dan Sampel Penelitian.....	88
4.3.2 Variabel	91
4.3.3 Definisi Operasional Variabel	91
4.3.4 Materi Penelitian.....	92
4.3.5 Alat Penelitian	93
4.3.6 Langkah Penelitian	93
4.3.7 Tempat	96
4.4 Analisis Data	96
4.5 Waktu Penelitian.....	97
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	98
5.1 Hasil dan Analisis Data Tahap Kultur <i>Chlamydia Trachomatis</i>	98
5.2 Hasil dan Analisis Data Tahap Eksperimen In Vitro.....	100
5.3 Hasil dan Analisis Data Tahap <i>Comparative Cross Sectional</i>	115
BAB 6 PEMBAHASAN	129
6.1 Tahap Kultur <i>Chlamydia Trachomatis</i>	130
6.2 Tahap Eksperimen In Vitro	133
6.3 Tahap <i>Comparation Cross Sectional Study</i>	143
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	164
7.1 Simpulan.....	164
7.2 Saran.....	165
DAFTAR PUSTAKA.....	166
LAMPIRAN	175

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	: Perbedaan antara spesies <i>Chlamydia</i> (Byod, 1984).	39
Tabel 5.1	: Frekuensi distribusi harga rerata, simpang baku, minimum dan maksimum dari variabel semen normal pada 8 sampel.....	101
Tabel 5.2	: Keberadaan EB <i>Chlamydia trachomatis</i> pada semen tidak dikontaminasi (kontam 1) dan dikontaminasi (kontam 2).	103
Tabel 5.3	: Reaksi akrosom dan bentuk spermatozoa normal antara semen yang tidak dikontaminasi (kontam 1) dan yang dikontaminasi (kontam 2).	104
Tabel 5.4	: Aglutinasi spermatozoa antara kelompok semen yang tidak dikontaminasi (kontam 1) dan yang dikontaminasi (kontam 2)....	105
Tabel 5.5	: Hasil uji beda variabel pada semen sebelum <i>washing</i> (1) dengan semen sesudah <i>washing</i> yang tidak dikontaminasi (3).....	107
Tabel 5.6	: Hasil uji beda variabel plasma semen sebelum <i>washing</i> (1) dengan semen sesudah <i>washing</i> yang dikontaminasi (3).....	109
Tabel 5.7	: Hasil uji coba variabel spermatozoa sebelum <i>washing</i> (1) dengan semen sesudah <i>washing</i> yang dikontaminasi (3).....	110
Tabel 5.8	: Hasil uji anova variabel plasma semen dan spermatozoa pada semen <i>washing</i> (+) dan tidak <i>washing</i> (-) masing-masing dilakukan kontaminasi(+) dan tidak dikontaminasi (-) serta gabungan <i>washing</i> -kontaminasi pada 32 sampel.	112
Tabel 5.9	: Hasil analisis manova dari variabel penyerta (pH, viskositas, ASA IgG) terhadap variabel motilitas dan morfologis spermatozoa pada tabel 32 sample	115
Tabel 5.10	: Frekuensi harga rerata, simpang baku variabel petanda hormon reproduksi di dalam serum dan enzim di dalam plasma semen. ...	116
Tabel 5.11	: Hasil uji anova kelompok infeksi–tidak infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> dan pengaruh kovarian terhadap variabel plasma semen.	118
Tabel 5.12	: Hasil uji anova kelompok infeksi–tidak infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> dan pengaruh kovarian terhadap variabel spermatozoa.....	119
Tabel 5.13	: Hasil uji anova pada semen dan serum pada infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> dan gabungan antara infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> dengan variabel dalam semen dan serum.	122
Tabel 5.14	: Hasil uji anova pengaruh infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> pengaruh variabel penyerta (kovarian) dan pengaruh gabungan terhadap motilitas spermatozoa.	123
Tabel 5.15	: Hasil uji harga rerata faktor imunologis dalam plasma semen penderita infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> positif dan negatif.	125
Tabel 5.17	: Hasil uji beda pengaruh infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> terhadap variabel aglutinasi.....	127

Tabel 5.18 : Hasil analisis manova dari kovariat pH dan viskositas terhadap motilitas dan spermatozoa normal (morfologis spermatozoa)	127
Tabel 5.19 : Korelasi antara infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> dengan ASA IgG.	128

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	: Spermatozoa manusia (Hafez, 1976).....	23
Gambar 2.2	: a. Kelainan bentuk kepala spermatozoa b. Kelainan bentuk ekor spermatozoa (World Health Organization, 1994).....	24
Gambar 2.3	: Pola dasarnya susunan struktur 9 + 2 aksonema: 9 mikrobulu ganda yang mempunyai subfiber A dan B dengan dua lengan (Amelar, et.al., 1980).....	27
Gambar 2.4	: <i>The sliding microtubule hypothesis.</i> <i>Left before ATP addition and right after ATP addition</i> (Almelar, et.al., 1980).....	27
Gambar 2.5	: Struktur akrosom dan reaksi akrosom (Liu and Baker, 1992).....	31
Gambar 2.6	: Siklus hidup <i>Chlamydia</i> : <i>Elementary body</i> dan <i>Reticulate body</i> (Byod, 1984).....	41
Gambar 4.1	: Makler counting chamber (Makler, Amnon., 1980).....	81
Gambar 4.2	: Skema uji MAR direk (Hinting, 1989).	85

DAFTAR DIAGRAM

Diagram 3.1	: Kerangka konseptual kejadian infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i>	65
Diagram 4.1	: Skema langkah pengadaan kultur <i>Chlamydia trachomatis</i>	72
Diagram 4.2	: Skema langkah penelitian eksperimental <i>in vitro</i>	79
Diagram 4.3	: Skema langkah comparative cross sectional study	93
Diagram 5.1	: Tahap Kultur <i>Chlamydia Trachomatis</i>	98
Diagram 5.2	: Pembagian semen pada penelitian eksperimental <i>in vitro</i>	100

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.1	: <i>Test of normality Kolmogorov-Smirnov</i> (data penelitian eksperimen in vitro)	175
Lampiran 1.2	: <i>Test of normality Kolmogorov-Smirnov</i> (data penelitian comparative cross sectional)	176
Lampiran 1.3	: <i>Uji homogenitas</i> (data penelitian comparative cross sectional)	177
Lampiran 2.1	: <i>t-test for independent samples of kontam</i> (data penelitian eksperimen in vitro)	178
Lampiran 2.2	: <i>Correlation test</i>	179
Lampiran 3	: <i>Analysis of Variance</i>	180
Lampiran Gambar 1	:	
Gambar 1.1	: Spermatozoa normal (<i>Giemsa</i>)	193
Gambar 1.2	: Spermatozoa terperangkap partikel lateks (MAR direk)	193
Gambar 1.3	: Aglutinasi spermatozoa (preparat basah)	191
Lampiran Gambar 2	:	
Gambar 2.1	: Reaksi akrosom tipe B dan C (<i>triple stain</i>)	192
Gambar 2.2	: Reaksi akrosom tipe A, C dan D (<i>triple stain</i>)	192
Gambar 2.3	: EB <i>Chlamydia</i> lekat pada spermatozoa (metode <i>Giemsa</i>) ...	192
Lampiran Gambar 3	:	
Gambar 3.1	: IB <i>Chlamydia trachomatis</i> jaringan epitel uretra (<i>Giemsa</i>)	193
Gambar 3.2	: IB <i>Chlamydia trachomatis</i> dalam sel epitel uretra (<i>Giemsa</i>)	193
Lampiran Gambar 4	:	
Gambar 4.1	: IB <i>Chlamydia trachomatis</i> dalam jaringan yolk sac (<i>Giemsa</i>)	194
Gambar 4.2	: IB <i>Chlamydia trachomatis</i> dalam jaringan yolk sac (<i>iodine</i>)	194
Gambar 4.3	: IB <i>Chlamydia trachomatis</i> dalam sel jaringan yolk sac (<i>Giemsa</i>)	194
Lampiran Kerja	:	
Lampiran Kerja 1	195
Lampiran Kerja 2	196
Lampiran Kerja 3	197
Formulir Persetujuan	198

DAFTAR SINGKATAN

ASA	= <i>Anti Sperm Antibodies</i>
C	= <i>Complement</i>
CD	= <i>Cluster of Differentiation</i>
Chlam Ab	= <i>Antichlamydial antibodies</i>
DFA	= <i>Direct Fluorescence Assay</i>
EB	= <i>elementary bodies</i>
FSH	= <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
Ig	= <i>Immunoglobulin</i>
IL	= <i>Interleukin</i>
IMx	= <i>Immunoassay system</i>
LH	= <i>Luteinizing Hormone</i>
MAGI	= <i>Male Accessory Gland Infection</i>
MAR	= <i>Mixed Agglutination Reaction</i>
MIF	= <i>Micro Immuno Fluorescence</i>
NK	= <i>Natural Killer cell</i>
RB	= <i>Reticulate Bodies</i>
STD	= <i>Sexually Transmitted Disease</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

BAB 1**PENDAHULUAN****1.1. Latar Belakang Masalah**

Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional (BKKBN) pada tahun 1985 melaporkan hasil penelitian di Indonesia, bahwa 12 % dari pasangan usia subur merupakan pasangan infertil. Data ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan di negara barat maupun negara berkembang lainnya (Khanna, *et al.*, 1992). Pada tahun 1990, sensus penduduk yang dilakukan oleh BKKBN ternyata jumlah penduduk Indonesia sekitar 179 juta jiwa dan di antaranya terdapat 40 juta jiwa pasangan usia subur. Kalau dihitung 12 % dari jumlah tersebut, maka dapat diperkirakan pasangan infertil sekitar lima juta.

Infertilitas merupakan problem yang timbul dalam suatu pernikahan. Menurut Khanna, *et al.* (1992) diperkirakan antara 60 sampai 80 juta pasangan di dunia menghadapi permasalahan ini. Infertilitas sebenarnya merupakan masalah pasangan, bukan hanya masalah bagi istri atau suami saja. Meskipun demikian sejak dahulu kala, masyarakat selalu beranggapan bahwa wanita yang merupakan penyebab tidak dapat memberikan keturunan, sehingga penelitian dan pengobatan saat itu hanya ditujukan pada wanita saja. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, maka akhir-akhir ini banyak dilakukan penelitian terhadap pria yang berkaitan dengan infertilitas. Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 1984, yang dikutip oleh Goldfarb (1988), dari hasil pengamatan para ahli, ternyata penyebab infertilitas pada pria



sebesar 24 %, sedang wanita 41 % dan dari kedua belah pihak secara bersama sekitar 24 %, dan sisanya sebesar 11 % belum diketahui penyebabnya (*Unexplained infertility*). Pada penelitian lebih lanjut dilaporkan bahwa infertilitas pada pria, disebabkan kelainan struktur dan fungsi organ sistem reproduksi. Kelainan tersebut dapat terjadi pada kelenjar endokrin, khususnya mengenai poros hipotalamus-hipofisis-testis. Gangguan lain dapat terjadi pada peredaran darah organ reproduksi, terutama varikokel dan infeksi pada saluran reproduksi serta gangguan imunologis.

Infeksi pada sistem reproduksi pria, menurut Khanna, *et al.* (1992) merupakan penyebab infertilitas sebesar 10%. Meskipun angka ini dapat dikatakan relatif rendah, tapi merupakan urutan kedua setelah varikokel. Terjangkitnya infeksi, pada umumnya melalui hubungan seksual dengan pasangan yang berganti-ganti, hingga penyakit ini termasuk dalam kelompok *Sexually Transmitted Diseases* (STD). Laporan penelitian dari WHO (Khanna, *et al.*, 1992), menunjukkan bahwa pria dengan riwayat STD jumlahnya semakin meningkat. Keadaan tersebut dapat mengakibatkan meningkatnya penularan penyakit yang sama terhadap pasangannya. Berdasarkan data yang diperoleh, ternyata insiden infeksi pada saluran reproduksi pria, sebagian besar tanpa menunjukkan gejala yang khas atau bersifat asimptomatik. Apabila infeksi terjadi pada kelenjar aksesori (kelompok *Male Accessory Gland Infection* = MAGI), pada umumnya tidak menimbulkan gejala atau dengan gejala minimal, terkecuali pada penderita dengan prostatitis dan epididimitis akut akan menunjukkan gejala spesifik.

Pada wanita dengan infeksi saluran reproduksi, juga sering tidak menunjukkan gejala yang khas, hanya kadang-kadang ditandai dengan keputihan atau *fluor albus*. Akibat adanya gejala yang tidak khas ini, menyebabkan pengobatannya kurang tepat, sehingga kemungkinan menjadi kronis.

Keberadaan mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada sistem genitalia pria yang berkaitan dengan infertilitas, ternyata menimbulkan berbagai pertentangan pendapat. Ada kelompok yang berpendapat bahwa infeksi sistem genitalia berpengaruh terhadap infertilitas dan ada kelompok yang tidak sependapat. Hal ini dapat dipahami mengingat banyak spesies mikroorganisme yang masih sulit dideteksi secara langsung maupun dengan pembiakan (Krieger, 1984). Dengan adanya kemajuan teknologi, maka beberapa penelitian menunjukkan bahwa infeksi saluran genitalia merupakan faktor utama yang berkaitan dengan infertilitas pada pria (Megory, *et al.*, 1990).

Semen adalah suspensi plasma semen yang di dalamnya terdapat spermatozoa, dan sel lain misalnya epitel, flora normal, eritrosit, leukosit (Hafez, 1977) serta merupakan salah satu faktor yang menentukan fertilitas pada pria. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas dan kuantitas semen, salah satunya adalah faktor kontaminasi dengan mikroorganisme. Meskipun masih ada mikroorganisme yang sulit terdeteksi, tapi dasar yang paling banyak dianut untuk menunjukkan adanya infeksi atau pencemaran semen, apabila dijumpai *leucospermia* atau *piospermia* (WHO, 1994). Beberapa mikroorganisme dapat mencemari semen, misalnya golongan mikroorganisme patogen, non patogen, aerob, anaerob, viral dan non viral.

Penelitian Wibowo (1989) di Surabaya, ternyata mikroorganisme yang paling sering menyebabkan pencemaran semen adalah *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian lain menunjukkan bahwa, mikroorganisme penyebab STD sebagian besar adalah *Neisseria gonorrhoe* dan *Chlamydia trachomatis* (Braveman, 1990 ; Megory, 1990 ; Wolff, *et al.*, 1991 dan Hinting, 1992).

Chlamydia trachomatis, salah satu mikroorganisme yang bersifat parasit obligat intraseluler dan mampu menimbulkan respon imunologis tubuh, oleh karena memiliki dua grup antigen (Jawetz, *et al.*, 1991 ; Broch dan Madiga, 1991). Penelitian yang telah dilakukan oleh Schmid (1996) bahwa infeksi pada uretra dengan gejala yang tidak khas, ternyata yang disebabkan oleh *Chlamydia trachomatis* dua kali lebih banyak daripada oleh *Neisseria gonorrhoe*. Keadaan ini menyebabkan inflamasi sub klinik dengan berbagai komplikasi yang ditimbulkannya. Hasil pengecatan spesimen yang berasal dari *swab* uretra pria yang pasangannya telah didiagnosis menderita *Chlamydia cervicitis*, ternyata 35 % dari spesimen menderita *Chlamydia trachomatis*. Di antara penderita ini, yang tidak menunjukkan gejala sebesar 86 % (Fish, 1989). Lain halnya dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Braveman (1990) pada anak laki-laki umur 16 sampai 21 tahun, ternyata 12.3 % menderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, dan 36 % nya menunjukkan gejala uretritis. Megory, *et al.* (1990), melakukan penelitian pada 100 pria infertil dengan cara *swab* endouretral, ternyata 8% menderita *Chlamydia trachomatis* dan sebagian besar menunjukkan gejala prostatitis serta epididimitis asimptomatik.

Penelitian yang dilakukan Suominen, *et al.* tahun 1989, pada pria infertil dengan prostatitis kronis, ternyata 26.9% menderita *Chlamydia trachomatis* bahkan 51.1% dari penderita ini di dalam plasma semen ditemukan *Immunoglobulin A* (IgA). Selain itu, analisis semen pada seluruh sampel menunjukkan hasil yang tidak normal, terutama kelompok yang menderita *Chlamydia trachomatis*. Friberg (1990) melaporkan hasil kultur swab uretra pria dengan gejala uretritis non spesifik, yang menunjukkan *Chlamydia trachomatis* positif sebesar 45% sampai 50% dari 189 sampel. Sebelum penelitian tersebut, sebenarnya Nikkanen, *et al.* pada tahun 1980 telah membuktikan bahwa ada korelasi antara infeksi *Chlamydia trachomatis* pada genitalia dengan infertilitas. Kemudian penelitian tersebut diperkuat oleh Wolff, *et al.* pada tahun 1991, yang membuktikan bahwa 15.8% dari 209 sampel semen pria infertil menderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, dan 5.9% dari yang positif di dalam semen didapatkan fraksi antigen *Chlamydia trachomatis*. Pada tahun 1996, Schmid melaporkan bahwa pada pria dengan *nongonococcal urethritis syndroma*, 30% sampai 40 % disebabkan *Chlamydia trachomatis*, 15 % sampai 25 % oleh karena *Ureaplasma urealyticum*, sedangkan sisanya disebabkan *Mycoplasma* dan *Trichomonas*.

Traktus reproduksi mempunyai sistem pertahanan yang spesifik, yaitu *blood testis barrier*. Apabila terjadi infeksi pada traktus reproduksi, maka dapat menyebabkan kerusakan sistem pertahanan tersebut, yang dapat mengakibatkan terjadi degradasi spermatozoa. Keadaan ini yang mengakibatkan adanya kebocoran spermatozoa, hingga terjadi kontak antara spermatozoa dengan sel

imunologis tubuh, dengan akibat lebih lanjut dapat terjadi reaksi autoimun (Tjokronegoro, 1978 ; Mandelbaum, *et al.*, 1987 dan Pavia, *et al.*, 1985). Reaksi autoimun ditandai dengan terbentuknya *Anti Sperm Antibodies* (ASA) yang menyebabkan aglutinasi spermatozoa, sehingga motilitasnya terganggu.

Dari uraian di atas, dapat diperkirakan bahwa *Chlamydia trachomatis* dapat mencemari semen, bahkan mungkin secara langsung akan merusak spermatozoa atau secara tidak langsung dengan merangsang reaksi imun tubuh. Selain itu, di dalam semen dapat dijumpai beberapa faktor imunologis saat terjadi infeksi, misalnya IgA, IgG, IgM. Faktor imunologis lain yang merupakan aktivitas dari limfosit T, antara lain *Cytotoxic (supressor)* dengan petanda *Cluster of differentiation* (CD) dalam bentuk CD8 dan *T Helper (inducer)* dalam bentuk CD4, serta aktivitas sel Sertoli dengan meningkatkan produksi *Interleukin* (IL). Menurut El-Demiry dan James (1987), semua faktor imunologis ini dapat menyebabkan gangguan motilitas spermatozoa.

1.2. Kajian Masalah Penelitian

STD merupakan salah satu masalah yang menjadi perhatian para ahli tidak hanya di Indonesia tapi juga diseluruh dunia, oleh karena itu WHO melakukan penelitian dan cara penanggulangannya. Para ahli dari WHO menyelenggarakan pertemuan ilmiah internasional, untuk membahas masalah tersebut.

Pada tahun 1992, di Ujung Pandang diselenggarakan simposium internasional mengenai *Infection on Reproductive Health*. Dalam simposium tersebut, sebagian besar makalah yang dibahas tentang infeksi *Chlamydia trachomatis* pada sistem reproduksi wanita dan pria. Dilaporkan hasil sejumlah

penelitian mengenai isolasi *Chlamydia trachomatis* dari jaringan prostat, bahkan dibuktikan sebagai penyebab utama prostatitis dan bukan karena mikroorganisme yang lain. Cates (1992) melakukan isolasi dari epididimis pada pria di bawah umur 35 tahun, ternyata *Chlamydia trachomatis* menyebabkan epididimitis akut. Inti simposium tersebut mengutarakan tentang fertilitas dan metode pemeriksaan *Chlamydia trachomatis*, sebab infeksi yang terjadi tidak menunjukkan gejala yang khas, terutama pada pria.

Salah satu proyek WHO, mengenai infeksi *Chlamydia trachomatis* yang telah dilaksanakan di Afrika dan Asia termasuk di Indonesia (WHO,1994). Dinas Kesehatan Kota di Surabaya bekerja sama dengan RSUD. Dr. Seotomo dan Fakultas Kedokteran Unair, pada tahun 1997 telah melakukan penelitian dan pengobatan infeksi *Chlamydia trachomatis* pada wanita tunasusila.

Metode pemeriksaan *Chlamydia trachomatis* pada pria, dengan mengambil spesimen yang berasal dari *swab* uretra (*endourethral swab*) atau dari urin (*first voided urine*), sedangkan pada wanita dari *swab* serviks (*endocervical swab*) dan pemeriksaan serum untuk mendeteksi antibodi (Ward, 1992). Dengan ditemukan cara isolasi *Chlamydia trachomatis*, maka dapat ditingkatkan ketepatan diagnosis serta terapinya. Meskipun telah ditemukan cara isolasi dari uretra pria, tetapi belum diketahui bagaimana cara *Chlamydia trachomatis* dapat mempengaruhi fertilitas ?. Telah diketahui bahwa banyak faktor yang mempengaruhi fertilitas pria, tidak hanya tergantung pada anatomi maupun fungsi organ, namun sangat ditentukan oleh kualitas semen yang mencakup plasma semen dan spermatozoa. Sebagai parameter kualitas semen

adalah volume, pH dan viskositas plasma semen dan untuk spermatozoa meliputi motilitas, konsentrasi serta morfologinya (WHO, 1994).

Untuk mempelajari gangguan fertilitas pada pria yang berkaitan dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*, maka dilakukan pemeriksaan semen, yang meliputi keberadaan mikroorganisme ini atau antigennya atau faktor imunologis yang ada saat terinfeksi. Untuk membuktikan *Chlamydia trachomatis* dapat secara langsung mengganggu motilitas spermatozoa, dengan melekat atau merusak akrosom maupun membran spermatozoa bahkan mungkin masuk ke dalam spermatozoa, maka dilakukan penelitian eksperimental *in vitro*. Untuk mendapatkan spesies *Chlamydia trachomatis* yang diperlukan pada eksperimental *in vitro*, maka dilakukan kultur jaringan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas. Untuk mendeteksi ada tidaknya infeksi *Chlamydia trachomatis* menggunakan metode *Immunoassay system (IMx)* dan akibat yang ditimbulkan, maka dilakukan penelitian pada manusia.

1.3. Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan uraian tentang infeksi *Chlamydia trachomatis* dan kaitannya dengan fertilitas pria, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

- 1.3.1. Bagaimanakah kualitas plasma semen dan spermatozoa dengan adanya infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra ?
- 1.3.2. Dengan menggunakan metode IMx, apakah *Chlamydia trachomatis* atau antigennya dapat dijumpai di dalam semen ?
- 1.3.3. Bagaimakah cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa ?

1.3.4. Dapatkah faktor imunologis humoral maupun seluler sebagai reaksi tubuh terhadap *Chlamydia trachomatis* dijumpai dalam semen ?

1.3.5. Apakah ada korelasi antara paparan ASA IgG di dalam semen dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* ?

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini, untuk mempelajari pengaruh atau hubungan antara infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra dengan fertilitas pada pria.

1.4.2. Tujuan khusus

1.4.2.1. Untuk menganalisis kualitas semen pada infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra.

1.4.2.2. Untuk mencari cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa, mungkin dapat secara langsung dengan melekat atau merusak akrosom dan membran spermatozoa atau secara tidak langsung dengan adanya faktor imun lokal maupun sistemik yang terdapat dalam semen.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat penelitian ini dalam bidang Andrologi, apabila dapat menemukan cara *Chlamydia trachomatis* merusak spermatozoa, maka dapat dilakukan tindakan untuk mengatasinya.

1.5.2. Manfaat penelitian ini bagi penderita, khususnya pria infertil, apabila dalam penelitian ini dapat dibuktikan bahwa *Chlamydia trachomatis* merupakan salah satu penyebab infertil, sehingga dapat ditentukan upaya lain dalam mengatasi infertilitas pada pria dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Traktus reproduksi pria

Traktus reproduksi pria merupakan suatu saluran tunggal, dengan beberapa kelanjar aksesori di sekitarnya. Masing-masing bagian mempunyai batas lapisan mukosa epitelium dengan berbagai variasi pada beberapa bagian, dan pada setiap bagian mempunyai fungsi spesifik.

Lapisan saluran ini dibedakan atas (Hafez, 1976 ; El-Demiry dan James, 1988) :

- a. Lapisan serosa yang terletak paling luar dan disusun oleh jaringan ikat.
- b. Lapisan muskularis, terletak di tengah terdiri atas otot polos.
- c. Lapisan jaringan penghubung atau sub mukosa. Di dalam jaringan ini terdapat pembuluh darah, saraf, jaringan limfoid, fibroblas, mastosit, sel lemak, serta beberapa tipe leukosit yang bermigrasi.
- d. Lapisan mukosa, terletak paling dalam yang disusun oleh epitel selapis silindris dengan silia pada beberapa bagian, epitel selapis pipih pada uretra *pars penile*, dan di antaranya dijumpai sel yang dapat berperan sebagai limfosit.

Menurut Pudney dan Quale (1995) fungsi spesifik untuk :

- a. memproduksi sel germ di testis.
- b. transpor spermatozoa imatur dari testis melalui rete testis ke duktus eferen.
- c. transpor spermatozoa ke epididimis.
- d. transpor spermatozoa sebelum ejakulasi dari epididimis melalui duktus

deferens, duktus ejakulatorius terus menuju uretra.

- d. memproduksi nutrien dan kofaktor, sebagai rentetan sekresi kelenjar aksesori dan berguna untuk aktivitas spermatozoa sebelum ejakulasi.

2.1.1. Testis

Testis merupakan suatu kelenjar berbentuk oval, terletak dalam skrotum, dan terdiri atas beberapa tubulus seminiferus dengan germinal epitelium yang mempunyai kemampuan spesifik untuk memproduksi spermatozoa. Mukosa epitelium di testis berbeda dengan mukosa bagian lain, oleh karena pada dasar tubulus seminiferus didapatkan sederetan sel Sertoli.

Fungsi sel Sertoli adalah menyuplai nutrien untuk proliferasi dan diferensiasi sel germinal, memproduksi *cytokines* (Pudney dan Anderson, 1993), serta membentuk pertahanan alami (*blood testis barrier*).

Blood testis barrier mempunyai struktur yang terdiri atas lapisan yang padat yang terbentuk dari ikatan kompleks yang saling bertautan antar sel Sertoli (Johnson dan Everit, 1980). Bagian ini mempunyai fungsi untuk memisahkan sel germinal dari sel lain, maupun mediator imunologis, sehingga dapat dikatakan merupakan tempat pertahanan terhadap respons autoimun (Pudney dan Anderson, 1993). Selain itu berfungsi pula untuk mengatur keseimbangan cairan limfe dan darah (Johnson dan Everit, 1980). Meskipun demikian beberapa keadaan dapat menyebabkan kerusakan, misal trauma, kekurangan hormon androgen dan infeksi. Kerusakan pada *blood testis barrier* mengakibatkan terjadi penetrasi sel pertahanan imunologis seperti makrofag testis dan limfosit sistemik menuju ke sel germinal (Pudney dan Quale, 1995).

Jaringan intertubuler merupakan bagian lain dari testis, sebagai pembatas antar tubulus seminiferus, dan di dalamnya terdapat pembuluh darah, limfe, saraf, serta sel *Leydig* yang berfungsi memproduksi hormon testosteron.

2.1.2. Saluran keluar spermatozoa

Saluran keluar sejak dari rete testis sampai uretra, semuanya mempunyai lapisan mukosa epitelium, yang setiap bagian mempunyai fungsi berbeda.

Sepanjang perjalanan, spermatozoa mengalami proses pematangan, dekapitasi dan penyimpanan di dalam epididimis. Selain itu spermatozoa akan mendapat suplai sekret dari mukosa epitelium saluran, terkecuali di uretra sekret berasal dari kelenjar periuretral (Pudney dan Quale, 1995). Sekret ini mempunyai fungsi untuk mempermudah pergerakan spermatozoa dan sebagai pelindung dari mikroorganisme selama dalam saluran keluar (Pudney dan Quale, 1995).

2.1.3. Kelenjar aksesori

Berapa kelenjar aksesori terletak sepanjang saluran, antara lain kelenjar epididimis, vesika seminalis, prostat, periuretral, *Littre*, *Cowper* dan bulbo-uretral. Fungsi kelenjar ini untuk memproduksi sekret dan nutrien yang sangat dibutuhkan spermatozoa, untuk metabolisme dan pergerakannya. Setiap kelenjar aksesori akan menyekresi komponen yang spesifik. Kelenjar prostat menyekresi fosfatase, Zn dan Mg, epididimis menyekresi, alfa glukosidase, vesika seminalis menyekresi fruktosa dan prostaglandin. Kelenjar *Littre* dan *Cowper* akan menyintesis sekret yang kental dan disekresi ke dalam uretra sebelum ejakulasi (Hafez, 1977). Enzim yang terdapat di dalam plasma semen merupakan petanda untuk mengetahui fungsi kelenjar yang menyekresinya.

Pemeriksaan enzim tersebut akan dilakukan apabila penderita infertil dengan azoospermia, oleh karena kemungkinan terjadi obstruksi pada salah satu saluran atau ada kelainan pada kelenjar. Sebagai contoh misalnya pada analisis enzim alfa glukosidase dalam semen, ternyata apabila konsentrasinya lebih rendah dari harga normal bahkan mungkin nol, maka dapat dipastikan azoospermia pada penderita tersebut, akibat obstruksi atau kelainan pada epididimis.

2.2. Semen

Semen atau ejakulat atau sperma adalah suspensi plasma semen yang di dalamnya terdapat spermatozoa, serta partikel lain misalnya epitel, eritrosit, leukosit, maupun flora normal (Hafez, 1977).

Fertilitas pria ditentukan oleh beberapa faktor, di antaranya adalah kuantitas serta kualitas semen. WHO menetapkan pedoman untuk analisis semen rutin meliputi volume, warna, bau, pH, viskositas, motilitas, morfologis serta jumlah spermatozoa/ml atau spermatozoa/ejakulat. Pada keadaan tertentu, seperti infeksi maka dilakukan kultur, dan pada *unexplained infertility* perlu dilakukan pemeriksaan imunologis (WHO, 1994).

2.2.1. Plasma semen

Plasma semen adalah cairan yang disekresi oleh kelenjar aksesori yang mengandung beberapa macam ion, misalnya Mg, Zn serta komponen lain yaitu asam amino, karbohidrat, hormon, enzim dan beberapa variasi substansi antigenik (Hafez, 1977 dan Pavia, *et al.*, 1985). Golongan enzim fosfatase, lisosim, alfa amilase, *plasminogen activator* yang terdapat dalam plasma semen disekresi oleh kelenjar prostat dan bulbouretral.

Enzim golongan *seminal proteinase* misalnya seminin dan fruktosa berasal dari kelenjar vesika seminalis dan alfa glukosidase yang berasal dari epididimis (Hafez, 1977).

Substansi lain yang dapat dijumpai dalam plasma semen adalah hormon steroid dan gonadotropin yang berasal dari sel Leydig atau hasil biosintesis dalam tubulus seminiferus testis adalah Zn, Mg (Hafez, 1977), transferin (Pavia, *et al.*, 1985). Adakalanya di dalam plasma semen dijumpai IgG dengan titer 7-13 mg/dl dan IgA dengan titer 2-6 mg/dl, sedang IgM tidak dijumpai dalam plasma semen (Tjokronegoro, 1978 ; Pavia, *et al.*, 1985).

Selain itu masih ada beberapa substansi yang dapat mempunyai berbagai sifat, di antaranya sebagai :

a. Imunoinhibitor dan immunosupresif

Keduanya mempunyai efek menghambat fungsi limfosit, menekan proliferasi sel T yang dirangsang oleh mitogen, antigen, serta sel alogenis, bahkan dapat menekan pembentukan antibodi oleh limfosit B (Pavia, *et al.*, 1985). Immunosupresif menghambat aktivitas fagositosis neutrofil, makrofag, dan reaksi sel NK. Faktor immunosupresif yang menghambat *mitogen induced leucocyte transformation* adalah 35 kD glikoprotein yang berasal dari prostat, sedangkan prostaglandin (PG) khususnya PG-19-OH menghambat aktivitas sel NK (Anderson dan Tarter, 1982 ; Thaler, 1989).

b. Komponen yang bersifat antimikroba, terutama saat spermatozoa berada di dalam traktus reproduksi wanita (Beer dan Neaves, 1978). Menurut Thaler, (1989) glutaminase dan protease menimbulkan perubahan enzimatik

struktur antigen yang terdapat di dinding sel mikrobakterium, sehingga memudahkan proses fagositosis oleh sel-sel fagosit.

- c. Zat orosomukoid yang mampu menghambat aktivitas imunitas seluler pada proses *blast transformation lymphocytes* dengan cara menekan proliferasi limfosit, sehingga tidak terjadi pembentukan ASA (Koopman, *et al.*, 1973 dan Tjokronegoro, 1982). Selain itu zat ini dapat pula menekan respon imun pada tubuh wanita, terutama respon lokal dalam traktus reproduksinya.
- d. Faktor yang bersifat antikomplemen, mempunyai peranan untuk menekan aktivitas sistem komplemen tubuh (Petersen, *et al.*, 1980), terutama komponen C1 dan C3 (Thaler, 1989). Laktoferin suatu unsur yang dijumpai dalam plasma semen, yang mempunyai sifat antikomplemen (Thaler, 1989).

Semua komponen dalam plasma semen secara bersamaan mempunyai peranan penting guna melindungi spermatozoa terhadap mikroorganisme atau reaksi autoimun, agar aktivitas dan metabolismenya tetap sempurna (Hafez, 1977). Plasma semen yang normal tidak mengandung IgG, IgA, IgM, fragmen B-globulin maupun ASA (Hafez, 1977), akan tetapi kadang-kadang dapat pula dijumpai IgA dan IgG dengan titer yang sangat rendah yang tidak mempengaruhi kualitas semen (Pavia, *et al.*, 1985). Kualitas plasma semen yang normal ditentukan oleh beberapa faktor yang dapat diukur dan menurut WHO (1994) plasma semen normal adalah :

- a. Warna plasma semen putih abu-abu.
- b. Bau yang khas.
- c. Viskositasnya, tidak encer dan tidak kental, seperti kanji matang.

- d. pH sekitar 7.2-7.8.
- e. Volume 2.5-3.00 ml
- f. Pemeriksaan mikroskopis tidak dijumpai lekosit, eritrosit maupun bakteri.

Mikroorganisme yang sering dijumpai di dalam plasma semen adalah *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus* (Wibowo, 1989). Meskipun jarang ditemukan tapi *Neisseria gonorrhoe* dapat pula dijumpai di dalam plasma semen (Wolff, *et al.*, 1991).

Plasma semen yang tercemar mikroorganisme patogen dapat ditandai dengan :

- a. Perubahan warna, antara lain berwarna merah-coklat yang merupakan tanda adanya perdarahan atau berwarna kuning yang menunjukkan adanya lekosit.
- b. Perubahan baunya amis atau berbau busuk.
- c. Perubahan viskositas menjadi lebih kental.
- d. Perubahan pH menjadi asam yaitu kurang dari 7.0 atau alkalis, lebih dari 7.8.
- e. Pada pemeriksaan mikroskopis, kemungkinan ada eritrosit, lekosit, dan ditemukannya mikroorganisme.
- f. Adanya hasil kultur yang menunjukkan mikroorganisme yang mencemari.

2.2.2.Spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel benih pria, yang berkembang dan tumbuh di dalam tubulus seminiferus testis melalui proses spermatogenesis dan proses maturasi di dalam epididimis (Bedford, 1990).

Di dalam kepala spermatozoa mempunyai susunan kromosom yang berbeda dengan sel tubuh lainnya. Kromosom spermatozoa berjumlah 23 yang terdiri atas 22 autosom dan 1 kromosom seks X atau Y , sedangkan kromosom sel

tubuh yang lain berjumlah 46 atau 23 pasang autosom, oleh karena itu dari sudut pandang imunologis, spermatozoa merupakan benda asing. Pada tubuh pria oleh karena ada kerusakan *blood testis barrier*, maka spermatozoa dapat bersifat autoantigen dan isoantigen bagi wanita, sehingga dapat merangsang pembentukan antibodi terhadap spermatozoa. Selain faktor susunan kromosomnya, ternyata testis spesifik autoantigen dapat dijumpai pada plasma membran spermatozoa. Testis spesifik autoantigen mulai tampak saat akhir fase *pakitene* spermatosit sekunder sampai fase spermatid, bahkan kadang-kadang dapat terlihat pada saat pertengahan fase spermatid saat spermatozoa menuju ke epididimis (Alexander, *et al.*, 1987).

Meskipun demikian dalam keadaan normal, spermatozoa sejak dari pembentukan di tubulus seminiferus testis sampai diejakulasi terlindung dari kontak dengan sel imunologis tubuh yang lain, oleh karena ada sistem *blood testis barrier* (Burger, *et al.*, 1976 dan Mancini, *et al.*, 1978).

Spermatozoa juga dilindungi oleh suatu protein yang disekresi oleh sel Sertoli, yang bersifat sebagai imunoregulator untuk menghambat aktivitas sistem komplemen tubuh (Alexander, *et al.*, 1978). Substansi lain yang terkandung di dalam plasma semen seperti imunoinhibitor, immunosupresif dan zat orosomukoid, berfungsi melindungi spermatozoa terhadap mekanisme aktivitas sel-sel imunologis tubuh, yang mungkin akan mengganggu pergerakan spermatozoa (Koopman, *et al.*, 1973. ; Pavia, *et al.*, 1985 ; Tjokronegoro, 1978 dan Hagrave, *et al.*, 1993).

2.2.2.1. Pertumbuhan dan perkembangan spermatozoa

Pertumbuhan dan perkembangan spermatozoa terjadi di dalam tubulus seminiferus testis, melalui proses spermatogenesis, yang membutuhkan waktu sekitar 74 hari. Proses spermatogenesis dibedakan atas tiga fase (Hafez, 1977), yaitu :

a. Fase spermatositogenesis

spermatozoa berasal dari sel induk spermatogonium yang terdapat di lamina basalis tubulus seminiferus testis. Pada fase spermatositogenesis terjadi pembelahan mitosis dari sel induk sampai terbentuk spermatosit primer dengan jumlah kromosom pada setiap sel sama dengan sel induk.

b. Fase miosis

Pada fase ini ditandai dengan pembelahan profase dari spermatosit primer. Pembelahan ini melalui tahap *preleptotene*, *leptotene*, *zigotene* dan *pakitene*, yang selanjutnya menjadi spermatosit sekunder, dan melalui interfase yang sangat singkat akan mengalami miosis, sehingga terbentuk spermatid dengan setiap selnya mempunyai jumlah kromosom setengah dari sel induk.

c. Fase spermiogenesis

Dengan tanda adanya perubahan morfologis dari spermatid menjadi spermatozoa. Perubahan morfologis ini berupa pembentukan akrosom, kondensasi inti serta pembentukan ekor yang lebih panjang (Hafez, 1976 dan 1977). Maturasi spermatozoa terjadi selama perjalanannya, terjadi di luar testis, tepatnya di epididimis. Dalam proses ini terjadi perubahan morfologis, biokimiawi, biofisika, dan metabolisme. Perubahan morfologis

menyangkut sisa sitoplasma spermatid sebagai *cytoplasmic droplet*, yang akan menuju ke arah kaudal dan akhirnya menghilang, ekor memanjang, serta struktur nukleus lebih stabil. Perubahan metabolisme energi ditandai dengan adanya pergerakan spermatozoa.

Proses spermatogenesis dikendalikan oleh sistem saraf pusat melalui neurotransmitter, yaitu norepinefrin, dopamin, dan dikendalikan pula oleh sistem hormonal yaitu *gonadotrophin releasing hormone* (GnRH) yang disekresi hipotalamus. *Gonadotrophin hormone* ada 2 macam, yaitu *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH), keduanya disekresi hipofise anterior. Selain itu, hormon testosteron yang disekresi sel *Leydig* juga berperan dalam proses spermatogenesis. Mekanisme pengendalian ini dikenal sebagai poros hipotalamus – hipofisis - testis (Burger, et al., 1976 Hafez, 1977).

2.2.2.2. Morfologis spermatozoa

Bentuk spermatozoa memanjang, dengan satu ujung meruncing dan ujung lain lebih membesar yang berbentuk oval, seluruh bagian diselubungi oleh membran sel (Hafez, 1980). Ukuran panjang spermatozoa normal sekitar 50-55 μ (Hafez, 1980).

Spermatozoa terdiri 3 bagian, dan setiap bagian mempunyai ukuran yang berbeda (gambar 2.1). Bagian-bagian spermatozoa adalah :

a. Kepala

Kepala berbentuk oval, bulat telur, dengan diameter sekitar 3 μ .

Ukuran tebal 2 μ , dan panjang kepala termasuk lehernya sekitar 4,5 μ .

Di dalamnya terutama dibentuk oleh nukleus yang berisi faktor genetik ayah,

dan hampir tidak ada sitoplasmanya, tapi pada bagian leher didapatkan sitoplasma (Hafez,1980).

Pada bagian anterior kepala terdapat akrosom, yang meliputi hampir dua pertiga bagian kepala, sebagai suatu struktur yang menyerupai topi dan mempunyai peranan dalam proses pembuahan..

Berbagai bentuk kepala spermatozoa yang tidak normal dapat dilihat pada gambar 2.2 (Hafez, 1980 ; WHO, 1984), yaitu :

- a. *Macro* : Bentuk kepala yang lebih besar daripada ukuran normal.
- b. *Micro* : Bentuk kepala yang lebih kecil daripada ukuran normal.
- c. *Pin* : Bentuk kepala sebesar tanda titik atau jarum pentul.
- d. *Round* : Kepala berbentuk bundar atau bulat.
- e. *Amorf* : Bentuk kepala tidak teratur.
- f. *Double* : Kepala ada dua dengan satu ekor.
- g. *Piri* : Kepala berbentuk seperti buah pir atau bola lampu.
- h. *Lepto* : Bentuk kepala ramping memanjang.

b. Ekor

Bagian yang berbentuk memanjang ramping, dengan panjang 45-50 μ . Ekor dibedakan atas 3 bagian, yaitu (Hafez, 1980) :

1. *Middle piece (mid piece)* :

Bagian ekor yang terletak dekat kepala, panjang 5-7 μ , diameter 1 μ . Di dalam bagian ini diliputi oleh 10-15 mitokondria sebagai mikrotubul dan dibungkus dengan *fibrous sheet* dengan susunan melingkar.

Mitokondria tersebut melingkari 9 mikrotubul ganda (*nine doublet micro-*

tubule) dan di bagian tengah dekat sumbu terdapat dua mikrotubul. Setiap mikrotubule ganda memiliki dua lengan, yang satu lengan terletak di tepi dan yang satunya terletak lebih ke tengah (lihat gambar 2.3). Mitokondria ini berfungsi sebagai sumber energi yang berperan pada pergerakan spermatozoa

2. *Principal piece* :

Bagian ekor yang mempunyai ukuran panjang 45 μ , terletak di antara *mid piece* dan *end piece* dengan diameter lebih kecil dari *mid piece*.

Bagian ini disusun oleh mitokondria, yang dibungkus oleh *fibrous sheet*, dengan susunan seperti pada *mid piece*.

3. *End piece* :

Bagian ekor yang terletak pada ujung dengan ukuran panjang sekitar 5 μ .

Beberapa kelainan bentuk pada ekor dapat dilihat pada gambar 2.2 (Hafez, 1980 dan WHO, 1994) yaitu:

- a. *Double* : Didapatkan dua ekor dengan satu kepala.
- b. *Bent* : Bentuk ekor yang patah atau membengkok.
- c. *Coiled* : Ekor berbentuk melingkar seperti spiral.
- e. *Short* : Ekor sangat pendek dibandingkan ukuran normal.

Membran spermatozoa

Membran spermatozoa atau plasma membran membungkus seluruh permukaan spermatozoa, mulai dari kepala sampai ekor. Mempunyai susunan yang sangat kompleks dan tersusun dari beberapa macam bahan, antara lain lipid yang terdiri atas 2 lapisan fosfolipid, protein dan glikoprotein, serta karbohidrat

(Pedersons dan Fawcett, 1976 ; Darnel, *et al.*, 1990). Pada setiap bagian spermatozoa, membran sel mempunyai fungsi khusus sesuai dengan komposisi molekulernya.

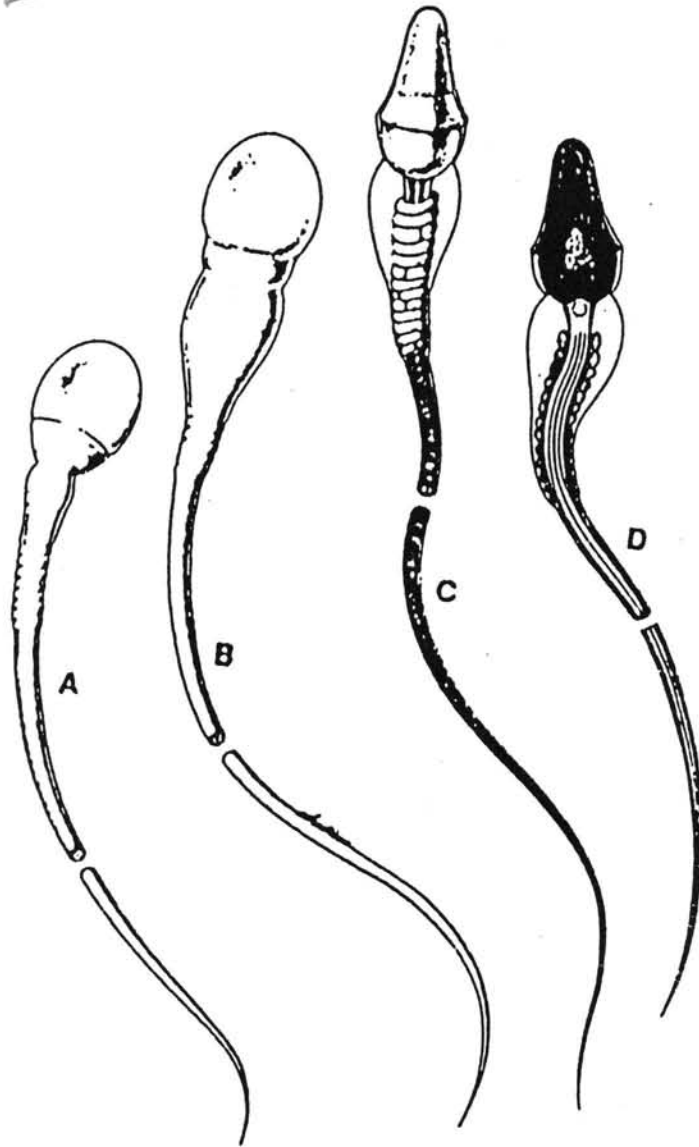
Menurut Zaneveld (1985), fungsi membran spermatozoa pada :

- a. Bagian kepala berperan pada saat spermatozoa menembus lapisan *corona radiata* dan *zona pellusida* yang berada disekeliling ovum
- b. Bagian belakang akrosom (*post acrosomal region*) mempunyai fungsi untuk mengadakan kontak pertama dan bagian ini akan menyatu dengan oolema ovum.
- c. Bagian ekor mempunyai fungsi untuk mendapatkan substrat yang dibutuhkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dan mempunyai peranan untuk menghantarkan gelombang gerakan.

Meskipun setiap bagian membran spermatozoa mempunyai peranan yang khusus, akan tetapi secara umum membran spermatozoa mempunyai fungsi sebagai suatu media transpor semua zat yang dibutuhkan spermatozoa. Lapisan protein yang terdapat pada membran spermatozoa mempunyai peranan yang spesifik sebagai reseptor terhadap rangsangan eksternal, sedangkan lapisan lipid yang terdapat pada membran spermatozoa mempunyai peranan sebagai stabilisator (Hafez, 1976).

Apabila dijumpai suatu kelainan pada salah satu bagian membran spermatozoa, misalnya didapatkan mikroorganisme yang melekat, maka kemungkinan akan mengakibatkan perubahan morfologis dan menimbulkan gangguan motilitasnya, sehingga tidak mampu melakukan pembuahan (Darnel, *et al.*, 1990).

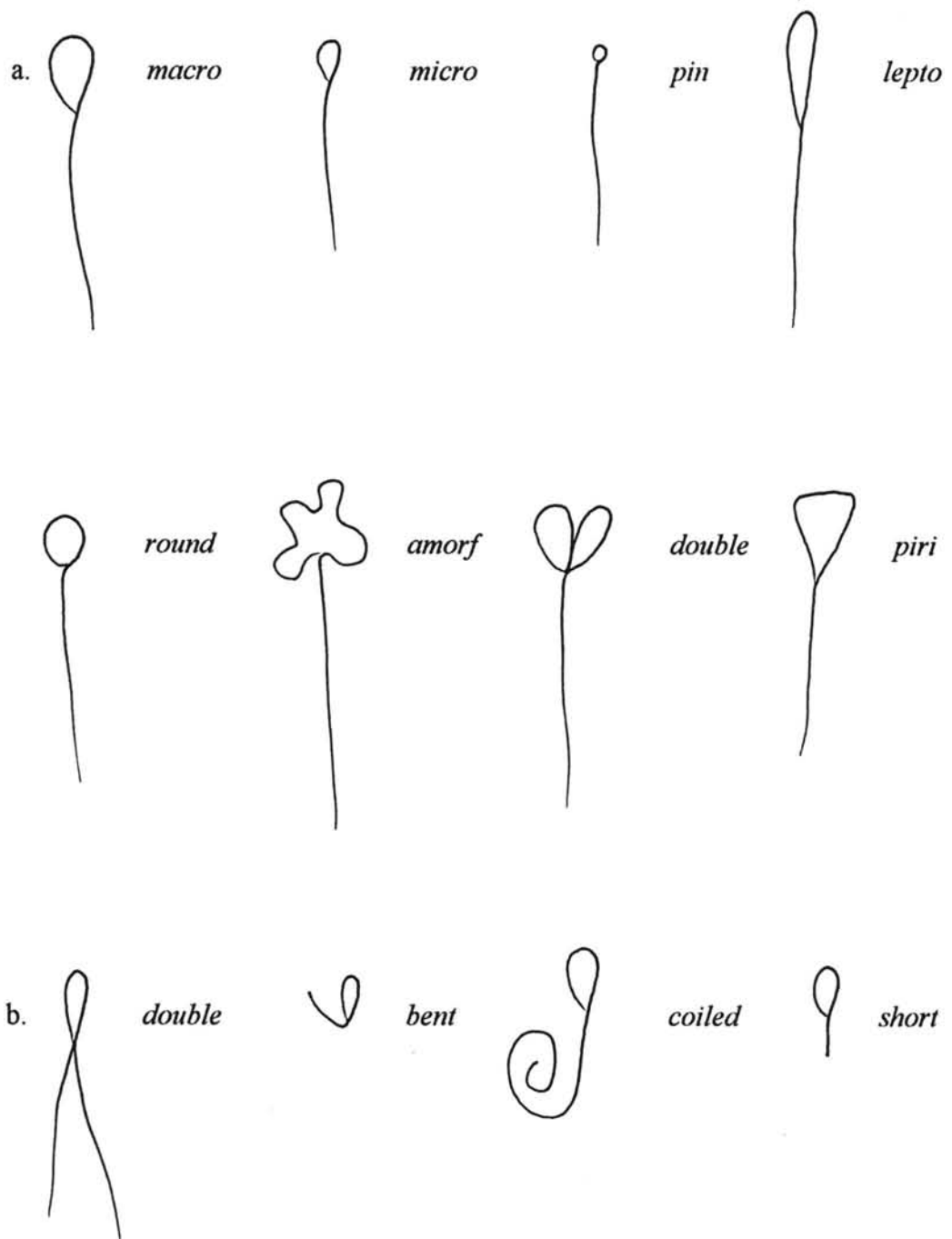
MILIK
 PERPUSTAKAAN
 UNIVERSITAS AIRLANGGA
 SURABAYA



Gambar 2.1. Spermatozoa manusia.
 (Hafez dan Prasad, 1976).

Keterangan :

- A&B : Dengan mikroskop elektron spermatozoon dengan ekor dipendekkan tetapi tetap utuh. Tetes sitoplasma (*cytoplasmic droplet*) menetap di sekitar leher dan dasar kepala pada B.
- C : Spermatozoa dengan membran yang dikelupas, tampak komponen akrosom, post akrosom, gulungan mitokondria dan jaringan fibrous. Kepala mengecil pada ujungnya berbentuk seperti taper.
- D : Spermatozoa dengan penampang sagital. Inti tampak padat, vakuola, sentriol proksimal, gulungan mitokondria, serabut luar dan aksonema



Gambar 2.2. : a. Kelainan bentuk kepala spermatozoa
: b. Kelainan bentuk ekor spermatozoa

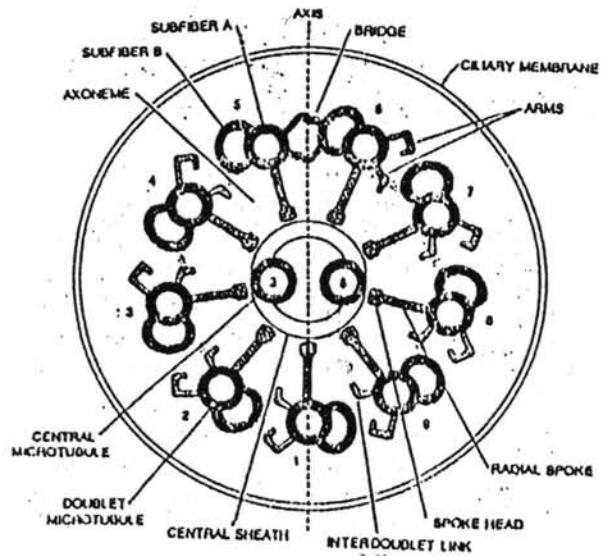
2.2.2.3. Pergerakan (motilitas) spermatozoa

Telah diketahui bahwa spermatozoa berfungsi sebagai pembawa genetik ayah dan penentu jenis kelamin anak serta berperan membuahi ovum. Untuk dapat mencapai ovum, spermatozoa melakukan gerakan dimulai dari tubulus seminiferus menuju saluran keluar spermatozoa dan saluran reproduksi wanita.

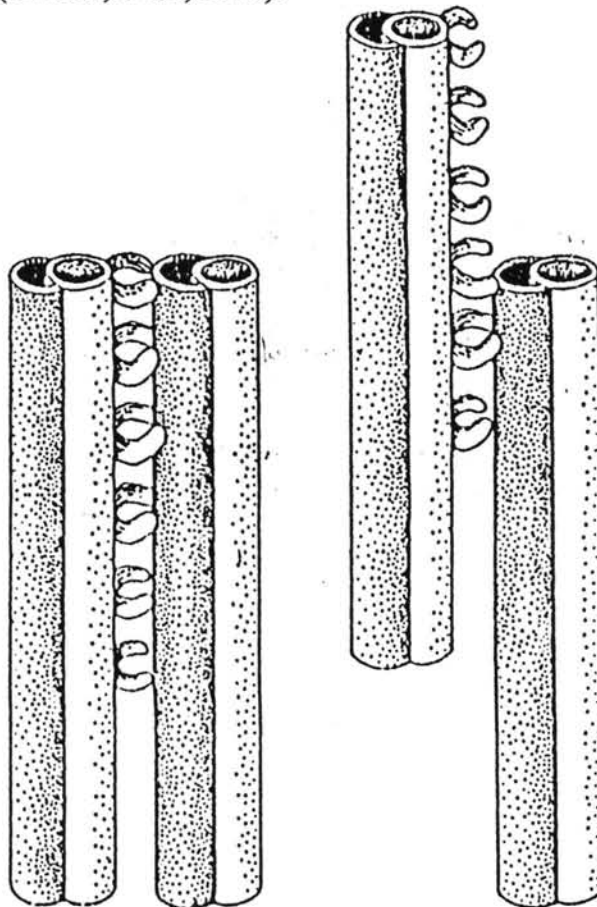
Pergerakan atau motilitas spermatozoa merupakan parameter penting dalam fertilitas pria. Spermatozoa dapat bergerak bebas dalam kondisi plasma semen yang normal, misalnya pH tidak asam dan tidak tercemar mikroorganisme patogen. Amelar, *et al.* (1980) mengutarakan suatu hipotesis yang dilakukan oleh beberapa peneliti mengenai spermatozoa dapat bergerak, yang disebut dengan *sliding microtubule hypothesis*.

Dasar mekanisme *sliding microtubule* adalah terjadinya geseran mikrotubule dari letaknya (lihat gambar 2.4), yang membutuhkan energi sehingga menggerakkan ekor dan mendorong kepala spermatozoa dengan akibat spermatozoa bergerak. Telah diketahui bahwa bagian *mid piece* dan *principal piece* dari ekor spermatozoa mempunyai susunan mitokondria dan mikrotubul yang spesifik. Satir (dalam Amelar, *et al.*, 1980) menyatakan bahwa ekor spermatozoa bergerak bilamana mikrotubul saling bergeseran, dan terjadinya geseran ini oleh karena ada *adenosine triphosphate* (ATP) dan adanya *dynein* pada lengan mikrotubul. Satir berpendapat bahwa *dynein* pada lengan mikrotubul sebenarnya merupakan aktivitas dari molekul ATP. Pendapat Satir ini didukung dengan suatu eksperimen yang dilakukan oleh Gibbons dan Rowe (dalam Amelar, *et al.*, 1980) yang menjelaskan bahwa energi untuk per-

gerakkan ekor spermatozoa disuplai dari hasil metabolisme di dalam mitokondria. Dalam metabolisme ini terjadi pemecahan ATP melalui proses hidrolisis menjadi *adeno diphosphate* (ADP) dan *phosphoric acid*. Pemecahan ini dibantu oleh enzim *adenosine triphosphatase* yang disebut *dynein*. *Dynein* diaktifkan oleh beberapa ion, yaitu magnesium, kalsium, kobalt, nikel dan potasium, namun aktivitasnya dapat dihambat oleh ion kadmium, seng, merkuri dan grup sulfhidril. Menurut Gibbons dan Rowe (dalam Amelar, *et al.*, 1980) pada saat pelepasan ATP ternyata terjadi geseran dari mikrotubul yang disebabkan adanya *dynein* yang dikeluarkan dari aksonema. Mereka melakukan pemeriksaan dengan mikroskop elektron, ternyata gambaran aksonema tidak menunjukkan adanya susunan struktur yang spesifik seperti pada aksonema normal. Gibbons dan Rowe (dalam Amelar, *et al.*, 1980) menjelaskan mengenai gambaran proyeksi pada mikroskop elektron ternyata menunjukkan sederetan proyeksi lengan mikrotubul yang menonjol keluar dari setiap 9 mikrotubul ganda. Kemudian mereka membuktikannya pada suatu eksperimen dengan mengeluarkan *dynein* dari aksonema, setelah itu aksonema tanpa *dynein* diletakkan dalam suatu medium dan ditambahkan *dynein* lagi. Hasil pemeriksaan dengan mikroskop elektron menunjukkan bahwa *dynein* yang ditambahkan ternyata ditampung kembali oleh aksonema yang tanpa *dynein*. Selain itu dijelaskan pula bahwa saat *dynein* ditampung kembali oleh aksonema, ternyata ditandai dengan munculnya aktivitas ATP serta lengan dari setiap 9 mikrotubul ganda kembali ke tempat semula, sehingga dianggap bahwa lengan ini adalah molekul *dynein*.



Gambar 2.3. : Pola dasar susunan struktur 9 + 2 aksonema .
 9 mikrotubul ganda yang mempunyai subfiber A dan B dengan
 2 lengan (Amelar, *et al.*, 1980).



Gambar 2.4 :Hipotesis gerakan geseran mikrotubul
 Kiri : Sebelum pelepasan ATP ; Kanan : Sesudah pelepasan ATP.
 (Almelar, *et al.*, 1980).

2.2.2.4. Fungsi spermatozoa

spermatozoa selain sebagai pembawa faktor genetik ayah, juga berfungsi untuk melakukan pembuahan. Dalam melakukan pembuahan ini spermatozoa akan mengalami beberapa proses, yaitu (Hafez, 1980 ; Adimoelja, 1981) :

a. Migrasi spermatozoa.

Migrasi spermatozoa meliputi transport dalam traktus reproduksi wanita, setelah ejakulasi dan semen berada dalam vagina. Kemudian spermatozoa menuju serviks, rahim dan saluran indung telur.

Dikenal 3 macam cara transportasi spermatozoa, yaitu

1. Transpor cepat (*Rapid = Short term transport*).

Dalam waktu yang singkat, sekitar 10 menit setelah diejakulasi ke dalam vagina, spermatozoa akan masuk ke dalam serviks, bahkan dalam waktu 1-3 menit beberapa spermatozoa dapat dijumpai dalam ostium internum serviks.

2. Kolonisasi dari cadangan spermatozoa (*Colonitiation sperm reservoirs*):

Setelah terjadi ejakulasi dan sebelum penetrasi dalam lendir serviks, spermatozoa lebih dahulu ditampung dalam lekukan-lekukan lendir serviks. Lekukan ini terbentuk setelah terjadi kontak langsung antara lendir serviks dengan plasma semen.

3. Pelepasan lambat dan transpor (*Slow release and transport*).

Pelepasan spermatozoa dari dalam lekukan lendir serviks secara perlahan-lahan dan seolah-olah seperti diarahkan oleh *miselles* mukosa serviks, sehingga dapat memberikan kontinuitas pemasukan spermatozoa ke

dalam rahim maupun ke dalam saluran indung telur.

Kecepatan penetrasi bergantung pada keadaan lendir serviks, kualitas spermatozoa, dan konsentrasi spermatozoa di dalam plasma semen (Hafez, 1980). Spermatozoa dengan motilitas yang baik dan konsentrasi yang tinggi akan menunjukkan penetrasi yang lebih baik pula, sedangkan spermatozoa yang menggumpal akan menurunkan kemampuan penetrasinya dan spermatozoa yang mati tidak akan dapat masuk ke dalam lendir serviks (Adimoelja, 1981 ; Bielfied, 1994).

b. Kapasitas spermatozoa.

Proses kapasitas spermatozoa menggambarkan adanya perubahan morfologis, fisiologis dan biokimiawi. Perubahan ini sangat dibutuhkan spermatozoa sebelum menembus *corona radiata* serta *zona pellucida* ovum. Proses kapasitas membutuhkan beberapa enzim proteolitik yang terdapat pada akrosom, misalnya *acrosin inhibitor*, *corona penetrating enzyme* dan *hyaluronidase*. Proses kapasitas ini juga menyebabkan perubahan selaput membran spermatozoa yang terletak berdekatan dengan akrosom, selain itu akan terbentuk pula beberapa tempat sebagai reseptor hormon steroid tertentu, sehingga hormon tersebut mudah diserap. Proses kapasitas diduga merupakan suatu sistem seleksi terhadap spermatozoa dalam organ reproduksi wanita, hingga jumlah spermatozoa yang dapat mencapai tempat pembuahan semakin sedikit (Adimoelja, 1981 ; Bielfield, 1994).

c. *Sperm zona binding*.

Pada proses ini spermatozoa mengadakan fusi dengan *zona pellusida ovum*.

Dibedakan dalam dua tahap, yaitu: tahap *attachment* yang sifatnya reversibel dan tahap *binding* yang bersifat irreversibel, sedang bagian spermatozoa yang berperan adalah segmen equatorial (Hinting, 1989).

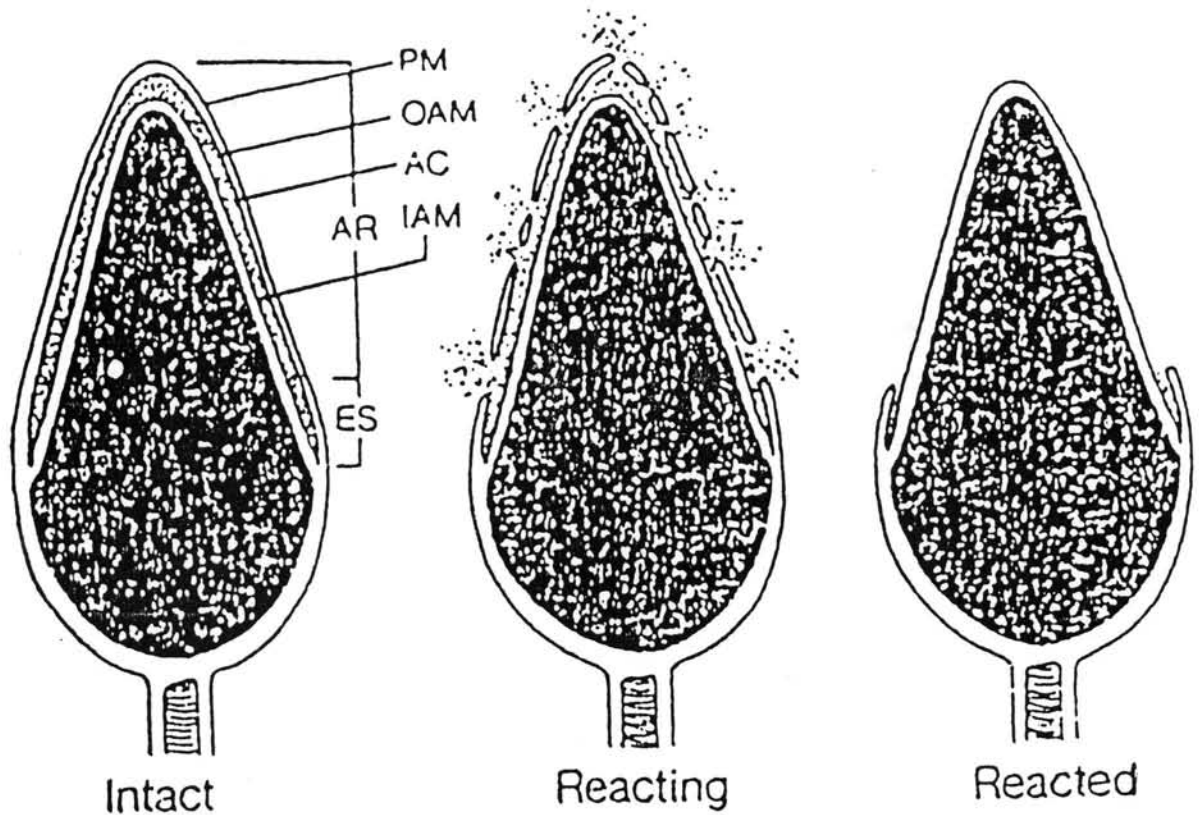
d. Reaksi akrosom.

Dua pertiga bagian kepala spermatozoa ditutupi oleh akrosom. Bagian membran akrosom yang menutupi inti disebut dengan *inner acrosomal membrane*, sedangkan bagian di bawah plasma membran spermatozoa disebut dengan *outer acrosomal membrane* (lihat gambar 2.5).

Reaksi akrosom menyebabkan fusi dan vasikulasi plasma membran spermatozoa dengan *outer acrosomal membrane*. Mula-mula akan terbentuk lubang dan akhirnya menyebabkan hilangnya seluruh membran bagian anterior sampai ke segmen equatorial, dengan akibat isi akrosom, yaitu enzim-enzim proteolitik keluar dan menghancurkan seluruh lapisan ovum, sehingga spermatozoa dapat menembus ovum (Liu dan Baker, 1992).

e. Fusi antara spermatozoa dengan oosit.

Proses fusi antara spermatozoa dengan oosit terjadi apabila spermatozoa telah menembus *zona pellusida*. Spermatozoa akan masuk ke dalam ruang perivitellina dan terjadi fusi antara spermatozoa dengan oosit. Dalam proses fusi ini, terlihat inti spermatozoa menjadi membengkak dan mengalami kondensasi kromatin hingga menjadi pronukleus jantan. Kemudian terjadi fusi antara kedua pronukleus tersebut, yang akhirnya akan menuju ke arah sentral dengan diikuti menghilangnya membran inti (Hinting, 1989).



Gambar 2.5. Struktur akrosom dan reaksi akrosom.
(Liu and Baker, 1992).

Keterangan :

- PM : *Plasma membrane* (membran plasma).
- OAM : *Outer acrosomal membrane* (membran luar akrosom).
- AC : *Acrosome contents* (isi akrosom).
- IAM : *Inner acrosomal membrane* (membran akrosom dalam).
- AR : *Acrosome region* (daerah akrosom).
- ES : *Equatorial segment* (bagian equator).

2.2.3 Analisis semen

Untuk menentukan kualitas maupun kuantitas semen, harus dilakukan analisis dengan menggunakan beberapa metode. Sebagai pedoman dapat dipergunakan petunjuk analisis semen yang dikeluarkan oleh WHO (1994).

Pemeriksaan laboratorium menurut WHO (1994) meliputi :

a. Pengambilan sampel :

Sampel semen diperoleh dari pria, dengan syarat abstinensi sekitar 3-7 hari. Semen didapat dengan cara masturbasi, kemudian semen ditampung dalam gelas atau botol kecil yang bermulut lebar. Masturbasi sebaiknya dilakukan di laboratorium.

b. Pelaksanaan analisis semen :

Analisis dilakukan setelah semen mengalami likuifaksi sempurna. Semen normal maksimum 60 menit telah terjadi likuifaksi.

Analisis ini meliputi pemeriksaan :

1. Makroskopis : Dengan cara mengamati langsung :

- a. Warna : Normal putih keabu-abuan.
- b. Bau : Pada semen normal berbau khas.
- c. Viskositas : Menunjukkan kekentalan semen. Pemeriksaan dengan pipet hisap, dan mengamati panjangnya semen yang menetes dari ujung pipet.
Viskositas normal kurang dari 2 detik telah menetes.
- d. Volume : Pengukuran dengan gelas ukur.
Volume normal 2.5-3.00 ml.

- e. pH : Untuk mengetahui asam atau basa. Pemeriksaan dengan kertas pH. Sekitar 30 detik setelah kertas pH dibasahi dengan semen akan merata dan kemudian dibandingkan dengan kertas kalibrasi untuk dibaca pHnya.
pH normal 7.2-7.8.

2. Mikroskopis : Melakukan pemeriksaan dengan mikroskop cahaya.

a. Konsentrasi spermatozoa :

Menghitung jumlah spermatozoa per ml, dengan alat *Makler Chamber Counting*. Jumlah spermatozoa yang dihitung adalah spermatozoa yang berada di dalam kotak kamar hitung (Makler, 1980).

Perhitungan: $N \times 1 \text{ juta} = N \text{ juta per ml}$.

Konsentrasi total : $N \text{ juta} \times \text{volume} = \dots \text{ juta per ejakulat}$.

Normal minimal 20 juta spermatozoz/ml -> *Normozoospermia*

Abnormal : < 20 juta spermatozoz/ml -> *Oligozoospermia*

< 5 juta spermatozoz/ml -> *Severe oligozoospermia*

tidak ada spermatozoa -> *Azoospermia*

b. Motilitas spermatozoa :

Menghitung setiap tipe motilitas spermatozoa pada preparat basah.

Ada 4 tipe motilitas spermatozoa , yaitu :

Tipe a : Bergerak cepat dan lurus ke depan.

Tipe b : Bergerak lambat dan tidak lurus.

Tipe c : Tidak bergerak maju atau gerak setempat.

Tipe d : Diam tidak bergerak

Motilitas normal : Bila jumlah tipe a + b > 50% -> *Normozoospermia*

Motilitas abnormal : Bila jumlah tipe a+b < c+d -> *Asthenozoospermia*

c. Morfologis spermatozoa :

Menghitung jumlah bentuk spermatozoa pada preparat kering, dengan menggunakan metode hapusan atau pengecatan cara *Giemsa*.

Morfologis normal : Bila jumlah bentuk spermatozoa yang normal minimal 50 -> *Normozoospermia*

Morfologis abnormal : Bila jumlah bentuk spermatozoa normal kurang dari 50 -> *Teratozoospermia*

d. Immunologis :

Bukan merupakan hal yang rutin, bergantung perkiraan diagnosis, terutama pada kasus *unexplained infertility*.

Pemeriksaan imunologis pada umumnya mengenai ASA. Metode yang dipergunakan adalah *Mixed Agglutination Reaction* (MAR).

Metode ini ada dua jenis, yaitu :

1. *MAR direct* cara mendeteksi ASA pada plasma semen.

2. *MAR indirect* (IMAR) cara mendeteksi ASA dalam serum darah.

Untuk menentukan ASA positif atau negatif, dengan menghitung jumlah spermatozoa yang terperangkap partikel lateks (a) dibagi dengan jumlah spermatozoa bebas (b) ditambah jumlah spermatozoa yang terperangkap partikel lateks, dalam satuan persen (Hinting, 1989).

Rumus :

$$\text{Positif : } \frac{(a)}{(a) + (b)} > 40\%$$

$$\text{Negatif : } \frac{(a)}{(a) + (b)} < 40\%$$

e. Biokimiawi :

Pemeriksaan biokimiawi bukan hal yang rutin, pada umumnya hanya untuk kasus *azoospermia*, *severe oligozoospermia*, atau pada kasus dengan volume semen kurang dari 1 ml. atau pada penderita MAGI.

Pemeriksaan biokimiawi untuk mengetahui konsentrasi fruktosa, alfa glukosidase dan fosfatase, dengan menggunakan spektrometer.

e. Kultur :

Pemeriksaan kultur bukan hal yang rutin, hanya pada penderita yang diduga infeksi, *leucospermia*, *haemospermia* dan MAGI, dengan tujuan untuk mengetahui jenis mikroorganismenya agar tepat pengobatannya.

Fertilitas pada pria ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain tentang struktur dan fungsi organ reproduksi serta sistem hormon reproduksi. Selain itu, kualitas dan kuantitas semen, juga merupakan salah satu faktor yang menentukan fertilitas pada pria. Plasma semen merupakan media yang penting bagi aktivitas spermatozoa. Di dalam plasma semen dapat pula dijumpai mikroorganisme yang tidak patogen, akan tetapi dapat pula tercemar mikroorganisme yang patogen. Perubahan kandungan di dalam plasma semen dapat mempengaruhi gerak spermatozoa. Sebagai contoh misalnya didapatkan leukosit dengan jumlah lebih dari satu juta per ml atau beberapa faktor imunologis yang merupakan reaksi infeksi, eritrosit yang merupakan tanda adanya perdarahan dan mikroorganisme atau antigennya, serta perubahan pH plasma semen yang menjadi asam. Keadaan tersebut, secara langsung dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa atau merusak

morfologis spermatozoa, sehingga secara tidak langsung mungkin dapat mengakibatkan motilitas spermatozoa terganggu. Sebagai contoh misalnya ada kerusakan pada bagian *mid piece*, padahal bagian ini merupakan tempat proses mekanisme gerakan spermatozoa, sehingga akan menyebabkan gangguan gerakan spermatozoa..

Dengan kemajuan teknologi, maka spermatozoa yang berada di dalam plasma semen yang kurang baik, kemungkinan masih dapat diperbaiki dengan cara dilakukan pencucian (*washing*) dengan menggunakan medium, sehingga spermatozoa yang kurang baik motilitasnya, sekarang menjadi meningkat kecepatan geraknya. Hal ini baik untuk inseminasi.

Yang paling banyak menyebabkan infertilitas pada pria adalah varikokel, sedang infeksi pada urutan ke dua. Infeksi pada organ reproduksi, dapat menimbulkan kerusakan organ reproduksi, sehingga spermatozoa tidak atau kurang sempurna (Skhandhan, *et al.*, 1982).

Beberapa mikroorganisme yang sering menyebabkan infeksi pada traktus reproduksi maupun traktus genitalia adalah *Neisseria gonorrhoe*, dengan gejala yang spesifik, sedangkan *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma*, *Trichomonas* dan *Chlamydia trachomatis* tidak menunjukkan gejala yang spesifik yang sering disebut dengan *nongonococcal urethritis syndroma* atau uretritis asimtomatik (Schmid, 1996). Salah satu mikroorganisme penyebab uretritis asimptomatik yang sulit dideteksi adalah *Chlamydia trachomatis* (Sotfer, *et al.*, 1990 ; Wessels, *et al.*, 1991). Untuk menunjang penelitian ini, maka perlu dijelaskan mengenai *Chlamydia*.

2.3. *Chlamydia trachomatis*

Menurut Boyd (1984), Broch dan Madiga (1991) *Chlamydia trachomatis* suatu mikroorganisme termasuk :

" Family : *Chlamydiaceae*
 Genus : *Chlamydia*
 Species : *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *TWAR.* "

2.3.1. Identifikasi morfologis

Chlamydia merupakan suatu mikroorganisme prokariota, mempunyai ciri yang agak berbeda dengan bakteri maupun virus.

Berbentuk *cocoid spiroidal*, dengan diameter 0.2-1.5 μm , sangat kecil seperti virus, dengan siklus hidup sebagai parasit obligat intraseluler di dalam sitoplasma sel inang.

Gambaran morfologis *Chlamydia* terlihat sebagai bakteri Gram negatif, yang tidak memiliki mekanisme untuk menghasilkan energi metabolik dan tidak dapat mensintesis ATP, namun sel inang mencukupi kebutuhannya (Jawezt, *et al.*, 1991).

Menurut Jawezt, *et al.* (1991) ; Boyd (1984) ; Broch dan Madiga (1991), *Chlamydia* mempunyai ciri sebagai berikut :

- a. Memiliki RNA dan DNA, seperti bakteri, sedang virus hanya memiliki RNA atau DNA saja.
- b. Dapat membelah menjadi banyak, seperti bakteri, sedangkan virus tidak.
- c. Dinding sel banyak mengandung lemak, bagian luarnya mirip dinding sel bakteri Gram negatif, relatif keras namun tidak mengandung *peptidoglycan* yang khas seperti pada bakteri dan lipopolisakarida.

d. Mempunyai dua tipe antigen, yang berada pada membran sel.

Menurut Jawezt, *et al.* (1991), Broch dan Madiga (1991), *Chlamydia* memiliki dua tipe antigen yaitu :

1. Grup antigen ke 1 :

Grup antigen ke 1 terletak pada membran sel semua spesies *Chlamydia*, tersusun atas lipopolisakarida, asam nukleat dan protein.

2. Grup antigen ke 2 :

Grup antigen ke 2 bersifat spesifik, dijumpai pada membran sel setelah grup antigen ke 1. Antigen ini tersusun atas protein yang khas dan dapat dideteksi.

Pada *Chlamydia trachomatis* dijumpai 15 macam *serotype*, antara lain A, B, Ba, C, D, K, dan L1-L3. Pada tiga tipe terakhir yaitu L1-L3 adalah tipe imuno *Lympho Granuloma Venerum* (LGV), sedang *serotype* D dan K merupakan salah satu penyebab STD dan *serotype* A, B, Ba, C diduga menginfeksi mata (Bailey & Scott's, 1990 ; Friberg, 1990 ; Schachter, 1990 ; Jawezt, *et al.*, 1991).

Lipopolisakarida pada dinding *Chlamydia trachomatis* bersifat endotoksin yang dapat menyebabkan kerusakan dinding sel inang. Selain itu, bersifat antigenik yang dapat merangsang sistem imunologis lokal dan sistemik, sehingga terjadi pembentukan antibodi lokal, di dalam sekret dan serum (Schachter, 1990). Terbentuknya antibodi terhadap *Chlamydia* dalam serum lebih menonjol dibandingkan lokal. Sebagian besar IgG dan IgA, serta lebih banyak pada penderita infeksi saluran genitalia daripada infeksi mata.

- e. Mampu memproduksi *endotoxin lipopolysacharida antigen*.
- f. Pengecatan spesimen dengan metode *Gram* negatif, memberikan gambaran seperti bakteri, sedang virus tidak dapat dilihat dengan mikroskop cahaya.
- g. Kultur hanya dapat dilakukan pada media jaringan seperti virus, sedangkan kultur bakteri dapat dengan media agar.
- h. Pertumbuhan dapat dihambat dengan obat golongan antibiotika, misalnya golongan *sulfonamide*, *tetracycline*, *doxycycline* dan lain-lain..

Atas dasar komposisi antigen pada membran sel, penyakit yang ditimbulkannya dan kerentanannya terhadap *sulfonamide*, maka genus *Chlamydia* dapat dibedakan menjadi beberapa spesies. Menurut Jawezt (1980) dan Broch, *et al.*, (1991) genus *Chlamydia* ada 3, yaitu *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci* dan *TWAR* (*Taiwan Acute Respiratory* atau *Chlamydia pneumonia*). Faktor lain yang membedakan setiap spesies, dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Perbedaan antara spesies *Chlamydia* (Byod, 1984).

"Property	<i>Trachomatis</i>	<i>Psittaci</i>	<i>TWAR</i>
Host	human ; rat	human ; rat	human
Elementary body	round	Round	pear shape
Inclusion morphology	round vacuoler	variation ; solid	round ; solid
Glycogen inclusion	positive or yes	negative or no	negative or no
Susceptable sulfonamid	positive or yes	negative or no	negative or no
DNA homolog	10%	10%	10%
Plasmid DNA	positive or yes	negative or no	negative or no"

Selain perbedaan tersebut, setiap spesies dapat menimbulkan penyakit yang berbeda pula, *Chlamydia trachomatis* menyebabkan *trachoma* dan *veneral disease*, sedangkan *Chlamydia psittaci* dan *TWAR* menyebabkan *pneumonia*.

2.3.2 Siklus hidup *Chlamydia trachomatis*

Menurut Jawezt, *et al.* (1991), Boyd (1984), Broch dan Madiga (1991) serta Meech (1996), siklus hidup spesies *Chlamydia* di dalam sel inang akan mengalami perubahan. Kemudian beberapa jam setelah kontak akan berkembang biak dan terbentuk dua badan, yaitu :

a. Badan elementer (*Elementary body* = EB).

Suatu partikel yang bersifat infeksius, dengan struktur kaku dan padat, bentuk bulat kecil, diameter 0.3 μm , relatif resisten dengan pemanasan, dan tidak berkembang biak. Mempunyai RNA dan DNA yang jumlahnya seimbang, dan terkonsentrasi pada inti.

Melekat atau mengikatkan diri pada permukaan membran sel inang yang rentan, menyebabkan terjadi proses endositosis dan tertutup dalam sitoplasma visikel suatu fagosom, serta mampu mencegah fusi dari lisosom.

Setelah fase inisial akan mengubah diri menjadi bentuk yang aktif.

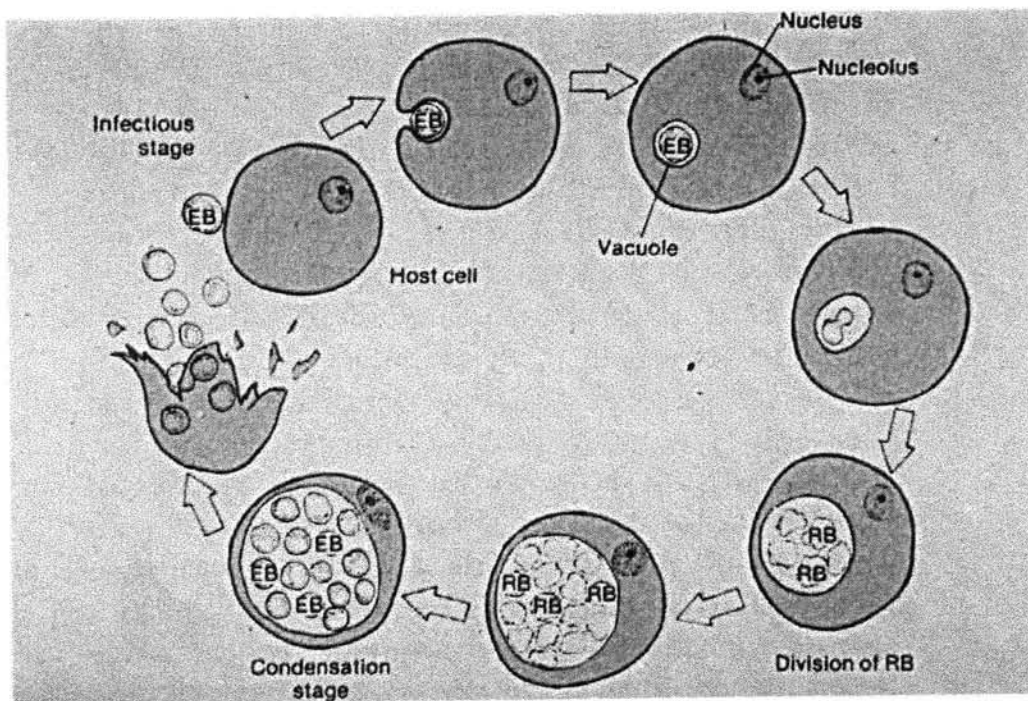
b. Badan retikulit (*Reticulate body* = RB)

Suatu partikel yang bersifat kurang infeksius tapi aktif, dengan struktur tidak kaku dan tidak padat, bentuk bulat besar, berdiameter 0.8-1.5 μm , dan dapat berkembang biak di dalam sel. Mempunyai inti padat yang berisi fibril, serta RNA dan DNA yang lebih banyak dari pada EB.

Menurut Meech (1996), RB mampu berkembang biak secara vegetatif dalam waktu 18-24 jam setelah kontak, sehingga vakuol yang terisi RB mendesak inti ke tepi, dan sebagian besar akan mengubah diri menjadi EB.

Kedua bentuk badan ini tetap berada di dalam sel inang, bahkan mungkin

tetap di dalam sel fagosit selama 48-72 jam setelah kontak (Meech, 1996). Suatu saat vakuol yang terisi RB dan EB makin mendesak membran sel inang, sehingga menyebabkan membran sel pecah (Broch, et al., 1991). Sebagai akibat pecahnya membran sel, maka EB maupun RB akan keluar dari sel inang dalam jumlah banyak dan EB akan menuju ke sel inang lain yang rentan, kemudian akan berkembang biak lagi ; Boyd, 1984 ; Broch dan Mandiga, 1991 ; Jawezt, et al., 1991).



Gambar 2.6. Siklus hidup *Chlamydia* :Elementary body dan Reticulate body (Byod, 1984)

2.3.3. Patogenesis infeksi *Chlamydia trachomatis*

Terjadinya penularan infeksi *Chlamydia trachomatis* pada manusia umumnya melalui hubungan kelamin antara wanita dan pria, meskipun ada beberapa kasus tanpa melalui hubungan kelamin, misalnya pada neonatus yang dilahirkan dari ibu dengan infeksi ini dapat menyebabkan konjungtivitis dan

dapat mengakibatkan kebutaan pada bayi.

Penelitian yang dilakukan di USA dan Eropa Barat, pada kelompok dengan sosial ekonomi tinggi, menggambarkan bahwa *Chlamydia* dengan serotype D dan K, merupakan salah satu penyebab STD, dengan gejala uretritis *non gonococcal*, dan diduga menginfeksi mata (Jawezt, 1980 ; Friberg, 1990).

Penelitian yang dilakukan oleh Krieger (1984) pada pria berumur sekitar 35 tahun, yang masih aktif hubungan seksnya, ternyata 50% dari kelompok ini menderita epididimitis dan diidentifikasi oleh karena *Chlamydia trachomatis*.

Laporan penelitian Kruse, *et al.* (1996) pada 197 sampel semen pria infertil rata-rata selama 4 tahun, ternyata yang menunjukkan infeksi *Chlamydia trachomatis* hanya 5.5 %. Pada penelitian ini tidak disebutkan infeksi ini akut atau kronis, tapi di dalam semen terdapat IgA terhadap *Chlamydia trachomatis* sebesar 18.8 % dan IgG terhadap *Chlamydia trachomatis* 8.1 % dari 197 sampel. Hasil ini berkorelasi positif dengan IgA maupun IgG anti *Chlamydia trachomatis* dalam serum, dan analisis semen menunjukkan motilitas spermatozoa tidak normal. Selain itu dilaporkan pula bahwa hasil *swab* endoservikal pada pasangannya yang tanpa gejala klinis, menunjukkan *Chlamydia trachomatis* positif, dengan kerusakan pada saluran tuba. Kesimpulan penelitian ini bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* merupakan salah satu STD yang dapat menimbulkan infertilitas pada pria dan wanita.

Radouani, *et al.* (1996) melaporkan hasil penelitiannya pada 139 pria infertil yang masih aktif hubungan seksnya, dengan menggunakan *microimmuno-fluorescence* (MIF) untuk mendeteksi ASA dan DNA. Dari

sampel tersebut dilakukan pemeriksaan kualitas semen sebanyak 124 sampel, pemeriksaan ASA pada 87 sampel dan 92 sampel diperiksa DNA *Chlamydia trachomatis* dalam plasma semen. Hasil penelitian dengan MIF, 24.5% positif, 11% ASA positif dan 8% dari kedua hasil ini juga ada anti *Chlamydia trachomatis* dengan kualitas semen yang tidak normal. Bahkan pada penderita azoospermia lebih banyak dijumpai antibodi *Chlamydia trachomatis*, sedangkan DNA *Chlamydia trachomatis* dalam plasma semen hanya 7.6 %

Penularan infeksi *Chlamydia trachomatis* di saluran genitalia, sebagian besar dijumpai pada mereka yang berhubungan seks dengan berganti-ganti pasangan (Genc, *et al.*, 1993). Masa inkubasi infeksi *Chlamydia trachomatis* sekitar 3-10 hari setelah kontak pertama, dengan gejala klinis tidak spesifik.

Menurut Friberg (1990), Megory, *et al.* (1991) dan Hinting (1992), pada pria umumnya hanya menunjukkan gejala :

- a. Uretritis asimtomatik, kadang-kadang diikuti dengan rasa sakit, iritasi dan sakit sewaktu ejakulasi.
- b. Lesi pada epididimis, hingga menyebabkan obstruksi atau striktura uretra.
- c. Infiltrasi ke prostat dan jaringan testis.
- d. Mengeluarkan sekret kental atau cair, sangat jarang terjadi hematuria.

Penelitian yang dilakukan oleh Kadar, *et al.* (1995) pada penderita prostatitis kronis dengan gejala uretritis, ternyata sebagian besar disebabkan *Chlamydia trachomatis*. Kadangkala apabila menginfeksi kelenjar aksesori, dapat menimbulkan gejala yang akut, misalnya nyeri di sekitar alat kelamin, sekret kental, lekospermia, bahkan mungkin dapat terjadi hemospermia.

Menurut Meech (1996) *Chlamydia trachomatis* merupakan mikro-organisme patogen yang terdapat di serviks bukan di vagina, oleh karena itu untuk diagnosis spesimen diambil dari jaringan endoservikal, bahkan ketepatan diagnosis mencapai 40%-50%. Laporan penelitian Meech (1991) pada 34 wanita pasangan infertil berkulit putih dari golongan sosial ekonomi tinggi di Afrika Selatan, ternyata 14 orang (36%) disebabkan *Chlamydia trachomatis*, sedang pada 41 wanita pasangan fertil hanya 8 orang (19,5%).

Rowe (1992) melaporkan hasil penelitiannya pada tahun 1991 di negara berkembang, rerata prevalen *Chlamydia cervicitis* pada wanita hamil antara 7,7%-45,1% dengan median 20%, prevalen tertinggi di Fiji 45,1%, di Kenya 29% dan di Thailand 12,8%.

Pada wanita gejala infeksi *Chlamydia trachomatis* sama halnya dengan pria, yaitu uretritis asimtomatik (Rowe, 1992), namun adakalanya timbul keluhan *pelvic inflammatory diseases* (PID) dan atau salpingitis (Meech, 1996).

Meskipun infeksi *Chlamydia trachomatis* mampu dimusnahkan dengan obat golongan *tetracyclin* dan *sulfonamide*, tetapi tetap dapat menimbulkan kesulitan, oleh karena mereka yang terinfeksi pada saluran reproduksinya tidak menunjukkan gejala klinis. Akibatnya pengobatan seringkali kurang efisien, bahkan menjadi kronis hingga timbul penyulit lain. Penyulit yang sering dijumpai adalah penyumbatan pada saluran sistem reproduksi oleh karena kerusakan jaringan epitelium, kelenjar aksesori maupun testis (Megory, *et al.*, 1991), saluran indung telur pada wanita (Meech, 1991). Penelitian Stamm, *et al.* (1996) pada 452 pria *nongonococcal urethritis asymptomatic*, ternyata 371

pria disebabkan *Chlamydia trachomatis* dan sisanya disebabkan oleh *Ureaplasma urealyticum*. Penelitian tersebut dilakukan untuk mengetahui efektivitas terapi dengan *doxycycline* dan *azithromycin*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terapi dengan *azithromycin* dalam 14 hari, dari 248 penderita 75-85% menunjukkan hasil lebih baik daripada yang mendapat terapi *doxycycline*, sebab yang mendapat terapi *doxycycline* dari 123 penderita hanya 77 % yang menunjukkan *Chlamydia trachomatis* negatif (Stamm, *et al.*, 1996).

Diagnosis infeksi *Chlamydia trachomatis* dapat ditentukan dengan berbagai pemeriksaan, yaitu :

1. Klinis :

Diagnosis berdasarkan gejala klinis umumnya sangat sulit dipastikan oleh karena gejala yang timbul dan yang dikeluhkan oleh penderita tidak khas.

2. Laboratorium :

Untuk menentukan diagnosis dengan tepat, harus dilakukan pemeriksaan laboratorium.

Pemeriksaan laboratorium dilakukan dengan mengambil spesimen dari :

a. *Swab* endouretral pada pria dan *swab* endoservikal pada wanita.

Pengambilan spesimen pada uretra atau serviks bertujuan untuk mencapai sel epitel uretra atau sel epitel serviks. Dalam sel ini terdapat *inclusion bodies Chlamydia trachomatis* yang berisis bentuk RB atau EB.

Beberapa cara yang dapat dilakukan untuk pemeriksaan spesimen dari uretra maupun serviks, yaitu

1. Metode *Giemsa* untuk menentukan ada tidaknya *inclusion bodies* di

- dalam sel epitel, dengan cara membuat preparat hapusan pada kaca obyek, kemudian dilihat dengan mikroskop cahaya.
2. Metode *Microparticle Enzyme Immuno Assay* (MEIA) untuk mendeteksi ada tidaknya antibodi terhadap *Chlamydia trachomatis*.
 3. Metode *Immunoassay System* (IMx) untuk mendeteksi fraksi antigen *Chlamydia trachomatis*. Dasar pemeriksaan IMx adalah MEIA (*Abbot Laboratories Division*, 1993).
 4. Metode *Direct Fluorescence Assay* (DFA) dengan menggunakan *fluorochrom labelled monoclonal antibody*, untuk mendeteksi antigen *Chlamydia trachomatis*. Metode ini menggunakan mikroskop fluoresensi.
 5. Metode *Fluorescent monoclonal antibody to the major outer membrane protein (MOMP)* misal *Syva Micro Track*. Tujuan metode ini untuk mendeteksi EB *Chlamydia trachomatis*.
 6. Metode kultur merupakan metode yang paling tepat untuk menentukan diagnosis. *Chlamydia* tidak dapat berkembang biak apabila menggunakan medium agar untuk pembiakan mikroorganisme. Di negara maju telah dilakukan penelitian untuk pembiakan *Chlamydia* dengan memakai jaringan yang berasal dari spesies lain, yaitu sel ginjal kera, *Mc Coy cells* atau pada *yolk sac* embrio ayam (Bailey & Scott's, 1990 ; Isenberg, 1992 ; Ward, 1992 dan Meech, 1996). Untuk memastikan pertumbuhannya, maka harus dilakukan pemeriksaan silang dengan pengecatan metode *Giemsa*, bahkan setelah hari ke 13 sejak inokulasi,

media yang tidak tampak adanya pertumbuhan harus diinokulasi lagi, dan untuk menentukan spesies *trachomatis* menggunakan pengecatan metode *iodine*.

b. Urin (*First Voided Urine* = FVU).

Urin dikeluarkan pada pagi hari ditampung, sebanyak 10 ml, kemudian disentrifugasi dan diambil sedimennya untuk dilakukan pemeriksaan DNA *Chlamydia trachomatis*. Pada saat yang sama dilakukan pemeriksaan lekosit esterase, untuk mengetahui konsentrasi lekosit. Pemeriksaan sampel urin ini dapat menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), suatu metode yang sensitif untuk mendeteksi DNA *Chlamydia trachomatis* (Brule, *et al.*, 1993 dan Within, *et al.*, 1993). Pada tahun 1995, WHO melaporkan hasil pemeriksaan pada spesimen FVU dari 350 pria di Bangkok, 500 pria di Chiang Mai dan 360 pria di Hat Yai, dengan menggunakan PCR, ternyata ditemukan antigen *Chlamydia trachomatis*.

Pada umumnya tubuh yang terkontaminasi oleh protein asing, maupun mikroorganisme patogen, selalu akan melakukan pertahanan dengan sistem imunologis tubuh lokal dan sistemik. Dengan adanya sistem ini, maka akan terbentuk antibodi yang spesifik terhadap mikroorganisme tersebut.

2.4. Aspek imunologis traktus reproduksi

Traktus reproduksi seperti organ yang lain, memiliki epitel mukosa, jaringan sub mukosa dengan lamina propia sebagai batas dengan lapisan muskularis, dan semua bagian traktus reproduksi mempunyai sistem imun spesifik disebut sistem imun mukosal (Beckerman, 1994 ; Pudney, *et al.*, 1995).

Menurut Pudney dan Quale (1995) fungsi sistem imun mukosal untuk melindungi permukaan mukosa sel inang dan mengikut sertakan faktor pertahanan non imunologis, misalnya :

- a. Faktor yang menghambat pertumbuhan flora normal menjadi patogen.
- b. Aktivitas kontraksi peristaltik otot atau fungsi silia untuk merawat aliran mukus dan mengurangi interaksi kemampuan patogenesis flora dengan epitel. Substansi yang disekresi membuat lingkungan tidak baik bagi bakteri patogen.
- c. Sekresi mukus, misalnya *Glycocalyx* berguna sebagai barier epitel, dan enzim lisosom untuk menghambat mikroorganisme spesifik.

Sistem imunologis ini terdapat sejak dari testis, yaitu dengan adanya *blood testis barrier* dan kemampuan sel Sertoli untuk memproduksi *cytokines* (Pudney dan Anderson, 1993). Demikian pula halnya dengan saluran reproduksi pria, sejak dari rete testis sampai uretra dijumpai kelenjar limfe, yang dapat berperan pada mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme, terutama terhadap kelompok penyebab STD. Beberapa penelitian yang telah dilakukan, ternyata dengan metode *immunocytochemical* dapat untuk mendeteksi antibodi, khususnya sel darah putih di saluran reproduksi pria, dan limfosit yang berada di antara sel epitelium mukosa (Pollanen dan Niemi, 1987 ; El-Demiry dan James, 1988).

Menurut El-Demiry dan James (1988), pada pria normal di dalam tubulus seminiferus tidak akan dijumpai limfosit maupun sel darah putih yang lain.

Menurut penelitian Hermo dan Laili pada tahun 1978 yang dikutip oleh

Pudney dan Anderson (1993), ternyata pada membran tubulus didapatkan *Human Leucocyte Antigen-DR class II* (HLA-DR II) dan dalam keadaan normal ditunjukkan sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC), misalnya makrofag dan monosit. Pudney (1986) telah melakukan penelitian, ternyata di dalam jaringan intertubuler testis yang normal dijumpai makrofag yang berperan untuk proses fagositosis terhadap sel-sel intertubuler yang telah mati, terkecuali sel *Leydig*.

Penelitian Calcin, *et al.* pada tahun 1990 yang dikutip oleh Pudney dan Anderson (1993), ternyata pada percobaan *in vitro Macrophag Cytokines Interleukin-I* (IL-I) dan *Tumor Necrosis Faktor- α* (TNF- α) meregulasi produksi hormon androgen dari sel *Leydig*.

Borgh pada tahun 1988 yang dikutip oleh Pudney dan Anderson (1993), ternyata ada asosiasi antara sel *Leydig* dan makrofag, oleh karena terjadi perubahan fungsi struktural, sehingga terjadi gangguan hormon gonadotrophin, dan pada bagian ini tidak akan dijumpai limfosit T.

Dalam keadaan obstruksi total hingga terjadi *azoospermia* dan pada keadaan *oligospermia* akan ditemukan beberapa tipe limfosit T, yaitu suatu *Cytotoxic (Supressor)* dan *T Helper (inducer)*, dengan petanda *Cluster of Differentiation* (CD) yaitu CD8 dan CD4. Selain itu pada vasotomi dan obstruksi testis unilateral, CD4 nampak dominan (El-Demiry dan James, 1988). Akibat lain dapat menyebabkan degradasi spermatozoa hingga *blood testis barrier* rusak. Kemudian akan terjadi kebocoran spermatozoa dan kerusakan sirkulasi, yang mengakibatkan sel imunokompeten dalam hal ini makrofag dan limfosit, keluar menembus barier tadi dan terjadi kontak dengan spermatozoa,

maka dapat terbentuk ASA (Tjokronegoro, 1982 ; Alexander, *et al.*, 1987; Mandelbaum, *et al.*, 1987).

Menurut Pudney dan Anderson (1993) dan Player (1993), pada pria normal tampak adanya kompartmen dari limfosit T sebagai CD8 primer yang tersebar di antara perbatasan sel-sel epitelium, sedang CD4 dapat dijumpai dalam jaringan sub mukosa dan epitelium epididimis.

El-Demiry, *et al.* (1988) mengatakan, kadang-kadang dapat pula dijumpai limfosit B pada perbatasan sel-sel epitelium dan menurut Pollanen dan Neimi (1993) dapat pula ditemukan *Natural Killer Cells* (NK cell).

Teori Ritchie, *et al.* pada tahun 1984 yang dikutip oleh Pudney dan Anderson (1993), menjelaskan bahwa limfosit T tepatnya CD8 yang terdapat pada lapisan epitelium sepanjang saluran reproduksi, secara reguler mencegah terjadinya reaksi imunologis lokal terhadap spermatozoa.

Pada pria normal, epitel kelenjar aksesori, misal pada vesika seminalis, prostat atau kelenjar yang lain dapat ditemukan makrofag dan sel NK (Pollanen dan Neimi, 1987) serta limfosit T, CD8 dan CD4 (El-Demiry dan James, 1988). Aktivitas dan produksi faktor immunosupresif dalam cairan epididimis maupun sekret kelenjar yang lain dipengaruhi hormon testosteron (Anderson, *et al.*, 1982).

Dari hasil beberapa penelitiannya, Pudney dan Quale (1995) menyimpulkan, bahwa permukaan mukosa epitelium traktus reproduksi pria dapat merupakan *Cell Mediated Immune Responce* (CMI), dengan petanda CD8 dan CD4, makrofag serta limfosit yang mampu memproduksi *cytokines*, sedang

limfosit T memproduksi IFN- γ dan TNF- α , dan produk tersebut terbukti dapat menghambat motilitas spermatozoa.

Pada traktus reproduksi dan traktus genitalia wanita sistem imun mukosal sama halnya dengan pria, hanya pada wanita tidak dijumpai sistem *blood testis barrier*. Lapisan epitel pada mukosa merupakan tempat penting dalam mekanisme pertahanan. Epitel-epitel ini mampu mengsekresi mukus yang bersifat sebagai barier terhadap protein asing yang masuk, misalnya mikroorganisme maupun spermatozoa (Cooper, 1995). Selain mukus sebagai barier, apabila ada mikroorganisme patogen, sistem imun mukosal juga akan melakukan pertahanan yang ditandai dengan adanya aktivitas limfosit T intra-epitelial dalam ekspresi sebagai CD4 dan CD8, makrofag yang diekspresi sebagai lekosit dan sel NK, semua faktor imunologis ini dapat dijumpai di lamina propia (Cooper, 1995). Menurut Cooper (1995) reaksi imunologis pada infeksi di traktus genitalia wanita dapat ditandai dengan me-ningkatnya beberapa faktor imunologis lokal, yaitu sekresi IgA, IgG, limfosit, lekosit, bahkan diduga CMI juga meningkat. Limfosit dan lekosit merupakan faktor kemotaksis yang diproduksi dari *cytokines* lokal atau berasal dari aktivitas faktor komplemen lokal, akan bermigrasi ke dalam lumen rahim maupun saluran indung telur (Cooper, 1995). Hasil produk ini diduga dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan rahim maupun saluran indung telur, sehingga terjadi penyumbatan saluran indung telur (Cooper, 1995 ; Pudney dan Quale, 1995).

Penularan *Chlamydia trachomatis* melalui hubungan seks mempunyai lokus primer pada genitalia, oleh karena sifatnya oblikuat intraseluler, maka

Chlamydia trachomatis akan berada di dalam sel epitel uretra pria yang merupakan salah satu saluran reproduksi, sedang pada wanita di epitel serviks, endometrium dan saluran indung telur (Cooper, 1995). Akibat keberadaan *Chlamydia trachomatis* pada salah satu epitel saluran, maka akan terjadi suatu mekanisme respons imunomukosal atau respons imun lokal, bahkan dengan adanya sifat antigen yang dimilikinya maka dapat pula terjadi respons imun sistemik. Pada infeksi primer di minggu pertama atau kedua setelah terkontaminasi, akan dijumpai IgG dan IgA di dalam serum maupun dalam sekret (Cooper, 1995), dengan ditandai adanya proliferasi limfosit sebagai hasil aktivitas CMI pada epitelium. Respon tersebut sangat efektif terhadap bentuk RB, akan tetapi lain halnya dengan bentuk EB yang malah akan menetap di dalam sel (Cooper, 1995). Dalam keadaan demikian maka sel T pada daerah epitelium saluran reproduksi akan mengadakan hubungan spesifik dengan sel spesifik di jaringan sub mukosa untuk mengeluarkan *Cytokines* (Parr, *et al.*, 1994 ; Cooper, 1995) yang mampu membunuh *Chlamydia trachomatis*.

Selain itu pada *murine* yang diinfeksi buatan dengan EB, ternyata *Chlamydia trachomatis* dapat merangsang produksi IFN- γ , produk dari limfosit yang berupa *cytokines*, IL-6 dari sel B dan IFN- γ dari sel T, sedangkan IL-2 tidak dapat terdeteksi (Cooper, 1993). Hasil percobaan pada *murine* ini juga menunjukkan keberadaan faktor imunologis tersebut, terutama IgG dan IgA lokal maupun sistemik, bahkan beberapa minggu setelah fraksi antigen *Chlamydia trachomatis* menghilang masih dapat dijumpai IgG dan IgA lokal maupun sistimik (Cooper, 1993).

Laporan penelitian Rowe (1995), di Chile dari 166 pria pasangan infertil, ternyata 37,2% atau 61 pria penderita STD oleh karena infeksi *Chlamydia trachomatis*. Hasil penelitiannya menunjukkan motilitas, morfologis serta konsentrasi spermatozoa yang jelek, tapi pada penelitian ini tidak dijelaskan keberadaan *Chlamydia trachomatis* atau antigennya maupun faktor imunologis misalnya IgA, IgG dan IgM di dalam semen maupun di serum.

Kjaergaard, *et al.* (1997) melakukan penelitian mengenai hubungan antara kualitas semen dengan piospermia dan bakteriologis pada 201 semen pria. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas semen pada 115 (57%) normal, 60 (30%) sedikit menurun kualitasnya dan 26 (13%) menunjukkan indikasi penurunan fertilitasnya. Penderita dengan piospermia sebanyak 22 (6%), dan pada 182 penderita dideteksi mikroorganismenya, ternyata *Chlamydia trachomatis* hanya 1,6% dan yang terbanyak adalah *Ureaplasma urealyticum* 11,8% dan terendah adalah *Mycoplasma genitalium* 0,9%. Kesimpulan penelitian ini mengatakan bahwa kualitas semen tidak ada hubungan dengan adanya mikroorganisme maupun piospermia, namun piospermia berkaitan dengan pertumbuhan *Ureaplasma urealyticum*.

Kruse, *et al.* (1997) melakukan pemeriksaan pada saluran indung telur, serviks, analisis semen termasuk ASA dan pemeriksaan serologis *antichlamydial antibodies* (Chlam Ab) pada 1303 pasangan subfertil dengan infeksi asimptomatik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Chlam IgG Ab dijumpai dalam serum pasangan pria dan wanita. Peningkatan titer Chlam IgG Ab pada wanita 20,8% nya sedang pada pria 12,6%. Pada wanita peningkatan

titer Chlam IgG Ab berhubungan dengan faktor saluran indung telur, tapi tidak menurunkan kualitas mukus endoservikal (Kruse, *et al.*, 1997). Hal ini dibuktikan pada eksperimental *in vitro* yang menggunakan penetrasi mukus endoservikal dengan spermatozoa pasangannya atau spermatozoa donor. Pada pria peningkatan titer Chlam IgG Ab tidak menunjukkan hubungan yang bermakna dengan hasil analisis semen termasuk ASA, IgG dan IgA. Kesimpulan penelitian ini mengatakan bahwa tidak ada hubungan antara titer Chlam IgG Ab dalam serum dengan faktor serviks (*cervical factor*) maupun kualitas semen (*semen quality*), tapi berkaitan dengan faktor saluran indung telur (*tubal factor*).

Anjuran Kruse, *et al.* (1997) berdasarkan hasil penelitiannya pemeriksaan Chlam IgG Ab pada serum merupakan indikasi yang penting pada pasangan infertil oleh karena faktor tuba (*tubal infertility factor*).

Penelitian yang dilakukan oleh Johansson, *et al.* (1997) pada tikus putih betina yang diinfeksi *Chlamydia trachomatis*, ternyata dijumpai CD4 dan sel T pada sekret vagina sebagai pelindung dan keduanya merupakan reaksi humoral, sedang CMI anti *Chlamydial* juga melindungi sel inang. Pada saat yang sama ditemukan TH1 dan TH2 dan kekurangan sel reseptor IFN γ . Selain itu dalam jangka waktu lama baru didapatkan IgA dan IgG di dalam sekret tadi yang diduga sebagai respon imun lokal. Kemudian diinfeksi lagi, ternyata dijumpai IL4 dan tidak dijumpai CD4 dan sel T, hanya sedikit CD8. Kesimpulan penelitian ini, menyatakan bahwa adanya infeksi *Chlamydia trachomatis* di genitalia akan dijumpai CD4, TH1 dan IFN γ lebih dulu terbentuk daripada antibodi lokal

Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Perry, *et al.* (1997) pada tikus betina yang diinfeksi dengan *Chlamydia trachomatis* di genitalianya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sebagian besar dari sampel setelah 3 minggu, ternyata pada mukosanya didapatkan beberapa tipe sel T dan dijumpai TH1, CD4, IL1, IL2, serta IFN γ .

Dari hasil penelitian-penelitian tersebut, diperkirakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* pada genitalia pria dapat pula menimbulkan reaksi lokal maupun sistemik yang sama seperti pada wanita. Faktor imunologis yang dihasilkan dapat dijumpai dalam semen, bahkan mungkin titernya meningkat. Apabila faktor imunologis ini mencapai testis, maka terjadi kerusakan sel germinal hingga dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan spermatozoa. Selain itu kerusakan dapat mencapai *blood testis barrier*, yang akan menyebabkan kebocoran hingga spermatozoa akan kontak dengan sel imunologis sistemik, dan mengakibatkan terbentuknya ASA. Adanya ASA yang melekat pada membran spermatozoa dapat mengganggu motilitas spermatozoa. Demikian pula halnya pada traktus reproduksi wanita, adanya infeksi pada serviks, menimbulkan aktivitas makrofag meningkat. Spermatozoa yang berada di daerah itu akan difagosit oleh makrofag, kemudian dipresentasikan kepada limfosit T dan B, akibatnya terbentuk ASA lokal maupun sistemik, yang mengakibatkan aglutinasi spermatozoa hingga motilitasnya terganggu dan spermatozoa tidak mampu membuahi ovum (Tjokronegoro, 1991).

Sebagai landasan penelitian yang akan dilakukan, maka perlu dilakukan pengumpulan teori hasil penelitian peneliti lain yang menunjang.

No	Penulis, Journal, Text book	Judul dan ruang lingkup	Paradigma dan landasan teori/hipotesis	Metodologi, Sampel, Perlakuan dan Pemeriksaan	Hasil dan Kesimpulan
1.	<ul style="list-style-type: none"> Schachter, Julius. Manual of Clinical Microbiology, 1985, USA, Editor by Edwin H. Lennette, et al., 1985, Fourth ed. Page : 856-862. 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Chlamydiae</i> (<i>psittacosis-lymphogranuloma venerum-trachoma</i> group) Pemeriksaan dengan kultur dan isolasi spesies. 	<ul style="list-style-type: none"> Biologi – Mikrobiologi Siklus hidup dan kembang biak <i>Chlamydiae</i> di dalam sel inang. Setelah EB menginfeksi sel, mengorganisasi diri menjadi RB dan dalam waktu 18-24 jam akan ber-kembang biak di dalam vakuol sel. Suatu saat akan mendesak ini, makin lama EB makin banyak, sehingga mendesak membran bahkan membran dapat pecah, Sebagian EB yang berubah menjadi RB akan keluar sel dan menginfeksi sel yang lain. 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cytological study.</i> Sampel swab endoservikal, endouretral, konjungtiva dan dari sputum serta darah. Dilakukan pemeriksaan dengan metode <i>Giemsa</i> dan <i>Iodine</i> untuk preparat hapusan dan kultur jaringan <i>McCoy cells</i> dan <i>Yolk sac</i> embrio ayam, sedang pemeriksaan serum darah untuk spesies <i>psittacosis</i>, <i>LGV</i> dan <i>IgG</i> serta <i>IgM</i> dengan metode <i>Micro IF technique</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> Hasil pemeriksaan dengan : <ol style="list-style-type: none"> Metode <i>Giemsa</i> tidak sensitif dan spesifik, belum dapat mendeteksi spesies. Metode kultur lebih sensitif dan spesifik. Metode <i>Iodine</i> spesifik untuk spesies <i>trachomatis</i>. Metode <i>Micro IF technique</i> menemukan <i>IgG</i> dan <i>IgM</i> pada infeksi di genitalia dan paru-paru lebih tinggi dari pada infeksi di konjungtiva.
2.	<ul style="list-style-type: none"> Sotfer ; Raphael, et al. Journal Fertility and sterility. Vol. 53. No.2 Februari 1990. Page : 331-336. 	<ul style="list-style-type: none"> Male genital <i>mycoplasma</i> and <i>Chlamydia</i> <i>trachomatis</i> culture : its relationship with accessory gland function, sperm quality, and auto-immunity. Infeksi pada traktus genitalia pria. 	<ul style="list-style-type: none"> Biologi – Mikrobiologi Siklus hidup <i>Chlamydia trachomatis</i> di dalam sel inang dan efeknya terhadap kualitas semen. Infeksi di traktus genitalia pria, merupakan salah satu penyebab infertilitas. Mikro-organisme penyebabnya antara lain <i>Mycoplasma</i> dan <i>Chlamydia</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cross sectional study</i> Swab endouretral dan semen dari 175 pria infertilitas dengan uretritis asimtomatik dan swab mukus serviks dari pasangannya. Pemeriksaan : <ol style="list-style-type: none"> Swab dengan kultur jaringan <i>McCoy cells</i>, media agar dan preparat hapusan. Semen dianalisis makroskopis, mikroskopis, biokimia serta imunologis. 	<ul style="list-style-type: none"> Hasil kultur (+) : <ol style="list-style-type: none"> <i>Mycoplasma</i> 33%, <i>Chlamydia</i> 27% (pada kasus infertilitas primer, 17% menderita infeksi <i>Chlamydia</i>) bersama 8%. Postcoital test jelek bahkan (-) pada kasus dengan infeksi sebesar 52%. Analisis semen pada sampel yang infeksi. <ol style="list-style-type: none"> Viskositas tinggi, 41.4% Motilitas normal, 27% Morfologi normal, 15%

No	Penulis, Journal, Text book	Judul dan ruang lingkup	Paradigma dan landasan teori/hipotesis	Metodologi, Sampel, Perlakuan dan Pemeriksaan	Hasil dan Kesimpulan
3.	<ul style="list-style-type: none"> Wolff, H.; Uwe Neubert, Zebhauser, M. et al. Journal Fertility and Sterility. Vol. 55. No. 5 May 1991 Page : 1017-1036. 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Chlamydia trachomatis</i> induces an inflammatory response in the male genital tract and is associated with altered semen quality. Kualitas semen pada pria infertil dengan gejala 	<ul style="list-style-type: none"> Biologi – Mikrobiologi Infeksi merupakan salah satu penyebab infertil, untuk dapat mengatasinya perlu dipastikan penyebab infeksi. Salah satu mikroorganisme yang menimbulkan infeksi pada traktus genitalia adalah <i>Chlamydia trachomatis</i>. Diagnosa kualitas dan kuantitas semen pada 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Detection of microbial frequencies.</i> Sampel 331 semen pria infertil dengan gejala klinis adanya inflamasi di traktus genitalia. Pemeriksaan analisis semen yang meliputi motilitas, 	<p>d. Spermatozoa total normal sebesar 52%.</p> <p>e. Biokimia, 21% dari sampel penderita prostatitis & epididimitis.</p> <p>f. Asa(+) pada kasus dengan infeksi <i>Chlamydia</i> sebesar 25%, infeksi <i>Mycoplasma</i> 24% dan yang infeksi keduanya 14% dan motilitas pada sampel ini yang normal hanya 10%.</p> <ul style="list-style-type: none"> Kesimpulan penelitian ini bahwa infeksi <i>Mycoplasma</i> dan <i>Chlamydia trachomatis</i> Tidak berpengaruh terhadap kualitas semen. Saran agar kultur dilakukan secara rutin, mengingat gejala klinis asimtomatik. Hasil pemeriksaan 63.2% negatif, 15.8% <i>U. urealyticum</i> positif dan 15.4% antibodi <i>C. trachomatis</i> positif, sedang analisis motilitas, morfologi dan konsentrasi spermatozoa yang tercemar menunjukkan analisis yang jelek.

No	Penulis, Journal, Text book	Judul dan ruang lingkup	Paradigma dan landasan teori/hipotesis	Metodologi, Sampel, Perlakuan dan Pemeriksaan	Hasil dan Kesimpulan
4.	<ul style="list-style-type: none"> • Rowe, P. J. • Annual Technical Report. WHO, Geneva, 1995. Page :106-113. 	<p>Klinik inflamasi traktus genitalia.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prevention and management of infertility. • Pencegahan dan penanganan gangguan pasangan infertile 	<p>pria infertile dengan infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> di traktus</p> <ul style="list-style-type: none"> • Biologi – Mikrobiologi – Molekuler dan epidemiologi : <i>Chlamydia trachomatis</i> suatu mikro-organisme obliquit intraseluler, patogen, memiliki 15 serotype antigen, dapat merangsang sistem imun mukosal traktus genitalia hingga terbentuk IgA. • Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> pada traktus genitalia, gejala asimtomatis, termasuk kelompok STD, yang dapat diderita oleh pasangan serta menyebabkan infertile yang tidak diketahui penyebabnya dan dijumpai di beberapa negara berkembang dan di USA 	<p>morfologi, konsentrasi dan IgG anti Chlamydia.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Case control study</i> • Pada pria <i>First Voided Urine</i> • Pada wanita : sekret serviks • Sampel diambil sejak tahun 1994 dari 33 Health Reproductive center di 25 negara antara lain USA, Amerika Latin di Havana, Santiago, Chile, di Afrika pada beberapa negara, di Asia Bangkok, Hanoi, Kualalumpur Shanghai, Indonesia di Ujung Pandang dan Surabaya. • Sampel yang diambil dari wanita, terutama wanita resiko tinggi terhadap STD. • Pemeriksaan : <ol style="list-style-type: none"> 1. Urine dengan PCA 2. Sekret serviks dengan DFA 3. Analisis semen meliputi motilitas, morfologi dan konsentrasi spermatozoa. • Pencegahan : <ol style="list-style-type: none"> 1. Pada wanita dengan menggunakan <i>vaginal sheath (female condom)</i>. 	<p>Infeksi dapat menurunkan kualitas dan kuantitas semen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sampel <i>C. trachomatis</i> (+) di: <ol style="list-style-type: none"> 1. USA, pada laki-laki umur 16-21 tahun 12.3%. 2. Afrika pada wanita 2-3 x lebih tinggi dari pada STD yang lain. 3. Thailand, terbanyak pada wanita 15-55 tahun, dengan hasil yang sangat tinggi. 4. Chile, pada 166 pria pasangan infertile, 37.2% dengan hasil analisis sperma jelek dan diantara pria ini yang pasangannya juga menderita sebesar 10%.

No	Penulis, Journal, Text book	Judul dan ruang lingkup	Paradigma dan landasan teori/hipotesis	Metodologi, Sampel, Perlakuan dan Pemeriksaan	Hasil dan Kesimpulan															
5.	<ul style="list-style-type: none"> • Meech, Richard J. • Journal of Pediatric Obstetric & Gynaecology (JPOG) Vol. 22, No. 1. Jan/Feb. 1996. Page : 17-20 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Chlamydia</i> : An Update • Pemeriksaan dan terapi infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> pada wanita. 	<ul style="list-style-type: none"> • Biologi – Mikrobiologi : <i>Chlamydia trachomatis</i> suatu mikro-organisme oblikuat intrascluler, gram (-), bersifat patogen, memiliki 2 jenis <i>Inclusion Bodies</i> (IB) yaitu <i>Reticulate Bodies</i> (RB) dan <i>Elementary Bodies</i> (EB), yang berkembang biak dalam 18-24 jam setelah sel terinfeksi, dan memiliki 15 serotype antigen pada membrannya. • Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> termasuk kelompok STD dengan gejala tidak spesifik bahkan asimtomatik. Pada umumnya kronis, tapi dapat pula akut; Pada pria epididimitis atau prostatitis akut, sedang pada wanita servisitis mukopurulen akut. 	<p>2. Pada pria dengan <i>new male non latex condoms</i>.</p> <p>3. <i>Chlamydia</i> vaccine.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Penanggulangan infertilitas : <ol style="list-style-type: none"> 1. Terapi infeksi 2. Perbaikan kualitas sperma • <i>Cross sectional study</i> • Swab endoservikal • 1. Pemeriksaan dengan metode <i>Giemsa</i>, kultur dengan <i>McCoy cells</i>, DFA dan EIA. 2. Pengobatan dengan doxycycline, Azithromycin 	<ul style="list-style-type: none"> • 1. Pemeriksaan : <table border="0"> <tr> <td>Metode Kultur</td> <td>Sensitifitas</td> <td>Spesifitas</td> </tr> <tr> <td></td> <td>78-85%</td> <td>100%</td> </tr> <tr> <td>Giemsa</td> <td>50%</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>DFA</td> <td>80-85%</td> <td>98%</td> </tr> <tr> <td>EIA</td> <td>85%</td> <td>97-98%</td> </tr> </table> • 2. Pengobatan dan hasil tes ulang (-). <ol style="list-style-type: none"> a. Doxycycline 100 mg, 7-10 hari. b. Azithromycin singgle dose. • Deteksi dengan kultur paling baik dan terapi dengan Azithromycin lebih efektif. 	Metode Kultur	Sensitifitas	Spesifitas		78-85%	100%	Giemsa	50%	-	DFA	80-85%	98%	EIA	85%	97-98%
Metode Kultur	Sensitifitas	Spesifitas																		
	78-85%	100%																		
Giemsa	50%	-																		
DFA	80-85%	98%																		
EIA	85%	97-98%																		
6.	<ul style="list-style-type: none"> • Johansson, M; Schlön, K; Ward, M; Lyche, N. • Infect. Immun, 65 (3) Mar. 1997. Page : 1032-44 	<ul style="list-style-type: none"> • Genital tract infection with <i>Chlamydia trachomatis</i> fails to induce protective immunity in gamma interferon receptor 	<ul style="list-style-type: none"> • Biologi – Molekuler. Reaksi imunitas mukosal pada genitalia tikus putih. • Sel mukosa traktus genitalia memiliki suatu sistem imunitas mukosal. Adanya mikro-organisme yaitu <i>Chlamydia</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Experimental study</i> • Tikus putih betina • Menginfeksi vagina tikus putih dengan <i>Chlamydia trachomatis serotype D</i> dan dilakukan pengulangan se- 	<ul style="list-style-type: none"> • Didapatkan pada : <ol style="list-style-type: none"> 1. Infeksi pertama : IgA, IgM dalam jumlah banyak, sedang IFN-γ, CD4 sedikit 															

No	Penulis, Journal, Text book	Judul dan ruang lingkup	Paradigma dan landasan teori/hipotesis	Metodologi, Sampel, Perlakuan dan Pemeriksaan	Hasil dan Kesimpulan
		<p>deficient mice despite a strong local immunoglobulin A response.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Respon imunitas lokal infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> pada genitalia tikus putih. 	<p><i>trachomatis</i> dapat merangsang sistem ini, hingga terbentuk sel imun humoral dan <i>mediated antichlamydiaal immunity</i>, antara lain CD4, CD8, Th1, Th2, IFN γ, IgA dan IgM yang berfungsi sebagai pertahanan.</p>	<p>banyak 2x untuk mengetahui kecepatan pembentukan sel imunitas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pemeriksaan pada sekret tarrkus genitalia dengan metode <i>immunohistochemical analysis</i>. 	<p>2. Infeksi kedua : CD8 dan IFNγ-R, CD4 + Th1 dalam jumlah banyak, sedang CD4, IgA dan IgM relatif tetap.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembentukan CD4 + Th1 dan IFNγ-R lebih lambat dibandingkan dengan IgA dan IgM.
7	<ul style="list-style-type: none"> • Tjandrakirana 	<ul style="list-style-type: none"> • Pengaruh Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> pada uretra pria terhadap kualitas semen. • (Eksperimen in vitro) • Pemeriksaan dan percobaan in vitro 	<ul style="list-style-type: none"> • Biologi-Mikrobiologi-Molekuler. • Siklus hidup <i>Chlamydia trachomatis</i> di dalam sel inang, patogen, memiliki 15 serotype antigen pada membrannya dalam waktu 3-6 jam maksimal 8 jam EB dapat menginfeksi sel yang lain dan mampu merangsang sistem imun mukosal traktus genitalia. • Infeksi salah satu faktor penyebab infertilitas pada pria. Beberapa mikroorganisme yang dapat menimbulkan infeksi traktus genitalia, satu diantaranya adalah <i>Chlamydia trachomatis</i>. Atas dasar itu, maka dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa <i>Chlamydia trachomatis</i> berpengaruh terhadap kualitas plasma semen dan spermatozoa secara langsung maupun tidak langsung. 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Experimental study (in vitro)</i> • <i>Comparative Cross sectional Study</i> • Swab endoservikal wanita resiko tinggi STD sebanyak 13; endouretral, semen dan darah pria fertil sebanyak 40 dan infertil sebanyak 45. • Pemeriksaan : <ol style="list-style-type: none"> 1. Swab endoservikal, dengan hapusan <i>Giemsa</i> dan kultur pada <i>yolk sac</i> embrio ayam. 2. Swab endouretral dengan IMx untuk mendeteksi fraksi antigen <i>Chlamydia trachomatis</i>. 3. Semen, analisis rutin, biokimia, kultur pada media agar 	

No	Penulis, Journal, Text book	Judul dan ruang lingkup	Paradigma dan landasan teori/hipotesis	Metodologi, Sampel, Perlakuan dan Pemeriksaan	Hasil dan Kesimpulan
			<p>Hipotesis penelitian:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1. <i>Chlamydia trachomatis</i> dalam semen menyebabkan perlekatan EB <i>Chlamydia trachomatis</i> pada akrosom hingga menimbulkan perubahan reaksi akrosom. • 2. Perlekatan EB <i>Chlamydia trachomatis</i> pada membran spermatozoa menyebabkan kerusakan membran hingga menimbulkan kerusakan morfologis • 3. Keberadaan <i>Chlamydia trachomatis</i> atau antigenya dalam semen menyebabkan aglutinasi spermatozoa dan menurunkan motilitas spermatozoa. • 4. Keberadaan <i>Chlamydia trachomatis</i> atau antigenya dalam semen menyebabkan perubahan pH dan viskositas semen. • 5. Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> di uretra pria meningkatkan titer IgA, IgG, IgM total dan ASA IgG dalam semen. • 6. Peningkatan titer IgA, IgG, IgM total dan ASA IgG dalam semen pada infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa • 7. Didapatkan korelasi positif antara infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> dengan ASA IgG dalam semen. • 8. Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> di uretra pria menyebabkan penurunan kualitas semen. 	<p>dan imunologis (ASA, IgA, IgG dan IgM).</p> <p>4. Serum darah, testosteron, LH, FSH, IgA, IgG & IgM.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Perlakuan <i>in vitro</i> dengan mengkontaminasi semen dan spermatozoa setelah <i>washing</i> dengan spesies <i>Chlamydia trachomatis</i> hasil kultur swab endoservikal. 	

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

3.1.1. Dasar

3.1.1.1. Siklus hidup *Chlamydia trachomatis*

Siklus hidup *Chlamydia trachomatis* dalam sel inang, bersifat parasit oblikuat intraseluler, dan dalam sel inang didapatkan dua macam badan, yaitu : *Elementary body* (EB) yang bersifat infeksius, dan *Reticulate body* (RB) kurang infeksius namun mampu berkembang biak di dalam vakuol sel.

3.1.1.2. Infeksi *Chlamydia trachomatis*

Infeksi *Chlamydia trachomatis* pada saluran reproduksi tepatnya di uretra pria, kemungkinan menyebabkan:

- a. Kerusakan atau melekat pada membran spermatozoa, sehingga menimbulkan gangguan motilitas spermatozoa, serta reaksi akrosom.
- b. Kerusakan epitel epididimis, duktus deferen, vesika seminalis, dan prostat, sehingga dapat terjadi penyumbatan total atau parsial, dengan akibat menimbulkan gangguan konsentrasi spermatozoa maupun volume plasma semen.

3.1.1.3. Sistem imunologis tubuh

Suatu infeksi dapat merangsang sistem imun tubuh lokal maupun sistemik, dan khusus pada traktus reproduksi dapat menyebabkan kerusakan *blood testis barrier* yang dapat mengakibatkan timbulnya autoimun.

Adanya aktivitas sistem imun ditandai dengan adanya aktivitas limfosit T yang ditunjukkan adanya lekosit, makrofag, dan aktivitas limfosit B yang ditandai adanya IgG, IgA dan IgM. Demikian juga hal ini mungkin terjadi pada infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra.

Dalam keadaan normal faktor imunologis tidak dijumpai dalam plasma semen, tapi adakalanya dapat juga dijumpai dalam batas normal. Apabila terjadi infeksi pada saluran reproduksi, maka kemungkinan di dalam semen titer faktor imunologis meningkat, yang mungkin dapat menyebabkan gangguan pada kualitas spermatozoa dan plasma semen. Kalau terjadi kerusakan pada *blood testis barrier*, maka akan terbentuk ASA dalam semen. Keberadaan ASA menyebabkan motilitas spermatozoa terganggu.

3.1.2. Patogenesis infeksi *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis yang menginfeksi suatu sel, menyebabkan sel mengalami perubahan integritas strukturnya dan melepaskan asam nuklei. EB yang masuk menyebabkan perubahan bentuk sel termasuk unitnya, sedangkan RB akan memperbanyak diri. Pada saat itu sel vegetatif akan menangkap EB, tetapi apabila sel inang tidak mampu melakukan integrasi, maka EB akan terlepas dan menginfeksi sel lain yang rentan. Penularan ke sel lain terjadi 2-6 jam setelah infeksi pertama.

Timbulnya mekanisme respons imunomukosal terhadap infeksi *Chlamydia trachomatis* pada saluran genitalia maupun reproduksi mengakibatkan rangsangan pada aktivitas limfosit T intraepitel, makrofag, lekosit dan faktor imunologis lokal yaitu IgG, IgA dan IgM. Terbentuknya faktor

imun ini adalah merupakan hasil aktivitas limfosit T, makrofag, sel Sertoli dan limfosit B. Limfosit dan leukosit merupakan faktor kemotaksis, kemungkinan dapat bermigrasi ke duktus deferens, kelenjar aksesori maupun testis, demikian pula dengan EB mungkin juga mengkontaminasi bagian ini. Apabila migrasi ini mencapai sel basalis tubulus seminiferus, maka dapat terjadi kerusakan *blood testis barrier* yang mengakibatkan spermatozoa kontak langsung dengan sel imuno kompeten. Spermatozoa merupakan protein asing bagi tubuh, sehingga dengan adanya kontak langsung dengan sel imuno kompeten, maka akan terbentuk antibodi terhadap spermatozoa.

Berdasarkan siklus hidup *Chlamydia* dan patogenesis infeksi *Chlamydia trachomatis*, maka diduga bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* atau antigennya di epitel mukosa uretra, dapat mempengaruhi kualitas semen.

Pada penelitian ini, parameter kualitas spermatozoa terdiri dari motilitas, morfologis dan konsentrasi spermatozoa, sedang parameter kualitas plasma semen terdiri atas pH, volume dan viskositas. Dugaan sementara pada penelitian ini adalah bahwa gangguan kualitas spermatozoa mungkin oleh karena *Chlamydia trachomatis* melekat dan merusak membran atau akrosom hingga merusak morfologis spermatozoa, mengaglutinasi spermatozoa, hingga mengganggu motilitas spermatozoa. Selain itu adanya IgA total, IgG total, IgM total dan ASA IgG dalam semen mungkin menyebabkan perubahan kualitas semen, maka secara tidak langsung mempengaruhi motilitas spermatozoa. Dengan uraian siklus hidup *Chlamydia trachomatis* dan patogenesisnya, maka dibuat diagram kejadian infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra.

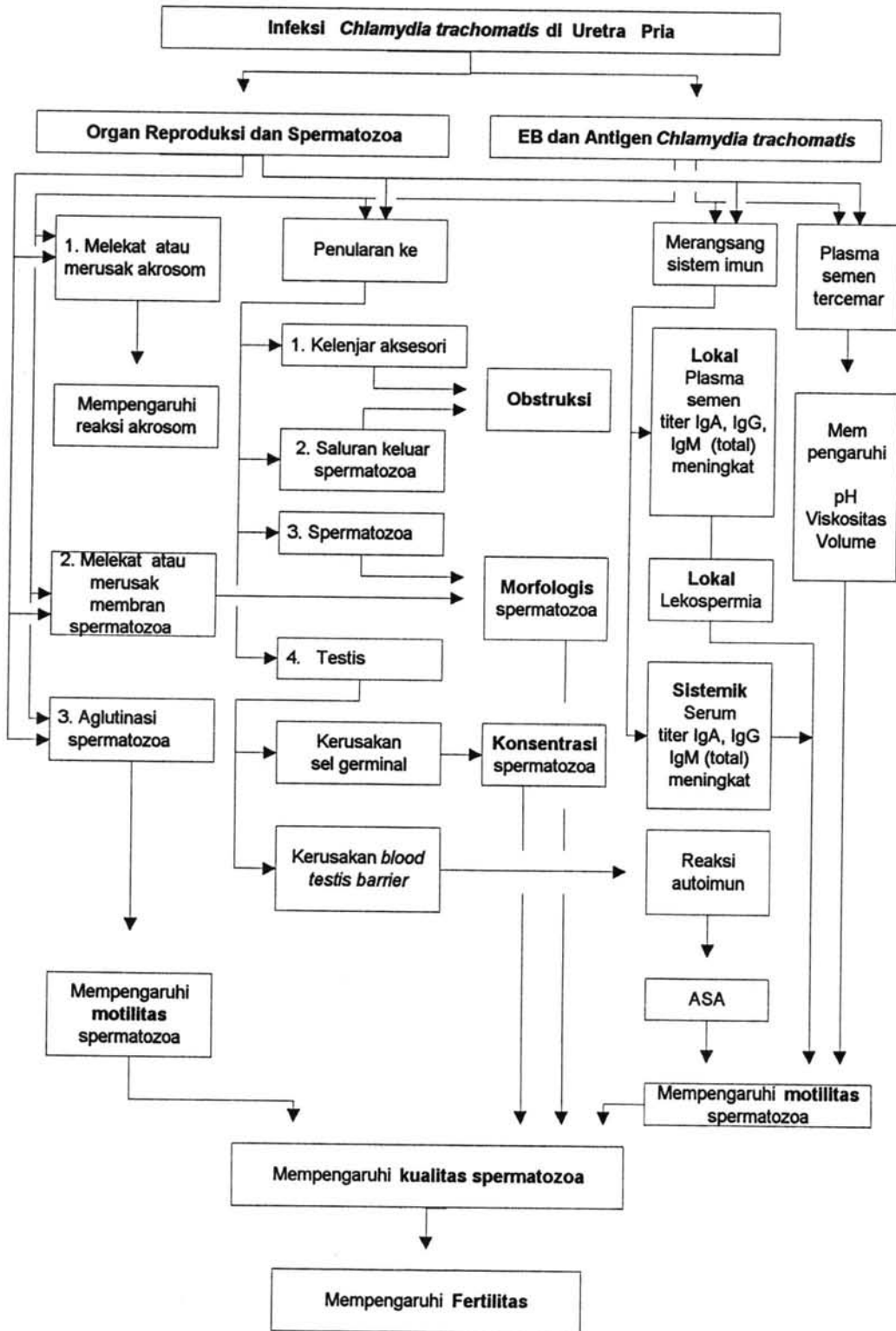


Diagram 3.1. : Kerangka konseptual kejadian infeksi *Chlamydia trachomatis*

3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

- 3.2.1. *Chlamydia trachomatis* dalam semen menyebabkan perlekatan *elementary bodies Chlamydia trachomatis* pada akrosom hingga menimbulkan perubahan reaksi akrosom.
- 3.2.2. Perlekatan *elementary bodies Chlamydia trachomatis* pada membran spermatozoa menyebabkan kerusakan pada membran spermatozoa hingga menimbulkan kerusakan morfologis spermatozoa.
- 3.2.3. Keberadaan *Chlamydia trachomatis* atau antigennya di dalam semen menyebabkan aglutinasi spermatozoa dan menurunkan motilitas spermatozoa.
- 3.2.4. Keberadaan *Chlamydia trachomatis* atau antigennya di dalam semen menyebabkan perubahan pH dan meningkatkan viskositas plasma semen.
- 3.2.5. Infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra pria meningkatkan titer IgA total, IgG total, IgM total dan ASA IgG di dalam semen.
- 3.2.6. Peningkatan titer IgA total, IgG total, IgM total dan ASA IgG dalam semen pada infeksi *Chlamydia trachomatis* menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa.
- 3.2.7. Didapatkan korelasi positif antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan titer ASA IgG dalam semen.
- 3.2.8. Infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra pria menyebabkan penurunan kualitas semen.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Tujuan umum penelitian untuk mengetahui kualitas semen pria pasangan fertil dan infertil yang menderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, pada saluran genitalia tepatnya di uretra dan tujuan khusus penelitian untuk mengetahui cara *Chlamydia trachomatis* menurunkan kualitas spermatozoa. Berdasarkan tujuan tersebut, maka rancangan penelitian ini dibedakan atas dua metode penelitian, yaitu studi eksperimental untuk mencari cara *Chlamydia trachomatis* menurunkan kualitas spermatozoa dan studi *cross sectional* yang bersifat komparatif untuk mengetahui perbedaan kualitas semen pada pria infertil yang terinfeksi *Chlamydia trachomatis* dibandingkan dengan pria fertil.

Sebelum melakukan penelitian ini, telah dilakukan penelitian awal kultur jaringan, ekperimental *in vitro* dan penelitian pada manusia. Tujuan penelitian awal untuk mencari efektivitas reagen terhadap spesies *Chlamydia trachomatis* dan menentukan batas waktu yang diperlukan untuk kultur, mengkontaminasi semen dengan spesies *Chlamydia trachomatis*, serta untuk mengetahui keakuratan *immunoassay automation* (IMx) yang digunakan pada penelitian.

4.2. Studi eksperimental murni (*True experimental study*)

Studi eksperimental bertujuan untuk membuktikan bahwa *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa, dengan merusak morfologinya dan menurunkan motilitasnya.

Pada studi eksperimental ini akan dilakukan dua tahap percobaan, yaitu :

a. Tahap pertama :

Kultur *Chlamydia* dengan menggunakan telur ayam bertunas (*chicken embryo nated egg*) dan spesimen berasal dari *swab* endoservikal.

Tujuannya untuk mendapatkan spesies *Chlamydia trachomatis*.

b. Tahap kedua :

Melakukan eksperimen *in vitro* pada semen dan spermatozoa kemudian dikontaminasikan dengan spesies *Chlamydia trachomatis* yang diperoleh dari hasil kultur. Perlakuan kontaminasi setelah semen dilakukan pencucian (*washing*) dengan medium *Earle's*, yang berasal dari pria pasangan fertil,

Tujuannya untuk mencari bagaimana cara *Chlamydia trachomatis* menurunkan kualitas spermatozoa, apakah dengan merusak morfologis atau dengan menurunkan motilitasnya.

4.2.1. Tahap kultur *Chlamydia trachomatis*

Kultur *Chlamydia* ini menggunakan jaringan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas, berumur tujuh hari.

4.2.1.1. Populasi dan sampel penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

4.2.1.1.1. Populasi kultur *Chlamydia trachomatis*

Populasi kultur *Chlamydia*, berasal dari *swab* endoservikal serviks wanita berisiko tinggi terhadap STD, di lokasi Putat Jaya Surabaya
Media kultur jaringan *yolk sac* telur ayam budidaya bertunas, umur 7 hari.
Ayam budidaya adalah ayam ras campuran bebas dari penyakit (*Specific Pathogenic Free* =SPF) dan dibiakkan di Veterinaria Farma Surabaya.

4.2.1.1.2. Sampel kultur *Chlamydia trachomatis*

Sampel kultur jaringan berasal dari *swab* endoservikal, dibiakkan ke dalam *yolk sac* embrio ayam dan dibuat preparat dengan metode *Giemsa*.

4.2.1.1.3. Kriteria sampel kultur *Chlamydia trachomatis*

Kriteria sampel pada tahap kultur adalah :

- a. Embrio ayam hidup yang berumur 7 hari, jenis ayam budidaya SPF.
- b. Spesimen *swab* endocervikal, yang telah diperiksa pada preparat hapusan dengan metode *Giemsa* dan didapatkan *Inclusion bodies Chlamydia*.

4.2.1.1.4. Jumlah sampel kultur *Chlamydia trachomatis*

Jumlah sampel menggunakan rumus populasi (N) tidak diketahui untuk kelompok berpasangan. Hasil kultur akan dibandingkan dengan hasil pengecatan *swab* endoservikal dengan metode *Giemsa*.

"Rumus populasi (N) tidak diketahui untuk kelompok berpasangan (Pudjirahardjo, 1993) :

$$n = \frac{(z\alpha + z\beta)^2 QD^2}{d^2} \quad \text{Untuk gup berpasangan (matching)}$$

$QD^2 / d^2 = 1$, sehingga hasilnya :
 $n = (z\alpha + z\beta)^2$

Keterangan :

n = besarnya masing-masing kelompok

$z\alpha$ = nilai standar normal yang besarnya tergantung α yang ditentukan, yaitu 5 %.

$z\beta$ = nilainya tergantung β yang ditentukan, yaitu 10 %".

Perhitungan : α 1 % = 0,01 $\rightarrow z\alpha = 1,96$, β 10 % = 0,10 $\rightarrow z\beta = 0,84$

$$n = (1,96 + 0,84)^2 = 7,96, \text{ dibulatkan menjadi } 8.$$

4.2.1.2. Variabel kultur *Chlamydia trachomatis*

Variabel penelitian kultur *Chlamydia trachomatis* meliputi :

4.2.1.2.1. Variabel tergantung adalah hasil pembiakan *Chlamydia trachomatis*.



4.2.1.2.1. Variabel bebas adalah spesimen *swab* endoservikal.

4.2.1.2.3. Variabel kendali adalah jaringan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas yang hidup berumur tujuh hari dari jenis ayam budidaya SPF.

4.2.1.3. Definisi operasional variabel kultur *Chlamydia trachomatis*

Pada penelitian ini perlu dijelaskan beberapa definisi operasional, yaitu :

4.2.1.3.1. Kultur pada penelitian ini adalah cara mengembangbiakan *Chlamydia trachomatis* pada medium jaringan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas, berumur tujuh hari dari jenis ayam budidaya SPF.

4.2.1.3.2. Wanita berisiko tinggi terhadap STD pada penelitian ini adalah wanita tunasusila, tidak hamil, sudah atau belum pernah melahirkan, berumur 20-30 tahun dan berada di lokasi pelacuran di Putat Jaya Surabaya

4.2.1.3.3. Spesimen endoservikal adalah jaringan epitelium mukosa serviks dari wanita berisiko tinggi terhadap STD.

4.2.1.4. Materi Penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

Materi penelitian dibedakan atas :

4.2.1.4.1. Bahan penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

Bahan yang digunakan untuk kultur adalah :

Jaringan *yolk sac* telur ayam bertunas, jenis ayam budidaya SPF berumur 7 hari dan spesimen endoservikal.

4.2.1.4.2. Reagen penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

Reagen yang dipakai pada penelitian terdiri atas dua kelompok, yaitu

a. Kelompok untuk *swab* adalah :

1. *Chlamydia Transport Medium* (CTM) dengan pH 7,2-7,4.

Komposisi : 2 SP = 0,2 M *Sukrose* + 0,02 M *Phosphate*

2. Streptomisin dan nistatin.

b. Kelompok untuk kultur adalah :

1. *Phosphate Buffered Saline* (PBS), sebagai kontrol, pH 7,0-7,4.

Komposisi : Larutan A : 8,00 g NaCl + 0,20 g KCl

Larutan B : 1,14 g Na₂HPO₄ + 0,20 g KH₂PO₄

2. Larutan *iodine*

Komposisi : *Iugol iodine* 5 % dalam *potasium iodine* 10 %.

3. Alkohol 70 %.

c. Reagen lain yang digunakan untuk *swab* maupun kultur adalah :

Larutan *Giemsa* untuk pengecatan preparat hapusan, dengan pH 7,2 yang diatur dengan NaOH. Komposisi larutan *Giemsa* terdiri atas :

1. Larutan dasar terdiri atas :

a. 33 ml *methyl alcohol absolute acetone free*

b. 0,5 g serbuk *Giemsa (Romanovski-Giemsa)*

2. Larutan dapar terdiri atas :

a. 9,2 g Na₂HPO₄ + 1000 ml air suling

b. 9,2 g NaH₂PO₄ + 1000 ml air suling

c. larutan campuran : 72 ml dapar a + 28 ml dapar b + 900 ml air suling

3. Larutan kerja terdiri atas :

1 ml larutan dasar dan 50 ml larutan dapar campuran

Kedua larutan tersebut dicampur dengan pH 7,2.

4.2.1.5. Alat Penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan dikelompokkan menjadi dua yaitu :

4.2.1.5.1. Kelompok alat untuk *swab* adalah :

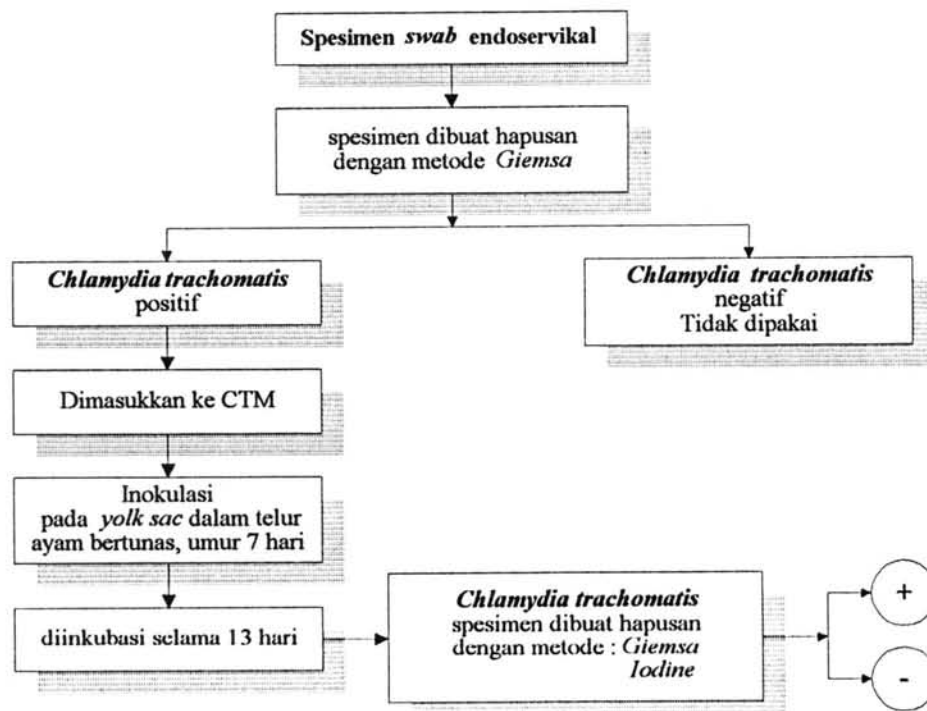
Cyto brush, *glass parrel*, rak dan tabung reaksi, termos es, gelas obyek, *freezer* dan mikroskop cahaya., *autoclave* dan sarung tangan.

4.2.1.5.2. Kelompok alat untuk kultur adalah :

Laminar flow, *autovortex mixer*, *egg tester*, *millipore filtration*, *bunsen*, inkubator, semprit, dan penusuk telur.

4.2.1.6. Langkah Penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

4.2.1.6.1. Membuat kerangka penelitian :



Diagam 4.1.: Skema langkah pengadaan kultur *Chlamydia trachomatis*.

4.2.1.6.2. Cara kerja :

- a. Mensterilkan semua alat pada *autoclave*, sedangkan reagen CTM dan PBS disterilkan dengan *millipore filtration* (pori-pori 0,22 μ).
- b. Dengan menggunakan sarung tangan di dalam *laminar flow*, menuangkan CTM sebanyak 2.5 ml ke dalam tabung reaksi yang telah diisi *glass parrel* sebanyak 15 butir, kemudian disimpan di dalam *freezer* - 20° C.
- c. Mencuci telur dengan aquades.
- d. Memilih telur dengan menggunakan *egg tester*. Dalam ruang gelap telur diletakkan di tempat telur, bagian telur yang agak runcing tegak ke atas. Kemudian *egg tester* yang telah dinyalakan diletakkan di atasnya, maka akan kelihatan adanya rongga hampa udara (*air sac*) dan di bawahnya tampak pembuluh darah yang menggelayut dengan embrio bergerak-gerak. Daerah hampa udara ini diberi tanda melingkar dengan pensil. Kemudian daerah ini diolesi dengan yodium dan telur dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37° C.
- e. langkah selanjutnya adalah mengambil spesimen endoservikal. Tabung reaksi yang berisi CTM dimasukkan ke dalam termos es untuk dibawa ke tempat pengambilan *swab*. Setelah menggunakan sarung tangan, kemudian membuka vagina dengan spekulum untuk mencari mulut serviks dan membersihkan mulut serviks dengan kasa steril. Memasukkan *cyto brush* ke dalam kanalis servikalis dan diputar 360 °. Spesimen pada *cyto brush* pertama dioleskan dengan cara memutar *cyto brush* pada gelas obyek untuk pengecatan *Giemsa*, sedang spesimen

kedua pada *cyto brush* kedua dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan sementara dimasukkan ke dalam termos es yang berisi es kering. Kalau tidak langsung diinokulasi, spesimen ini disimpan dalam suhu - 80°C, maksimal selama 48 jam.

- f. Spesimen dalam tabung reaksi kemudian di vortek dengan *autovortex mixer*, selama dua menit.
- g. Prosedur inokulasi (Schachter, 1985).

Telur, spesimen dan peralatan yang dibutuhkan diletakkan ke dalam *laminar flow*. Kemudian telur dilubangi tepat di tengah daerah *air sac*, dan memasukkan 0.25 ml spesimen ke dalam *yolk sac* dengan semprit melalui lubang tersebut dengan posisi tegak lurus. Setelah itu lubang ditutup parafin yang telah diencerkan. Tahap selanjutnya melakukan inokulasi sebagai kontrol dengan prosedur yang sama, tapi yang dimasukkan PBS sebanyak 0.25 ml, dan akhirnya semua telur dimasukkan ke dalam inkubator 37° C. Untuk satu spesimen inokulasi dilakukan pada empat telur, dan untuk kontrol satu telur.

- h. Prosedur pengambilan hasil kultur

Setiap hari dilakukan pemeriksaan, apakah ada telur yang busuk. Apabila telur busuk pada hari ke 1 dan 2 setelah inokulasi, maka telur harus dibuang. Pada hari ke 3 setelah inokulasi dijumpai embrio yang mati, maka telur tersebut dipecah untuk diambil jaringan *yolk sac* beserta cairannya dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *glass parrel*. Selain itu dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan cara

membuat hapusan sesuai metode *Giemsa* dan *iodine*.

Penyimpanan spesies *Chlamydia trachomatis* tetap dalam jaringan *yolk sac* dan disimpan pada suhu -80°C .

Pada eksperimen *in vitro* jaringan *yolk sac* dihancurkan dengan menggunakan *autovortex* untuk memecah sel jaringan dan dilakukan penyaringan dengan *millipore filtration* (pori-pori $0,22\ \mu$) untuk memisahkan spesies *Chlamydia trachomatis* dari cairan *yolk sac*. Berdasarkan hasil penelitian awal, maka spesies *Chlamydia trachomatis* ditambah dengan (*deluted*) CTM. Kalau didapatkan jaringan *yolk sac* yang sudah tidak ada cairannya, maka perlu dilakukan pengenceran dengan CTM. *Yolk sac* embrio yang mati pada hari ke 13 setelah inokulasi, tetap diambil untuk inokulasi kedua.

i. Prosedur pengecatan *Giemsa*

Spesimen dioleskan dengan cara memutar *cyto brush* dengan agak ditekan pada gelas obyektif, dan dibiarkan sampai kering dalam suhu ruangan dengan *air condation* (ac). Kemudian difiksasi dengan metanol absolut sebanyak 4 tetes sampai menutupi seluruh permukaan sediaan selama 3-5 menit dan didiamkan sampai sediaan kering. Setelah kering sediaan ditetesi larutan kerja *Giemsa* sampai menutupi permukaan sediaan, selama 30-60 menit. Kemudian sediaan dibilas dengan air yang diteteskan dari pipet di atas sediaan pada posisi miring. Sediaan diletakkan dengan posisi setengah tegak, didiamkan sampai kering, kemudian dilakukan pemeriksaan pada mikroskop cahaya dengan lensa

obyek pembesaran 40x dan 100x. Preparat hapusan yang memenuhi syarat, apabila pada preparat hapusan didapatkan minimal 10 epitel yang mengelompok.

4.2.1.7. Tempat Penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

Tempat penelitian kultur *Chlamydia trachomatis* di sub seksi virologi Laboratorium Kesehatan dan di seksi Unggas Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

4.2.2. Tahap eksperimental *in vitro*

Pada tahap eksperimental ini, dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis* pada semen dan spermatozoa setelah *washing*.

4.2.2.1. Populasi dan sampel penelitian eksperimental *in vitro*

4.2.2.1.1. Populasi eksperimental *in vitro*

Populasi semen dari pria pasangan fertil yang berkunjung di poliklinik Marinir Karang Pilang Surabaya, September – Desember tahun 1997

4.2.2.1.2. Sampel eksperimental *in vitro*

Setiap sampel semen dibagi menjadi dua bagian dan dua sub bagian,

- a. Bagian A : Semen yang tidak dilakukan *washing*, dibagi menjadi dua sub bagian, yaitu : sub bagian A.1, semen yang mendapat perlakuan sub bagian A.2, semen tanpa perlakuan (kontrol).
- b. Bagian B : Semen yang dilakukan *washing* dengan medium *Earle's*, agar spermatozoa bebas dari plasma semen dan dibagi lagi menjadi dua sub bagian , yaitu : sub bagian B.1., yang mendapat perlakuan sub bagian B.2.,semen tanpa perlakuan (kontrol).

4.2.2.1.3. Kriteria sampel eksperimental *in vitro*

Kriteria sampel pada penelitian eksperimental *in vitro* adalah :

- a. Pria pasangan fertil, berumur 26-28 tahun dan abstinensia 3-7 hari.
- b. Keadaan umum pasien tidak ada kelainan, terutama pada organ dan hormon reproduksinya.
- c. Pengambilan sampel semen dilakukan dengan cara masturbasi, yang dilakukan di laboratorium dan semen ditampung dalam gelas steril.
- d. Volume semen minimal 2,5 ml.

Ke 4 kriteria tersebut sekaligus dipakai sebagai variabel kendali.

4.2.2.1.4. Jumlah sampel eksperimental *in vitro*

Perhitungan untuk mendapatkan jumlah sampel dengan rumus dapat dilihat pada halaman 69 (4.2.1.1.4.), sebanyak 8 sampel semen.

4.2.2.2. Variabel eksperimental *in vitro*

Variabel pada penelitian ini adalah :

4.2.2.2.1. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kualitas dan kuantitas plasma semen, meliputi pH, warna, viskositas, volume, dan aglutinasi, sedangkan kualitas dan kuantitas spermatozoa mencakup konsentrasi per ml, konsentrasi per ejakulat, motilitas, morfologis.

4.2.2.2.2. Variabel bebas pada penelitian ini adalah medium *Earle's* dan spesies *Chlamydia trachomatis* yang berasal dari penelitian tahap pertama.

4.2.2.3. Definisi operasional variabel eksperimental *in vitro*

Beberapa definisi operasional variabel pada penelitian ini, yaitu :

4.2.2.3.1. Pria pasangan fertil adalah seorang suami yang mampu bereproduksi

dengan batasan bahwa istrinya sedang hamil antara 1-3 bulan (Strikler, 1995). Pada penelitian ini umur 26-28 tahun dan istrinya hamil 1-2 bulan.

4.2.2.3.2. Semen adalah suspensi plasma semen, yang di dalamnya didapatkan spermatozoa, sel lain dan zat-zat (Hudson, et al., 1980 ; Rowe, 1995) Pada penelitian ini volume minimal 2.5 ml dan analisis semen normal.

4.2.2.3.3. Analisis semen yang normal adalah kualitas dan kuantitas komponen yang terdapat di dalamnya dalam batas harga normal yang ditentukan WHO. Dalam penelitian ini kriteria analisis semen mengikuti petunjuk WHO (1994), yang telah dibahas pada Bab 2 (2.2.3. analisis semen) di halaman 32 sampai 34.

4.2.2.4. Materi Penelitian eksperimental *in vitro*

Materi penelitian dibedakan atas :

4.2.2.4.1. Bahan penelitian eksperimental *in vitro*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Semen dan spermatozoa yang merupakan hasil *washing*, serum darah, serta spesies *Chlamydia trachomatis*.

4.2.2.4.2. Reagen penelitian eksperimental *in vitro*

Pada penelitian ini reagen yang digunakan adalah :

- a. Medium *Earle's* dan agar untuk kultur.
- b. larutan *Giemsa*.
- c. Reagen untuk reaksi akrosom yaitu *glutaraldehyde 4 %*, *Trypan Blue*, *Bismark Brown*, *Rose Bengal*, *albumin free medium*, *deionized water*.
- d. Reagen ASA yaitu *ortho sperm mar latex* dan *ortho sperm anti Ig*.

4.2.2.5. Alat Penelitian eksperimental *in vitro*

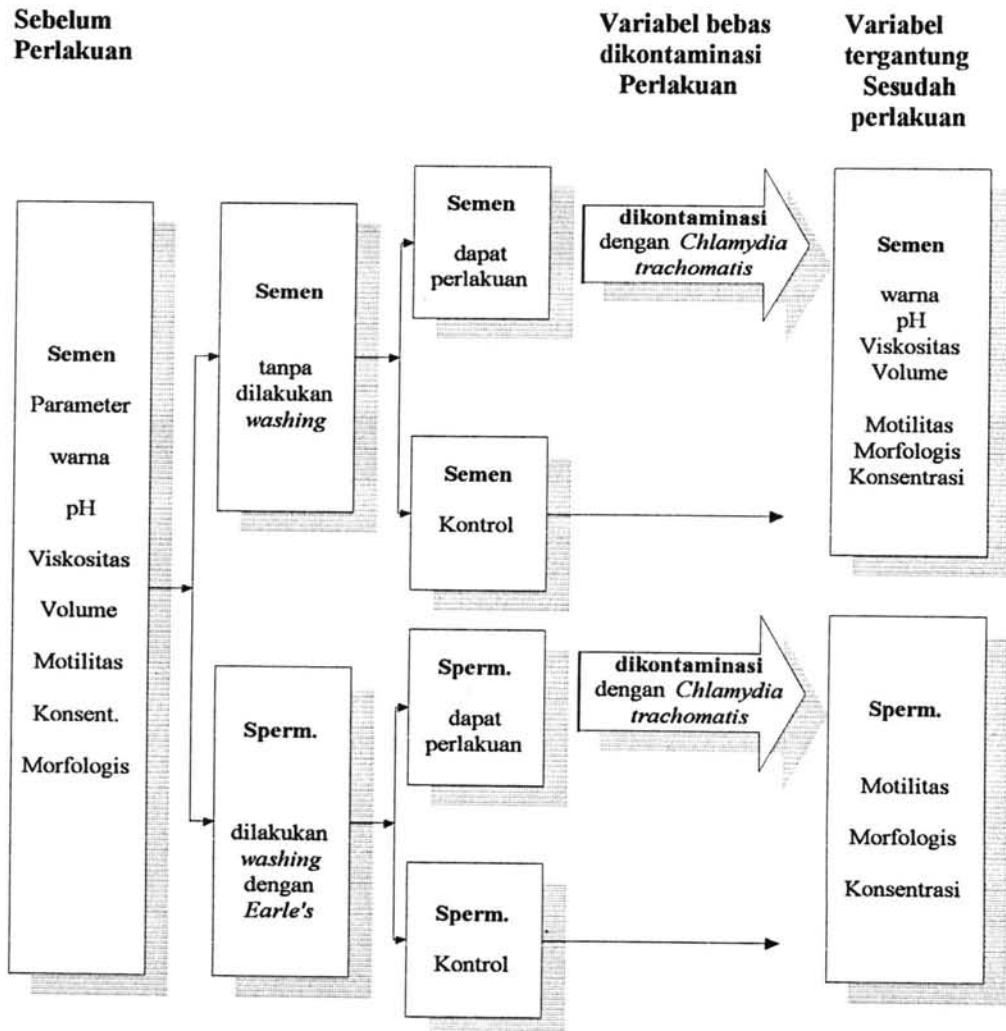
Alat yang dipergunakan pada penelitian adalah :

Makler chamber counting, laminar flow, centrifuge, inkubator, tabung reaksi, gelas ukur, kaca obyek, kaca penutup, cawan petri dan mikroskop.

4.2.2.6. Langkah Penelitian eksperimental *in vitro*

Pada penelitian ini dilakukan beberapa langkah, yaitu :

4.2.2.6.1. Membuat kerangka penelitian :



Diagam 4.2. : Skema langkah penelitian eksperimental *in vitro*.

Keterangan : Sperm. = spermatozoa ; Konsent.= konsentrasi

4.2.1.6.2. Cara kerja :

- a. Melakukan analisis semen dari pria pasangan fertil, pada penelitian ini mengikuti prosedur yang ditentukan WHO (1994), yaitu :

Pemeriksaan makroskopis :

1. Semen dalam gelas steril, didiamkan pada suhu ruangan ac, sampai likuifaksi sempurna, maksimum selama 60 menit.
2. Kemudian mengamati warna semen.
3. Mengukur volume dengan gelas ukur, untuk sampel penelitian ini dibutuhkan volume minimal 2.5 ml. Volume normal 2 – 3 ml.
4. Mengukur pH dengan cara meneteskan semen pada kertas pH, kemudian ditunggu sekitar 1-2 menit. Perubahan warna pada kertas pH dibandingkan dengan warna standar kertas pH yang menunjukkan batasan angka asam atau basa (*calibration strip paper*). pH normal sekitar 7,2-7,8
5. Pemeriksaan viskositas dengan menggunakan pipet 5 ml semen dihisap, kemudian pipet ditegakkan dengan posisi ujungnya ke bawah agar semen keluar sampai menetes. Pengukuran pada panjang juluran semen kearah bawah dari ujung pipet. Viskositas normal panjang < 2 cm semen telah menetes atau dalam waktu < 2 menit semen telah menetes.

Pemeriksaan mikroskopis :

1. Motilitas spermatozoa, dengan cara mengambil 1 tetes semen yang ditestaskan pada obyek gelas, dan ditutup dengan kaca penutup.

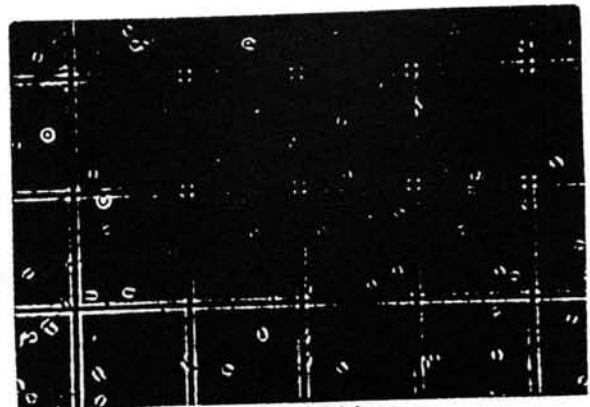
Kemudian dilihat dengan mikroskop cahaya, dengan lensa obyektif pembesaran 40x, untuk menghitung jumlah tipe motilitas spermatozoa. Motilitas normal apabila jumlah tipe a + tipe b, minimal 50 %.

2. Menghitung konsentrasi spermatozoa, dengan menggunakan alat *Makler chamber counting*.

Prosedur menghitung jumlah spermatozoa dengan cara mengambil semen dengan pipet, kemudian diteteskan sebanyak 1 tetes ke dalam kamar hitung *Makler* dan ditutup dengan penutupnya. Setelah itu dilihat pada mikroskop cahaya dengan lensa obyektif pembesaran 40x, dan dihitung jumlah spermatozoa dalam kamar hitung.

Konsentrasi normal jumlah minimal 20 juta/ml.

Perhitungan : ... N.... pada 100 kotak x 1 juta = ... N...juta/ml



Gambar 4.1. *Makler counting chamber* (makler, Amnon., 1980)

3. Untuk menghitung morfologis spermatozoa normal, dengan cara membuat preparat hapusan kering metode *Giemsa*.

Prosedur membuat hapusan dengan mengambil 1 tetes semen, yang diteteskan di obyek gelas di bagian tepinya. Selanjutnya membuat hapusan dengan cara meratakan semen ke seluruh permukaan obyek gelas dengan menggunakan obyek gelas yang lain. Setelah itu sediaan didiamkan sampai kering, baru dicat dengan metode *Giemsa*, seperti pada halaman 75 (4.2.1.6.2.i.). Langkah selanjutnya memeriksa preparat hapusan pada mikroskop cahaya, dengan lensa obyek pembesaran 40x dan 100x, untuk menghitung jumlah spermatozoa berbentuk normal maupun yang abnormal dalam %.

Jumlah morfologis spermatozoa normal minimal 50 %

4. Pemeriksaan reaksi akrosom

Sementara menunggu inkubasi, dilakukan pemeriksaan reaksi akrosom dengan pewarnaan *triple stain* (Talbot dan Chacon, 1981) : Semen 0.5 ml diambil, dicampur dengan *trypan blue*, dengan perbandingan volume 1:1. Kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah itu semen disentrifugasi selama 5-10 menit dengan kecepatan 600 rpm. Supernatan diambil dan pelet dalam tabung reaksi diberi dengan *albumin free medium*, sebanyak 2-3 ml, kemudian disentrifugasi lagi. Proses ini diulang kembali kurang lebih 3 kali sampai supernatan jernih atau berwarna biru pucat. Setelah itu pelet difiksasi dengan *glutaraldehyde* 4 % sebanyak 1 ml selama 30-60 menit, dan disentrifugasi lagi, kemudian dicuci dengan *dionized water*, tujuannya untuk menghilangkan

glutaraldehyde. Proses ini diulangi sebanyak 2 kali, dan kemudian pelet diletakkan pada gelas obyek untuk dibuat preparat hapusan. Setelah kering sediaan diwarnai dengan *Bismark Brown* dan diletakkan dalam *water bath* dengan suhu 40°C selama 5 menit. Kemudian dicuci dengan *dionized water* selama beberapa detik, dan dilanjutkan dengan pewarnaan *Rose Bengal* pada suhu 24°C selama 20-45 menit. Setelah itu sediaan dicuci dalam air, dikeringkan dalam alkohol, dijernihkan dengan *xylene* dan sediaan dilindungi dengan *permount* serta ditutup dengan kaca penutup.

Pada sampel yang dikontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* juga dilakukan pemeriksaan reaksi akrosom.

Evaluasi berdasarkan hasil pewarnaan pada spermatozoa dengan :

1. *Trypan Blue* mencat spermatozoa mati berwarna biru.
2. *Bismark Brown* mencat bagian akhir akrosom menjadi coklat muda.
3. *Rose Bengal* mencat akrosom berwarna merah muda.

Kemudian dilakukan penilaian dengan menghitung jumlah spermatozoa yang telah atau belum mengalami reaksi akrosom, dengan katagori sebagai berikut :

A : bila bagian akhir akrosom berwarna biru tua-hitam dan akrosom merah muda, maka berarti spermatozoa mati, dengan sebagian atau seluruh akrosom tidak bereaksi.

- B : bila bagian akhir akrosom berwarna biru tua-hitam dan akrosom biru atau putih, berarti spermatozoa mati dengan akrosom yang menghilang.
- C : bila bagian akhir akrosom berwarna coklat muda dan akrosom merah muda, berarti spermatozoa hidup pada saat difiksasi, tapi tidak mengalami reaksi akrosom.
- D : bila bagian akhir akrosom berwarna coklat muda dan akrosom berarti spermatozoa hidup saat fiksasi dan mengalami reaksi akrosom.

b. Prosedur pemeriksaan ASA.

Pemeriksaan ini menggunakan metode *MAR Direct*.

Pada satu gelas obyek diberi kode pada 3 tempat, kemudian diberi 1 tetes semen, 1 tetes *ortho sperm mar latex* dan 1 tetes *ortho sperm anti Ig*. Setelah itu semen dan reagen *latex* diaduk sebanyak 5x, kemudian campuran ini diaduk dengan reagen anti Ig dan ditunggu selama 3 menit, baru ditutup dengan gelas penutup. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan pada mikroskop cahaya dengan lensa obyek pembesaran 40x dan dihitung jumlahnya.

Perhitungan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{..... \%} = \frac{(a)}{(b) + (a)} \quad \text{Normal (negatif) : bila } < 40 \%$$

Keterangan :

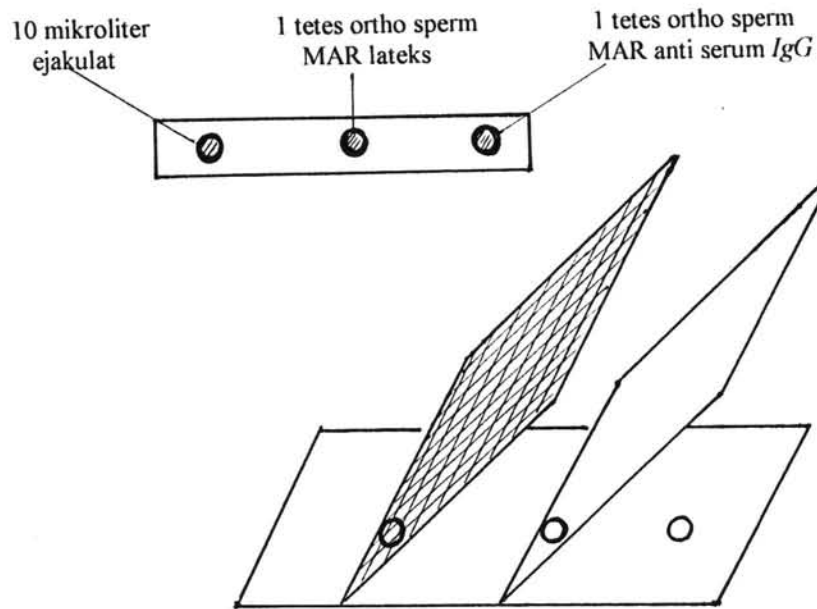
(a) = jumlah spermatozoa yang terperangkap partikel *latex*

(b) = jumlah spermatozoa bebas " (Hinting, 1989).

10 mikroliter
ejakulat

1 tetes ortho sperm
MAR lateks

1 tetes ortho sperm
MAR anti serum *IgG*



dicampur dengan kaca penutup
Dilihat dengan mikroskop cahaya spermatozoa
yang terikat dengan partikel lateks.

Gambar 4.2. skema uji MAR direk (Hinting, 1989).

c. Prosedur *washing*:

Memasukkan medium *Earle's* ke dalam tabung reaksi yang jumlahnya sama dengan semen gup B. Kemudian memasukkan semen dengan semprit ke dalam tabung yang berisi medium *Earle's* dengan posisi jarum semprit tegak lurus di dasar tabung. Kemudian tabung tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C , selama 60 menit.

Langkah selanjutnya adalah mengambil larutan dibagian atas dengan semprit dan disisakan endapan yang terdapat dibagian bawah. Dengan prosedur yang sama dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Setelah itu dilihat motilitas, konsentrasi dan morfologis spermatozoa dengan prosedur seperti pada halaman 81 sampai dengan 82 (4.2.1.6.2 a. tentang cara pemeriksaan mikroskopis)..

d. Perlakuan atau eksperimental *in vitro*:

Eksperimen dilakukan setelah semen dianalisis dan separuh volume semen dilakukan *washing* 2 kali, dengan medium *Earle's*, untuk mendapatkan spermatozoa yang bebas dari plasma semen

Langkah-langkah kerja pada tahap eksperimental *in vitro* :

1. Sementara menunggu proses *washing*, sampel spesies *Chlamydia trachomatis* dikeluarkan dari tempat penyimpanan secara bertahap, yaitu dari suhu - 80° C dipindahkan ke suhu - 20° C, kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* lemari es dengan suhu sekitar -10° C. Selanjutnya dipindahkan ke lemari es bagian bawah dengan suhu sekitar 4° C dan akhirnya diletakkan di *laminar flow* dengan suhu ruangan dengan ac sekitar 22° C. Setelah cair, kemudian dilakukan pemisahan spesies dari jaringan *yolk sac*, seperti pada halaman 74 sampai dengan 75 (4.2.1.6.2.h).
2. Semua peralatan, sampel semen dan spesies *Chlamydia trachomatis* diletakkan di *laminar flow*.
3. Setiap sampel semen yang tidak dilakukan *washing* dan semen yang dilakukan *washing*, diambil 200 μ l dan dimasukkan ke dalam *cryo tube*, sedang sisanya sebagai kontrol tetap dalam tabung reaksi.
4. Sampel *Chlamydia trachomatis* dalam CTM diambil sebanyak 50 μ l dengan cara diaduk dahulu agar homogen, hingga jumlah EB sama. Untuk mengetahui jumlah EB, maka dilakukan pemeriksaan dengan metode *Giemsa* membuat preparat hapusan. Mengambil 10

m μ spesies *Chlamydia trachomatis* diteteskan pada gelas obyek dan dibuat preparat hapusan, kemudian dilihat dengan mikroskop cahaya dan dihitung jumlah EB pada 12 lapang pandang. Cara ini diulang 4 kali untuk setiap sampel. Setelah mendapat jumlah EB, maka diambil reratanya, ternyata dalam 10 m μ didapat EB sebanyak 50-53, sehingga dalam 50 m μ didapatkan EB sebanyak $5 \times 50 = 250$

5. Kemudian sampel *Chlamydia trachomatis* dicampurkan ke dalam *cryo tube* yang berisi semen yang tidak dilakukan *washing* dan yang dilakukan *washing*. *Cryo tube* yang berisi spesimen yang sudah dikontaminasi dan yang tidak dikontaminasi diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37° C, minimal selama 3-6 jam atau maksimal 24 jam untuk menunggu aktivitas EB. Berdasarkan penelitian awal, maka pada penelitian ini inkubasi sekitar 4 jam.
 6. Setelah diinkubasi semua spesimen dilakukan pemeriksaan analisis semen dengan prosedur seperti di halaman 81 sampai dengan 82 (4.2.1.6.2.a. pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis).
- e. Inokulasi ulang
- Untuk membuktikan bahwa sampel *Chlamydia trachomatis* masih aktif, maka dilakukan inokulasi ulang, dengan prosedur seperti pada halaman 74 (4.2.1.6.2.g).
- f. Kultur semen pada medium agar
- Tujuan kultur semen pada medium agar untuk mengetahui ada tidak-

nya mikroorganisme lain. Pengambilan sampel dilakukan sebelum mendapat perlakuan, sebanyak 0.25 ml. Langkah selanjutnya ujung inokulum dipanaskan pada api, kemudian mengambil semen dengan inokulum. Semen yang berada pada inokulum dioleskan di medium agar dalam cawan petri. Setengah bagian medium diolesi dengan arah vertikal dan seperempat bagian dengan arah horisontal, sedang seperempat bagian yang lain tidak diolesi semen. Kemudian media agar dengan semen dimasukkan ke dalam inkubator yang bersuhu 37°C, selama 3-4 hari. Apabila didapatkan mikroorganisme, maka akan nampak adanya pertumbuhan koloni, dan untuk menentukan spesiesnya dilakukan pengecatan Gram negatif dan dilihat dengan mikroskop cahaya pembesaran lensa 100 X.

4.2.2.7. Tempat penelitian eksperimental *in vitro*:

Tempat penelitian eksperimental *in vitro* di laboratorium infertil RS. Budi Mulya, seksi unggas Pusat Veterinaria Farma dan sub seksi virologi laboratorium Kesehatan di Surabaya..

4.3. *Comparative cross sectional study*

Comparative cross sectional study bertujuan untuk membuktikan ada tidaknya penurunan kualitas semen pria pasangan fertil dan infertil dengan adanya infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra.

4.3.1. Populasi dan sampel penelitian *Comparative cross sectional study*

4.3.1.1. Populasi *Comparative cross sectional study*

Populasi pada penelitian ini adalah semen pria pasangan fertil dan

infertil yang berkunjung ke poliklinik Andrologi di RSUD Dr. Soetomo, RS Budi Mulya dan poliklinik Marinir Karang Pilang di Surabaya.

4.3.1.2. Sampel *Comparative cross sectional study*

Setiap sampel semen pria pasangan fertil maupun infertil dibedakan menjadi :

- a. *Chlamydia trachomatis* di uretra (+):
- b. *Chlamydia trachomatis* di uretra (-), sebagai kontrol.

Jadi setiap sampel dari setiap kelompok akan menjadi 2 kelompok, yaitu :

Kelompok fertil : 2 kelompok -> *Chlamydia trachomatis* (+) dan (-)

Kelompok infertil : 2 kelompok -> *Chlamydia trachomatis* (+) dan (-)

4.3.1.3. Kriteria sampel *Comparative cross sectional study*

Kriteria sampel pada tahap penelitian ini adalah :

4.3.1.3.1. Pria pasangan fertil dan infertil, berumur 20-35 tahun dan abstinensia 3- 7 hari.

4.3.1.3.2. Keadaan umum penderita, ditinjau dari :

- a. Klinis, dengan uretritis asimtomatik dan tidak dijumpai kelainan organ reproduksi, misal konsistensi testis tidak keras (kenyal), volume 12-16. Anamnesa penderita telah mengalami uretritis 3-4 kali.

b. Laboratoris, tidak ada kelainan :

1. Hormon testosteron, *Follicel Stimulating Hormon* (FSH) serta *Luteinizing Hormon* (LH).
2. Pada kultur semen tidak dijumpai mikroorganisme patogen.
3. Konsentrasi enzim alfa glukosidase dan fosfatase, serta fruktosa

dalam plasma semen normal.

- c. Pengeluaran semen dilakukan dengan cara masturbasi di laboratorium dan ejakulat ditampung dalam gelas steril.

Ke 2 kriteria tersebut sekaligus dipakai sebagai variabel kendali.

4.3.1.4. Jumlah sampel *Comparative cross sectional study*

Sampai saat ini di Indonesia, khususnya di Surabaya belum diketahui populasi penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, sehingga sulit untuk menentukan besarnya sampel, oleh karena itu. sesuai dengan rancangan pengelompokan sampel yaitu, kelompok fertil dengan infeksi dan tidak infeksi, kelompok infertil dengan infeksi dan tidak infeksi, dan besarnya populasi tidak diketahui maka dapat menggunakan rumus populasi tidak diketahui (Pudjirahardjo, 1993) :

$$n = \frac{[(z\alpha \sqrt{2p(1-p)} + z\beta \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)})]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Keterangan : n = besar sampel “

Perhitungan :

Dengan : α 5% = 0.05 $\rightarrow z\alpha$ = 1.96 dan β 10% = 0.10 $\rightarrow z\beta$ = 0.84

Berdasarkan data penelitian di negara lain (1996) :

p_1 = pasangan fertil \rightarrow 5.9% *Chlamydia trachomatis* positif

p_2 = pasangan infertil \rightarrow 37.1% *Chlamydia trachomatis* positif

$$p = \frac{p_1 + p_2}{2} = 21.5\%$$

$$n = \frac{[1.96\sqrt{2 \times 0.215(1-0.215)} + 0.84\sqrt{0.059(1-0.059) + 0.215(1-0.215)}]^2}{(0.059 - 0.215)^2}$$

= 39.883 dibulatkan = 40.

4.3.2. Variabel *Comparative cross sectional study*

Dalam penelitian ini terdapat beberapa variabel, yaitu :

4.3.2.1. Variabel tergantung adalah kualitas serta kuantitas plasma semen dan spermatozoa, seperti pada halaman 77 (4.2.2.2.1).

4.3.2.2. Variabel bebas pada penelitian ini adalah infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra positif atau negatif dan di dalam semen didapatkan atau tidak didapatkan fraksi antigen *Chlamydia trachomatis*.

4.3.2.3. Variabel eksternal pada penelitian ini meliputi :

1. Sifat uretritis asimtomatik kronis atau akut, dan lamanya sakit.

Pada penelitian ini sampel telah 3-4 kali menderita uretritis asimptomatik dan telah mendapat terapi.

2. Kontak seks dengan pasangan resiko tinggi terhadap STD atau sering kontak seks dengan pasangan yang berganti-ganti.

4.3.2.4. Variabel penyerta meliputi :

Petanda hormon reproduksi, yaitu testosteron, FSH, LH dan petanda kelenjar aksesori yaitu enzim alfa glukosidase, fosfatase dan fruktose dalam plasma semen.

4.3.3. Definisi operasional variabel *Comparative cross sectional study*

Definisi operasional variabel dalam penelitian ini adalah :

a. Pria pasangan fertil, seperti definisi operasional variabel pada penelitian eksperimental *in vitro* di halaman 77 (4.2.2.3.1.).

b. Pasangan infertil pada penelitian ini mengikuti pendapat Strickler, et al. (1995), yaitu tidak adanya kemampuan untuk berkonsepsi setelah 1 tahun

bersanggama secara teratur tanpa menggunakan alat kontrasepsi

- c. Semen, seperti definisi operasional variabel di halaman 78 (4.2.2.3.3.).
- d. Kualitas dan kuantitas komponen di dalam semen yaitu plasma semen dan spermatozoa, maupun komponen lainnya pada penelitian ini mengikuti petunjuk WHO (1994), yang telah dibahas pada Bab 2 (2.2.3. analisis semen) pada halaman 32 sampai dengan 34.

4.3.4. Materi Penelitian *Comparative cross sectional study*

Materi penelitian yang dipergunakan pada penelitian ini, dibedakan atas :

a. Bahan penelitian *Comparative cross sectional study*:

Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah :

1. Semen dari pasangan fertil dan infertil dengan uretritis asimtomatik.
2. *Swab* endouretral dan serum darah dari pria pasangan fertil dan infertil.

b. Reagen penelitian *Comparative cross sectional study* :

Reagen yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Reagen hapusan *Giemsa*.
2. Reagen untuk pemeriksaan ASA IgG.
3. Reagen untuk reaksi akrosom
4. Reagen untuk mendeteksi fraksi antigen *Chlamydia trachomatis*, dengan metode IMx (Abbot, 1994, lampiran kerja metode).
5. Reagen untuk pemeriksaan hormon testosteron dengan metode *immuno-chemiluminescence*, LH dan FSH, dengan metode MEIA serta IgG, IgA dan IgM *total* dengan metode *imunoturbidimetri* (lampiran kerja).

6. Reagen untuk pemeriksaan alfa glukosidase, fosfatase dan fruktose dengan metode spektrometri (lampiran kerja metode).
7. Medium agar untuk kultur semen.

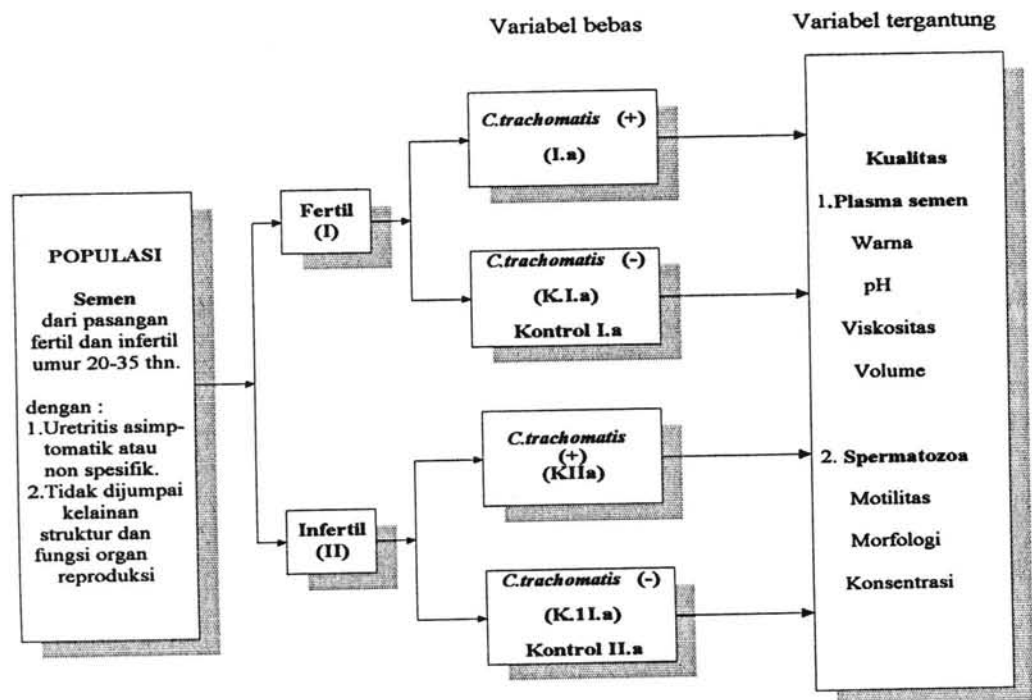
4.3.5. Alat Penelitian *Comparative cross sectional study*

Alat yang digunakan antara lain gelas obyek, penutup kaca, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, pipet, pemanas bunsen, kertas pH, inkubator, *centrifuge*, *water bath*, *makler chamber counting*, *autovortex mixer*, *IMx Select Abbott*, *imulete*, spektrometer dan mikroskop cahaya.

4.3.6. Langkah Penelitian *Comparative cross sectional study*

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa langkah penelitian, yaitu :

4.3.6.1. Membuat kerangka penelitian



Diagam 4.3.: Skema langkah *comparative cross sectional study*.

Keterangan diagram 4.3. Skema langkah *comparative cross sectional study*

1. *C.trachomatis* = *Chlamydia trachomatis*
2. Angka romawi (I dan II), menunjukkan kode kelompok
3. Huruf (a), menunjukkan kode sub kelompok.
4. Tanda (+) atau (-) artinya infeksi *Chlamydia trachomatis* positif atau negatif.
5. K = kontrol.

4.3.6.2. Cara kerja

langkah kerja pada tahap penelitian tahap ini adalah :

- a. Mengumpulkan sampel *swab* endouretral, serum dan semen dari pria pasangan fertil dan infertil dengan uretritis asimtomatik.
- b. Pengambilan *swab* endouretral, dilakukan 1-2 jam sesudah penderita miksi.

Langkah pertama membersihkan orifisium uretra eksterna dengan kasa steril, kemudian memasukkan stik kapas IMx ke dalam uretra sekitar 1-1.5 cm. Setelah itu memutar stik 360° dengan sedikit ditekan, kemudian ditarik keluar.

Pengambilan *swab* endouretral dilakukan 2 kali :

1. *Swab* pertama untuk pemeriksaan fraksi antigen *Chlamydia trachomatis* dengan metode IMx. *Stick* dimasukkan ke dalam tabung reagen IMx, kemudian disimpan di dalam lemari es (tidak perlu dalam *freezer*), maksimal penyimpanan selama 7 hari.
2. *Swab* kedua untuk pemeriksaan *inclusion bodies Chlamydia trachomatis* yang terdapat di dalam epitel uretra dengan membuat preparat hapusan metode *Giemsa*, dapat dilihat di halaman 75 (4.2.1.6.2.i).

Pemeriksaan hapusan :

Pada lapang pandang preparat hapusan yang dilihat dengan mikroskop cahaya dengan lensa obyektif pembesaran 100x, minimal didapatkan 10 sel epitel uretra yang menggerombol. Dalam sel epitel ini terdapat sel bulat yang besar dan agak lebih terang dibandingkan inti sel, berwarna lebih gelap dari pada sitoplasma dan di dalamnya terdapat granula.

3. Pengambilan semen satu jam setelah *swab*, yang dilakukan dengan cara masturbasi dan semen ditampung dalam gelas steril.

Kemudian dilakukan beberapa pemeriksaan yaitu :

- a. Analisis semen dengan prosedur pemeriksaan seperti pada halaman 81 sampai dengan 83 (4.2.1.6.2.a), termasuk pemeriksaan ada tidaknya EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen dengan membuat preparat hapusan metode *Giemsa*. Juga dilakukan pemeriksaan antigen *Chlamydia trachomatis* dalam semen dengan metode IMx.
- b. Reaksi akrosom, dengan prosedur pemeriksaan yang dapat dilihat di halaman 82 sampai dengan 84 (4.2.2.6.2 pemeriksaan mikroskopis – pemeriksaan reaksi akrosom).
- c. Imunologis dalam semen, antara lain ASA IgG dengan prosedur yang dapat dilihat pada halaman 84 sampai dengan 85 (4.2.2.6.2.). IgG total, IgA total dan IgM total di dalam semen maupun serum dengan metode *immunoturbidimetri* yang bekerja secara otomatis.
- d. Biokimiawi

Untuk mengetahui kadar alfa glukosidase, fruktosa dan fosfatase,

dengan spektrometer.

4. Pengambilan serum darah

Darah diambil dari pembuluh vena lengan kanan atau kiri, sebanyak 5 ml dengan semprit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril tanpa anti koagulan dan diletakkan pada rak tabung reaksi dalam ruangan ac. Sekitar 1 jam sel darah merah terkumpul di bawah, sedang serum di atasnya. Untuk mendapatkan serum yang bebas dari sel darah merah, maka dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm, selama 2-3 menit. Setelah itu serum di ambil dengan semprit lain dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan disimpan pada suhu - 20°C, sampai dilakukan pemeriksaan IgA total, IgG total, IgM total dengan metode *immunoturbidimetri*, dan hormon testosteron, LH dan FSH dengan metode IMx.

4.3.7. Tempat *Comparative cross sectional study*

Penelitian dilakukan di RSUD. Dr. Soetomo dan di laboratorium Prodia di Surabaya.

4.4. Analisis data penelitian

Uji statistik yang digunakan tergantung dari hasil uji normalitas distribusi data dengan uji *Komolgorov-Smirnov*, bentuk skala datanya, tujuan penelitian dan hipotesis penelitian.

Pada penelitian ini akan didapatkan data kuantitatif untuk masing-masing parameter plasma semen maupun spermatozoa yang dapat berskala interval, ordinal atau nominal. Atas dasar skala data dan distribusi data maka digunakan

uji statistik yang sesuai, antara lain *Chi square test*, *Mann-Whitney U test*, *analysis of variance*, *multivariet test*, *t-test* dan *correlation test*

4.5. Waktu Penelitian

Waktu penelitian 18-24 bulan terhitung sejak proposal disetujui tim penguji proposal pada tanggal 22 Juli 1996.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap, yaitu tahap kultur *Chlamydia trachomatis*, eksperimen *in vitro* dan *comparative cross sectional study* pada pria fertil dan infertil dengan gejala uretritis asimtomatik.

Penelitian ini menggunakan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$.

5.1. Hasil dan analisis data tahap penelitian kultur *Chlamydia trachomatis*

Sampel yang digunakan telah diperiksa oleh tim peneliti gabungan dari Kanwil Depkes Kodya Surabaya, RSUD. Dr. Soetomo dan FK Unair. Penelitian tersebut menggunakan metode *Elisa* dan telah mendiagnosis *Chlamydia trachomatis* positif pada 25 sampel. Pada penelitian ini dilakukan kultur pada 16 sampel yang menunjukkan *Giemsa* positif. Tahapan dan hasil kultur digambarkan pada diagram 5.1

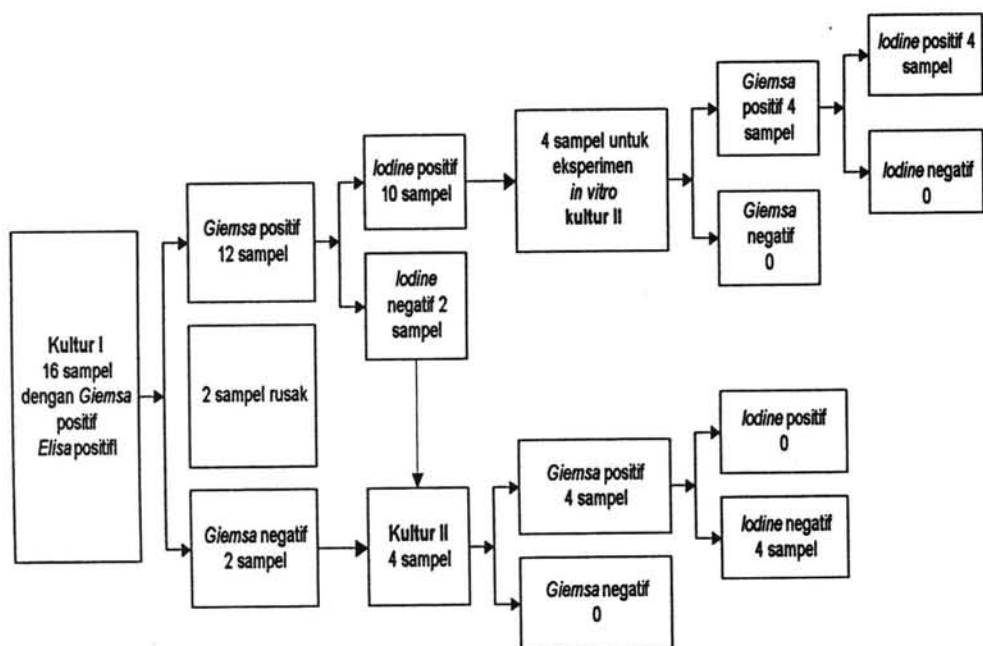


Diagram 5.1. Tahap dan hasil kultur *Chlamydia trachomatis*

Sebelum dan setelah kultur pertama, dilakukan pemeriksaan ulang dengan metode *Giemsa*. Kemudian untuk menentukan spesies *Chlamydia trachomatis* dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan *iodine* (Broch, *et al.*, 1991). Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan *serotype* spesies *Chlamydia trachomatis*.

Dari 16 sampel yang dilakukan kultur, ternyata yang mampu berkembang biak sebanyak 14 (87,5%), sedang dua (12,5%) sampel tidak berkembang biak. Dari 14 sampel yang berkembang biak, 12 sampel (85,72%) yang menunjukkan hasil pemeriksaan dengan *Giemsa* positif, sedang yang dua sampel (14,28%) menunjukkan *Giemsa* negatif. Dari 12 sampel dengan *Giemsa* positif, dilakukan pemeriksaan dengan *iodine* dan yang menunjukkan positif sebanyak 10 sampel (83,33%), sedang dua sampel (16,67%) menunjukkan *iodine* negatif. Kultur kedua dilakukan pada dua sampel yang menunjukkan *Giemsa* negatif, ternyata ke-seluruhannya mampu berkembang biak dan pada pemeriksaan ulang tetap menunjukkan *Giemsa* positif, namun *iodine* negatif.

Dengan hasil pemeriksaan *Giemsa* positif dan *iodine* positif, maka dinyatakan bahwa kultur yang berhasil menunjukkan spesies *Chlamydia trachomatis* sebanyak 10 sampel (62.5% dari 16 sampel yang dikultur).

Dari 10 sampel ini yang digunakan untuk penelitian tahap kedua sebanyak empat sampel dan setelah digunakan sisa sampel dilakukan kultur kedua. Tujuan kultur kedua untuk membuktikan bahwa spesies *Chlamydia trachomatis* yang digunakan pada eksperimen *in vitro* masih aktif. Hasil kultur kedua, ternyata semua berkembang biak dan menunjukkan *Giemsa* serta *iodine* positif.

5.2. Hasil dan analisis data tahap penelitian eksperimental *in vitro*

Pada penelitian eksperimen *in vitro* dilakukan pemeriksaan terhadap variabel :

1. Plasma semen, terdiri atas variabel pH, viskositas dan volume.
2. Spermatozoa, terdiri atas konsentrasi, motilitas, morfologis, reaksi akrosom, dan aglutinasi.
3. ASA IgG.
4. *Chlamydia trachomatis*.

Pemeriksaan dilakukan sebelum dan sesudah mendapat perlakuan *washing* dan perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*.

Jumlah sampel sebanyak delapan semen dari delapan orang pria pasangan fertil. Pembagian sampel semen seperti pada diagram 5.2.

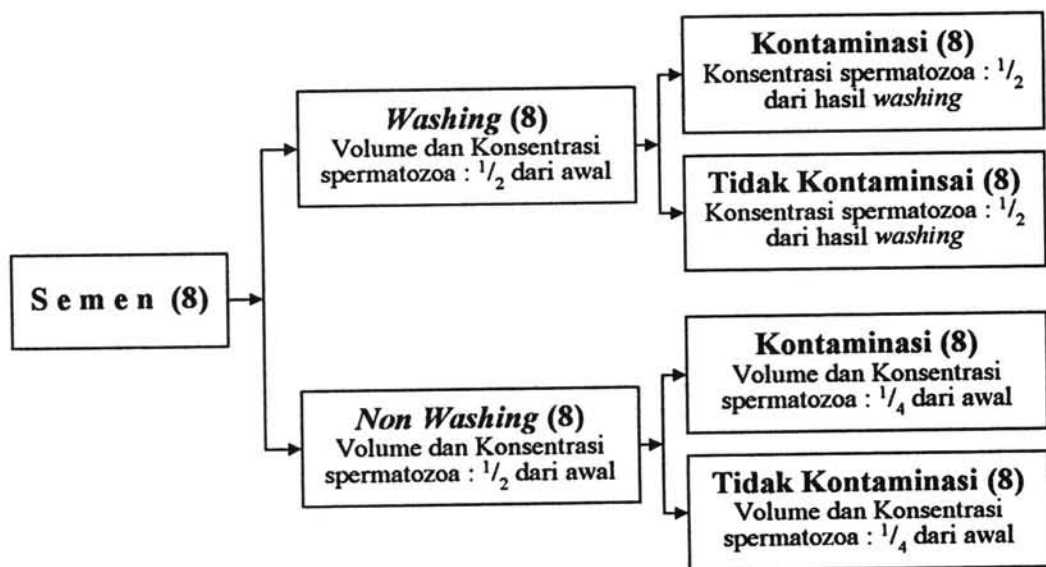


Diagram 5.2. : Pembagian semen pada penelitian eksperimental *in vitro*

Keterangan : Konsentrasi spermatozoa setelah *washing* menurun sekitar 50% dari awal

Untuk memenuhi kriteria sampel yang telah ditentukan, yaitu hasil analisis semen dalam batas normal dan tidak dijumpai mikroorganisme patogen dalam semen, maka dilakukan uji statistik data yang didapat. Semua data yang diperoleh, dianalisis secara diskriptif dan analitik, tetapi sebelum dilakukan uji statistik semua data telah diuji normalitas distribusi data (*Kolmogorov-Smirnov*) dan tidak semua data mempunyai distribusi yang normal, hingga uji yang digunakan disesuaikan.

Untuk menunjukkan bahwa delapan sampel semen dalam batas harga normal, yang sesuai dengan harga normal yang ditentukan WHO (1994), maka ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Frekuensi distribusi harga rerata, simpang baku, minimum dan maksimum dari variabel semen normal pada 8 sampel.

Variabel (satuan)	H A R G A				
	Rerata	Simpang baku	Minimum	Maksimum	WHO
PH	7,6	0,141	7,4	7,8	7,2-7,8
Viskositas (detik)	1,35	0,245	1,0	1,6	Maks. 2 detik
Likuifaksi (menit)	41,25	5,175	35,0	50,0	Maks. 60 menit
Volume (ml)	3,263	0,288	3,0	3,8	2,5-3,0 ml
Konsentrasi/ml(juta/ml)	68,875	30,577	43,0	118,0	Min. 20 juta/ml
Konsentrasi/ejakulat	219,763	83,685	137,6	348,0	*
Motilitas normal (%)	66,0	6,803	56,0	77,0	Min. 50 %
Spermatozoa normal	65,5	9,055	56,0	80,0	Min. 50 %
Aglutinasi	0	0	0	0	Negatif
Lekosit	0,003	0,005	0	0,01	Maks. 1 juta
Eritrosit	0	0	0	0	Negatif
Bakteri	0	0	0	0	Negatif
ASA IgG (%)	1,75	1,669	0	4,0	Kurang 40%

Keterangan : Konsentrasi/ml = konsentrasi spermatozoa per ml (juta/ml)

*Volume x konsentrasi spermatozoa per ml (juta/ejakulat)

Motilitas normal = jumlah motilitas tipe a + tipe b (%)

spermatozoa normal = bentuk spermatozoa normal (%)

Maks.= maksimum ; Min.=minimum

Data frekuensi distribusi semua variabel, menunjukkan harga rerata yang sesuai dengan harga normal yang ditentukan WHO (1994). Hasil kultur semen yang menggunakan medium agar, ternyata menunjukkan tidak ada mikro-organisme patogen, misalnya *Staphylococcus* dan *Streptococcus*.

Untuk mengetahui cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa, maka dilakukan pemeriksaan ada tidaknya EB *Chlamydia trachomatis* yang melekat pada membran spermatozoa maupun akrosom atau merusak membran spermatozoa maupun akrosom sehingga menyebabkan kerusakan morfologis spermatozoa dan terjadi aglutinasi spermatozoa.

Hal ini dapat dibuktikan setelah dilakukan pemeriksaan pada semen yang dikontaminasi dan yang tidak dikontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*. Dengan pemeriksaan ini maka didapatkan berbagai data yang diuji statistik sesuai skala pengukurannya.

1. Keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen

Keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* didapat dari pemeriksaan preparat hapusan dengan metode *Giemsa*. Pada preparat hapusan *Giemsa* nampak adanya perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* dan kerusakan di akrosom dan membran spermatozoa (lampiran gambar 2.4).

Untuk membuktikan keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen, maka dilakukan uji statistik. Data yang didapat berskala nominal, sehingga untuk membedakan keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* antara semen yang tidak dilakukan kontaminasi dan semen yang dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* menggunakan uji *chi square* (lampiran 1.3).

Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* pada semen tidak dikontaminasi (kontam 1) dan dikontaminasi (kontam 2).

Perlakuan	Giemsa Negatif (-)	Giemsa Positif (+)
Kontam 1 (-)	16	0
Kontam 2 (+)	0	16

$$X^2 = 32,0000$$

Derajat kebebasan = 1

$$p = 0,0001$$

Keterangan : $\alpha=0,05$

Kontam 1: tidak dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Kontam 2 : dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Hasil uji statistik menunjukkan didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen antara semen yang telah dilakukan kontaminasi dan semen yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* ($p=0,0001$).

2. Perubahan morfologis spermatozoa

Perubahan morfologis spermatozoa sebagai akibat melekatnya EB *Chlamydia trachomatis* dan kerusakan di akrosom maupun membran spermatozoa, hingga terjadi perubahan reaksi akrosom dan jumlah bentuk spermatozoa normal. Uji statistik dilakukan pada perubahan variabel reaksi akrosom dan bentuk spermatozoa normal.

Hasil analisis semen, menunjukkan data reaksi akrosom dan jumlah bentuk spermatozoa normal berskala interval.

Untuk membedakan perubahan reaksi akrosom dan jumlah bentuk spermatozoa normal antara semen yang dilakukan kontaminasi dan yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia tachomatis*, maka uji statistik yang digunakan adalah *t-test for independent samples* (lampiran 2.1).

Hasil uji statistik seperti pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Reaksi akrosom dan bentuk spermatozoa normal antara semen yang tidak dikontaminasi (kontam 1) dan yang dikontaminasi (kontam 2).

Variabel	Perlakuan	Jumlah Kasus	H a r g a		Hasil uji T		
			Rerata	Simpang baku.	t-value	Derajat kebebasan	Harga p.
Reaksi Akrosom A	Kontam-1(-)	16	10,250	8,136	- 13,82	22,07	0,0001 (<0,05)
	Kontam-2(+)	16	73,0625	16,254			
Reaksi Akrosom B	Kontam-1(-)	16	13,0625	4,725	5,07	25,12	0,0001 (<0,05)
	Kontam-2(+)	16	6,000	2,944			
Reaksi Akrosom C	Kontam-1(-)	16	64,5625	9,063	11,63	26,87	0,0001 (<0,05)
	Kontam-2(+)	16	18,6250	12,935			
Reaksi Akrosom D	Kontam-1(-)	16	12,1250	5,201	6,79	22,48	0,0001 (<0,05)
	Kontam-2(+)	16	2,1875	2,689			
Spermatozoa Normal	Kontam-1(-)	16	70,1250	11,063	10,75	30,00	0.0001 (<0.05)
	Kontam-2(+)	16	29,1875	10,477			

Keterangan: $\alpha = 0,05$. Spermatozoa normal : jumlah bentuk spermatozoa normal.
 Kontam 1 : tidak dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*
 Kontam 2 : dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna pada reaksi akrosom tipe A, tipe B, tipe C, tipe D dan jumlah bentuk spermatozoa normal ($p = 0,0001$) antara semen yang dilakukan kontaminasi dengan yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*. Dengan adanya perbedaan yang bermakna pada variabel reaksi akrosom dan bentuk spermatozoa normal, berarti bahwa ada perubahan morfologis spermatozoa, yang disebabkan adanya EB *Chlamydia trachomatis* yang melekat pada akrosom maupun membran spermatozoa dan kerusakan membran spermatozoa serta akrosom.

3. Aglutinasi spermatozoa

Dengan keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen kemungkinan dapat menyebabkan terjadinya aglutinasi spermatozoa.

Pada penelitian ini, data aglutinasi ditentukan dengan penilaian dalam % dari jumlah spermatozoa yang didapat pada lapang pandang preparat basah, kemudian menghitung jumlah spermatozoa yang mengalami aglutinasi pada 6 lapang pandang dan dihitung reratanya serta dilakukan penilaian sebagai berikut :

nilai 0 : tidak dijumpai spermatozoa yang mengalami aglutinasi.

nilai 1 : spermatozoa yang mengalami aglutinasi sedikit (1-15%).

nilai 2 : spermatozoa yang mengalami aglutinasi cukup banyak (16-30%).

nilai 3 : spermatozoa yang mengalami aglutinasi banyak.(31-45%).

nilai 4 : spermatozoa yang mengalami aglutinasi sangat banyak.(> 45%).

Dari penilaian ini didapatkan data aglutinasi spermatozoa berskala ordinal, maka untuk membandingkan ada tidaknya aglutinasi spermatozoa pada semen yang tidak dilakukan kontaminasi dan yang dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* menggunakan uji statistik *Mann-Whitney U test* (lampiran 1.3). Hasil dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4. Aglutinasi spermatozoa yang ditemukan antara kelompok semen yang tidak dikontaminasi (kontam 1) dan yang dikontaminasi (kontam 2).

Variabel	Perlakuan	Jumlah kasus	H a r g a (Mann-Whitney U test)		
			Rerata	Z	p
Aglutinasi spermatozoa	Kontam 1	16	8,50	- 5,1757	0,0001
	Kontam 2	16	24,50		

Keterangan : $\alpha = 0.05$

Kontam 1 : tidak dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Kontam 2 : dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna mengenai aglutinasi spermatozoa ($p=0,0001$) antara semen yang tidak dilakukan

kontaminasi dengan yang dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*.

Dari hasil uji ini maka dikatakan bahwa adanya *Chlamydia trachomatis* di dalam semen menyebabkan aglutinasi spermatozoa.

4. Perubahan motilitas spermatozoa

Pada penelitian ini variabel motilitas spermatozoa adalah jumlah motilitas normal yang ditentukan dari jumlah motilitas tipe a dan tipe b. Dikatakan normal bila jumlah tipe a dan tipe b minimal mencapai 50% dari seluruh motilitas spermatozoa yang dihitung pada pemeriksaan preparat basah.

Dengan adanya perlakuan *washing* pada semen, maka didapatkan motilitas normal yang lebih tinggi dari semen yang tidak dilakukan *washing*, sebab sebagian besar motilitas tipe c dan tipe d akan tertinggal dalam plasma semen. Pada *washing* akan didapatkan konsentrasi spermatozoa per ml menjadi berkurang sekitar 50% dari konsentrasi spermatozoa awal. Demikian pula halnya dengan kualitas plasma semen yang meliputi pH, volume dan viskositas mungkin tidak mengalami perubahan dengan perlakuan *washing*.

Untuk membuktikan ada tidaknya perubahan motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, pH, volume dan viskositas, maka dilakukan uji statistik pada :

- a. Semen sebelum *washing* dengan semen sesudah *washing* yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* (kontrol).

Data yang didapat berskala interval, maka untuk membandingkan ada tidaknya perubahan pH, volume, viskositas, motilitas normal spermatozoa,

konsentrasi spermatozoa per ml dan konsentrasi spermatozoa per ejakulat pada kedua kelompok tersebut menggunakan uji statistik *t-test for paired samples* (lampiran 2.1). Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5. Hasil uji beda variabel pada semen sebelum *washing* (1) dengan semen sesudah *washing* yang tidak dikontaminasi (3).

Variabel (satuan)	Jumlah Pasangan	H a r g a		Hasil uji T		
		Rerata	Simpang baku.	Harga t	Derajat kebebasan	Harga p.
pH1	16	7,600	0,137			
pH 3	16	7,600	0,137			
Viskositas 1	16	1,35	0,237	- 1,37	15,0	0,191
Viskositas 3	16	1,4375	0,403			(>0,05)
Volume 1	16	3,2625	0,278	53,47	15,0	0,0001
Volume 3	16	1,10	0,209			(<0,05)
Konsentrasi/ml 1	16	68,875	29,541	8,53	15,0	0,0001
Konsentrasi/ml 3	16	13,350	12,671			(<0,05)
Konsentrasi/ej 1	16	219,7625	80,848	10,76	15,0	0,0001
Konsentrasi/ej 3	16	14,7131	13,259			(<0,05)
Motilitas A 1 (%)	16	17,00	5,955	-3,38	15,0	0,004
Motilitas A 3	16	50,00	39,185			(<0,05)
Motilitas B 1	16	46,750	11,475	4,32	15,0	0,0001
Motilitas B 3	16	23,125	19,755			(<0,05)
Motilitas C 1	16	13,375	7,482	4,32	15,0	0,602
Motilitas C 3	16	11,875	9,845			(>0,05)
Motilitas D 1	16	20,625	7,042	1,92	15,0	0,74
Motilitas D 3	16	14,5625	13,371			(>0,05)
Motilitas normal 1	16	66,00	6,573	-1,45	15,0	0,168
Motilitas normal 3	16	73,625	20,330			(>0,05)

Keterangan : $\alpha=0,05$; Konsentrasi : konsentrasi spermatozoa
Tidak dikontaminasi : tidak dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Hasil uji statistik pada variabel antara semen sebelum dilakukan *washing* dan sesudah *washing* yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*, ternyata menunjukkan beberapa hasil, yaitu :

1. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada variabel pH, bahkan

data tidak dapat dianalisis oleh karena tidak ada perbedaan simpang baku, dan viskositas ($p=0,191$).

Tidak adanya perbedaan pH dan viskositas antara kedua sub kelompok ini disebabkan oleh karena sudah dilakukan pembagian sebelum perlakuan *washing*, sehingga kelompok yang tidak dikontaminasi tidak berbeda dengan kelompok sebelum perlakuan *washing* dan bersifat sebagai kontrol (lihat diagram 5.2 pembagian semen di halaman 102).

2. Didapatkan perbedaan yang bermakna pada variabel volume ($p= 0,001$), konsentrasi spermatozoa per ml dan konsentrasi spermatozoa per ejakulat ($p = 0,001$). Perbedaan ini disebabkan oleh karena sebelum dan sesudah *washing* dilakukan pembagian semen (lihat diagram 5.2 pembagian semen yang tidak *washing* di halaman 102), sehingga volume semen menjadi empat sub kelompok yang sama. Demikian pula halnya dengan konsentrasi spermatozoa per ml dan konsentrasi spermatozoa per ejakulat pada dua sub kelompok *washing* lebih sedikit dari pada dua sub kelompok yang tidak dilakukan *washing*, sebab perlakuan *washing* menyebabkan konsentrasi spermatozoa menurun sekitar 50% (lihat diagram 5.2 pembagian semen di halaman 102).
3. Didapatkan perbedaan yang bermakna pada variabel motilitas tipe a ($p=0,004$) dan motilitas tipe b ($p=0,0001$). Perbedaan ini menunjukkan bahwa pada semen *washing* lebih banyak didapatkan motilitas tipe a dan tipe b, sedang tipe c dan d lebih banyak yang tertinggal dalam plasma semen. Meskipun didapatkan perbedaan yang bermakna pada kedua tipe

motilitas ini, tetapi interval simpang baku motilitas tipe a dan tipe b sangat besar, sehingga pada uji statistik untuk motilitas normal yang merupakan jumlah motilitas tipe a dan tipe b akan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p=0,168$).

b. Semen sebelum *washing* dengan semen sesudah *washing* yang dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*.

Data yang didapat berskala interval, maka untuk membuktikan perbedaan pH, viskositas dan volume pada semen yang dilakukan kontaminasi dan yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* digunakan *t-test for paired samples* (lampiran 2.1).

Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6. Hasil uji beda variabel plasma semen sebelum *washing* (1) dengan semen sesudah *washing* yang dikontaminasi (3).

Variabel Plasma semen	Jumlah Pasangan	H a r g a		t-test for paired samples		
		Rerata	Simpang baku	Harga t	Derajat kebebasan	Harga p.
pH 1	16	7,6000	0,137	14.76	15	0,0001 ($<0,05$)
pH 3	16	6,6313	0,233			
Viskositas 1	16	1,3500	0,237	-12.31	15	0,0001 ($<0,05$)
Viskositas 3	16	3,0500	0,455			
Volume 1	16	3,2625	0,278	39.78	15	0,0001 ($<0,05$)
Volume 3	16	0,5000	0,000			

Keterangan : $\alpha=0,05$

Dikontaminasi : dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Demikian juga untuk membuktikan perbedaan konsentrasi spermatozoa per ml dan motilitas spermatozoa pada semen yang dilakukan kontaminasi dan yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* digunakan *t-test for paired samples* (lampiran 2.1). Hasil uji statistik pada tabel 5.7.

Tabel 5. 7. Hasil uji beda variabel spermatozoa sebelum *washing* (1) dengan semen sesudah *washing* yang dikontaminasi (3).

Variabel Spermatozoa	Jumlah Pasangan	H a r g a		t-test for paired samples		
		Rerata	Simpang baku	Harga t	Derajat kebebasan	Harga p.
Konsentrasi/ml 1	16	68,8750	29,541	9.29	15	0,0001 (<0,05)
Konsentrasi/ml 3	16	6.3250	6,202			
Konsentrasi/ej 1	16	219,7625	80,848	10.91	15	0,0001 (<0,05)
Konsentrasi/ej 3	16	3,1625	3,101			
Motilitas A 1	16	17,0000	5,955	14.00	15	0,0001 (<0,05)
Motilitas A 3	16	17,6250	18,319			
Motilitas B 1	16	46,1250	11,500	11.57	15	0,0001 (<0,05)
Motilitas B 3	16	8,6250	8,570			
Motilitas C 1	16	13,3750	7,482	- 3.20	15	0,0001 (<0,05)
Motilitas C 3	16	26,0625	13,178			
Motilitas D 1	16	20,6250	7,042	- 5.59	15	0,0001 (<0,05)
Motilitas D 3	16	47,6875	18,846			
Motilitas normal 1	16	66,0000	6,573	8,59	15	0,0001 (<0.05)
Motilitas normal 3	16	26.8750	16,508			

Keterangan : $\alpha = 0,05$; Konsentrasi = konsentrasi spermatozoa.
Dikontaminasi : dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*.

Hasil uji statistik pada tabel 5.6 dan 5.7 menunjukkan bahwa didapatkan perbedaan yang bermakna untuk variabel pH, viskositas, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, setiap tipe motilitas spermatozoa dan motilitas normal ($p = 0,0001$) pada semen sebelum *washing* dan sesudah *washing* yang dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*.

Atas dasar hasil uji statistik tersebut, maka dapat dibuktikan bahwa adanya *Chlamydia trachomatis* dalam semen menurunkan pH (rerata pH sebelum *washing* 7,60 lebih kecil dari rerata pH sesudah *washing* yang dikontaminasi), meningkatkan viskositas (rerata viskositas sebelum *washing* 1,35 lebih kecil dari rerata viskositas sesudah *washing* yang dikontaminasi).

1,4375), serta menurunkan motilitas normal spermatozoa (rerata motilitas normal sebelum *washing* 66,0000 lebih besar dari motilitas normal sesudah *washing* yang dikontaminasi 26,8750).

- c. Pengaruh perlakuan *washing*, pengaruh perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* dan pengaruh gabungan (*explained*) antara perlakuan *washing* dan perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* terhadap variabel pH, viskositas, volume, motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, bentuk spermatozoa normal dan semua tipe reaksi akrosom.

Uji statistik pengaruh gabungan antara perlakuan *washing* dan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* untuk memperkuat hasil uji pengaruh perlakuan *washing* maupun perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*.

Data analisis semen *washing* yang dilakukan kontaminasi dan yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* berskala interval, maka untuk membuktikan perbedaan pengaruh *washing*, perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* serta pengaruh gabungan perlakuan *washing* dan perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* digunakan uji *analysis of variance* (lampiran 3.1 dan 3.2).

Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8. Hasil uji anova variabel plasma semen dan spermatozoa pada semen *washing* (+) dan tidak *washing* (-) masing-masing dilakukan kontaminasi (+) dan tidak dikontaminasi (-) serta gabungan *washing*-kontaminasi pada 32 sampel

Variabel	Perlakuan	Analisis variansi		
		Derajat Kebebasan	Harga F	Harga p
pH 3.	1. Washing +/-	1	1,991	0,169
	2. Kontaminasi +/-	1	212,611	0,0001
	3. Gabungan	2	107,301	0,0001
Viskositas 3	1. Washing +/-	1	0,165	0,688
	2. Kontaminasi +/-	1	109,555	0,0001
	3. Gabungan	2	54,860	0,0001
Volume 3	1. Washing +/-	1	0,350	0,559
	2. Kontaminasi +/-	1	129,051	0,0001
	3. Gabungan	2	64,700	0,0001
Konsentrasi spermatozoa per ml 3	1. Washing +/-	1	37,578	0,0001
	2. Kontaminasi +/-	1	8,805	0,006
	3. Gabungan	2	23,192	0,0001
Konsentrasi spermatozoa per ejakulat 3	1. Washing +/-	1	28,890	0,0001
	2. Kontaminasi +/-	1	22,216	0,0001
	3. Gabungan	2	1227,661	0,0001
Motilitas normal 3	1. Washing +/-	1	97,979	0,0001
	2. Kontaminasi +/-	1	215,812	0,0001
	3. Gabungan	2	156,896	0,0001
Akrosom normal 3	1. Washing +/-	1	24,006	0,0001
	2. Kontaminasi +/-	1	186,331	0,0001
	3. Gabungan	2	105,168	0,0001
Reaksi akrosom A 3	1. Washing +/-	1	0,952	0,337
	2. Kontaminasi +/-	1	190,758	0,0001
	3. Gabungan	2	95,855	0,0001
Reaksi akrosom B 3	1. Washing +/-	1	1,494	0,231
	2. Kontaminasi +/-	1	26,172	0,0001
	3. Gabungan	2	13,833	0,0001
Reaksi akrosom C 3	1. Washing +/-	1	0,930	0,343
	2. Kontaminasi +/-	1	16882,031	0,0001
	3. Gabungan	2	8499,156	0,0001
Reaksi akrosom D3	1. Washing +/-	1	0,963	0,334
	2. Kontaminasi +/-	1	46,038	0,0001
	3. Gabungan	2	23,500	0,0001
Spermatozoa Normal 3	1. Washing +/-	1	27,553	0,0001
	2. Kontaminasi +/-	1	217,737	0,0001
	3. Gabungan	2	122,645	0,0001

Keterangan : $\alpha = 0,05$

Washing (+) : semen yang dilakukan *washing*

Washing (-) : semen yang tidak dilakukan *washing*

Kontaminasi (+) : dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*

Kontaminasi (-) : tidak dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*

Uji statistik menunjukkan beberapa hasil, yaitu :

1. Didapatkan perbedaan pengaruh *washing* yang tidak bermakna pada variabel pH ($p=0,169$), viskositas ($p=0,688$), volume ($p=0,559$), semua tipe reaksi akrosom, yaitu tipe A ($p=0,337$), tipe B ($p=0,231$) tipe C ($p=0,343$) dan tipe D ($p=0,334$). Dengan hasil uji ini, maka dikatakan bahwa *washing* tidak terbukti mempengaruhi pH, viskositas, volume dan reaksi akrosom.
2. Didapatkan perbedaan pengaruh *washing* terhadap variabel konsentrasi spermatozoa per ml, bentuk akrosom yang normal, motilitas dan bentuk spermatozoa normal, yang bermakna ($p=0,0001$). Jadi dapat dikatakan bahwa *washing* terbukti mempengaruhi konsentrasi spermatozoa per ml, bentuk akrosom yang normal, motilitas dan bentuk spermatozoa.
3. Didapatkan perbedaan pengaruh kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* antara semen *washing* yang dikontaminasi dan yang tidak dikontaminasi terhadap variabel pH, viskositas, volume, konsentrasi per ml konsentrasi per ejakulat, motilitas normal, bentuk akrosom, normal semua tipe reaksi akrosom, yang bermakna ($p=0,0001$). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* terbukti mempengaruhi variabel pH, viskositas, volume, konsentrasi /ml motilitas normal, bentuk akrosom, semua tipe reaksi akrosom serta aglutinasi spermatozoa.
4. Didapatkan perbedaan pengaruh gabungan (*explained*) antara perlakuan *washing* yang dikontaminasi dengan *washing* yang tidak dikontaminasi dan antara sampel yang tidak dilakukan *washing* tetapi dikontaminasi dengan

yang tidak dilakukan *washing* juga tidak dikontaminasi. Hasil uji ini menunjukkan perbedaan yang bermakna untuk semua variabel ($p=0,0001$). Meskipun perlakuan *washing* saja tidak berpengaruh terhadap pH, viskositas, volume, semua tipe reaksi akrosom dan aglutinasi, tapi perlakuan *washing* dengan dikontaminasi *Chlamydia trachomatis* ternyata mempengaruhi semua variabel tersebut. Perlakuan gabungan ini memperkuat hasil uji kontaminasi yang menunjukkan adanya pengaruh terhadap semua variabel.

Dari hasil uji perlakuan gabungan *washing* dan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* dan uji perlakuan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*, maka dapat dinyatakan bahwa adanya *Chlamydia trachomatis* dalam semen berpengaruh terhadap perubahan kualitas plasma semen maupun spermatozoa.

Dari seluruh hasil uji statistik data variabel pada eksperimen *in vitro*, menunjukkan bahwa keberadaan spesies *Chlamydia trachomatis* dalam semen memberikan pengaruh sebagai berikut :

1. Secara langsung dapat merusak morfologis spermatozoa dengan cara melekat dan merusak membran spermatozoa maupun akrosom, sehingga terjadi perubahan reaksi akrosom, perubahan jumlah bentuk spermatozoa yang normal (tabel 5.3) dan menyebabkan aglutinasi spermatozoa (tabel 5.4).
2. Mempengaruhi kualitas plasma semen, dengan menurunkan pH, dan meningkatkan viskositas (tabel 5.6).

3. Mempengaruhi motilitas spermatozoa, sehingga terjadi penurunan jumlah motilitas spermatozoa normal (jumlah motilitas tipe a dan tipe b ; tabel 5.7).

Seluruh hasil uji tersebut diperkuat dengan uji pengaruh gabungan semen yang *washing* dan yang tidak *washing* yang masing-masing dapat perlakuan tidak dikontaminasi dan dikontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* (tabel 5.8). Hasil uji pengaruh gabungan menunjukkan bahwa *washing* dan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* berpengaruh terhadap pH, viskositas, volume, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, reaksi akrosom, motilitas dan morfologis spermatozoa.

Untuk membuktikan bahwa perubahan motilitas dan morfologis spermatozoa bukan disebabkan oleh pH dan viskositas plasma semen, maka dilakukan uji manova. Hasil uji seperti pada tabel 5.9.

Tabel 5.9. : Hasil analisis manova dari variabel penyerta (pH, viskositas, ASA IgG) terhadap variabel motilitas dan morfologis spermatozoa pada 32 sampel.

Uji multivariat dan Univariat			
Jenis uji	Nilai	Derajat kebebasan	Harga p
Pillais	0,07922	4,00	0,680 > 0,05
Hotellings	0,08290	4,00	0,708 > 0,05
Wilks	0,92216	4,00	0,694 > 0,05
Variabel	Harga F	Derajat kebebasan	Harga p
Motilitas normal	0,77299		0,471 > 0,05
Spermatozoa normal	0,71652		0,497 > 0,05

Keterangan : $\alpha = 0,05$

Pada penelitian ini uji multivariat jenis Hotellings. Hasil uji menunjukkan tidak didapatkan perbedaan pengaruh pH, viskositas dan ASA IgG yang

bermakna terhadap motilitas dan spermatozoa normal (morfologis spermatozoa), jadi perubahan motilitas dan morfologis spermatozoa oleh karena adanya perlakuan kontaminasi dengan EB *Chlamydia trachomatis*.

5.3. Hasil dan analisis data tahap penelitian *comparative cross sectional*

Tujuan tahap ini untuk membuktikan ada tidaknya antigen *Chlamydia trachomatis* pada uretra atau pada semen, ada tidaknya pengaruh IgA, IgG dan IgM total pada serum dan plasma semen terhadap kualitas semen, serta membuktikan ada tidaknya korelasi antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan paparan ASA IgG.

Untuk membuktikan bahwa pria tersebut tidak mempunyai kelainan hormon reproduksi dan tidak ada kelainan kelenjar aksesori, maka dilakukan pemeriksaan LH, FSH, testosteron dalam serum, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa dalam plasma semen. Hasil analisis disusun pada tabel 5.10. Selain itu juga dicantumkan harga normal yang ditentukan pada metode.

Tabel 5.10. Frekuensi harga rerata, simpang baku variabel petanda hormon reproduksi di dalam serum dan enzim di dalam plasma semen

Variabel petanda dalam serum dan Plasma semen	Frekwensi		Harga normal yang ditentukan pada metode yang digunakan
	Rerata	Simpang baku	
FSH	4,7474	1,5945	1,5-6,5 mIU/ml
LH	4,5386	1,5344	1,4-7,7 mIU/ml
Testosteron	453,2900	111,3500	270-1070 ng/dl
Alfa glukosidase	81,7031	34,4029	Minimal 50 m μ /ejakulat
Fosfatase	702,1176	87,3856	Minimal 1000 m μ /ml
Fruktosa	35,9945	20,7184	Minimal 13 mmol/ejakulat

Tabel 5.10 menunjukkan rerata hormon reproduksi di dalam serum dalam batas harga normal sesuai dengan metode yang digunakan, demikian pula rerata enzim dan fruktosa di plasma semen. Uji ini membuktikan kalau pria pasangan

fertil dan infertil tidak mempunyai kelainan hormon reproduksi dan kelainan kelenjar aksesori, hingga semennya dapat dipakai sebagai sampel penelitian.

Uji statistik yang digunakan pada tahap ini, tergantung pada sifat skala dan normalitas distribusi data yang ada.

Data yang diperoleh berasal dari pemeriksaan semen pria fertil sebanyak 40 orang dan pria infertil sebanyak 45 orang dengan uretritis asimtomatik. Kemudian diuji normalitas distribusi datanya (*Kolmogorov-Smirnov*) dan uji homogenitas (*independent samples test*), untuk menentukan uji statistik yang akan digunakan.

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh FSH, LH, testosteron, fosfatase, alfa glukosidase dan fruktosa terhadap kualitas semen, maka pada uji statistik diperhitungkan sebagai variabel penyerta atau kovarian.

Untuk menentukan diagnosis infeksi *Chlamydia trachomatis* menggunakan cara deteksi adanya antigen *chlamydia trachomatis* di uretra. Pada penelitian ini menggunakan metode IMx. Selain itu ditentukan batas positif - negatif dengan menggunakan harga rerata hasil pemeriksaan IMx pada 85 sampel. Setelah diuji, harga rerata IMx sebesar 1,325. Jadi apabila pemeriksaan IMx minimal mencapai harga 1,325 maka penderita dinyatakan infeksi *Chlamydia trachomatis* positif, tetapi apabila pemeriksaan IMx kurang dari 1,325 dinyatakan infeksi *Chlamydia trachomatis* negatif. Hasil pemeriksaan dengan IMx pada uji statistik diperhitungkan sebagai efek utama (*main effect*), maka sampel dibedakan menjadi kelompok infeksi *Chlamydia trachomatis*. dan tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Pada tahap ini uji statistik untuk membuktikan beberapa hal berikut :

1. Pengaruh variabel penyerta FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa, pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* sebagai efek utama serta pengaruh gabungan antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dan variabel penyerta terhadap kualitas semen.

Kualitas semen mencakup kualitas plasma semen yang meliputi pH, volume, viskositas, lekosit, ASA IgG, dan kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas bentuk spermatozoa normal, konsentrasi spermatozoa per ml, dan reaksi akrosom. Uji data dengan *analysis of variance* (lampiran 3.4 sampai 3.8).

Hasil uji dapat dilihat pada tabel 5.11 dan tabel 5.12.

Tabel 5.11. Hasil uji anova kelompok infeksi–tidak infeksi *Chlamydia trachomatis* dan pengaruh kovarian terhadap variabel plasma semen.

Variabel Plasma semen	Perlakuan	Analisis variansi		
		Derajat kebebasan	Harga F	Harga P
pH	1.Kovarian	6	1,119	0,359
	2.Efek utama	1	4,513	0,370
	3.Gabungan	7	1,215	0,305
Viskositas	1.Kovarian	6	0,486	0,817
	2.Efek utama	1	1,247	0,268
	3.Gabungan	7	0,765	0,618
Likuifaksi	1.Kovarian	6	0,361	0,901
	2.Efek utama	1	5,907	0,170
	3.Gabungan	7	1,172	0,328
Volume	1.Kovarian	6	2,179	0,054
	2.Efek utama	1	0,331	0,567
	3.Gabungan	7	2,076	0,056
Lekosit	1.Kovarian	6	2,881	0,094
	2.Efek utama	1	2,867	0,014
	3.Gabungan	7	4,734	0,0001
ASA IgG	1.Kovarian	6	0,744	0,744
	2.Efek utama	1	42,172	0,0001
	3.Gabungan	7	8,513	0,0001

Keterangan: $\alpha = 0,05$. Efek utama : infeksi *Chlamydia trachomatis*
Kovarian atau variabel penyerta terdiri dari :
FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa

Tabel 5.12. Hasil uji anova kelompok infeksi–tidak infeksi *Chlamydia trachomatis* dan pengaruh kovarian terhadap variabel spermatozoa

Variabel Plasma semen	Perlakuan	Analisis variansi		
		Derajat kebebasan	Harga F	Harga P
Konsentrasi Spermatozoa per ml	1.Kovarian	6	1.842	0.102
	2.Efek utama	1	0.835	0.364
	3.Gabungan	7	1.763	0.107
Konsentrasi Spermatozoa/ ejakulat	1.Kovarian	6	1.826	0.105
	2.Efek utama	1	0.549	0.461
	3.Gabungan	7	1.593	0.150
Motilitas spermatozoa normal	1.Kovarian	6	1.304	0.266
	2.Efek utama	1	3.865	0.053
	3.Gabungan	7	2.630	0.017
Akrosom normal	1.Kovarian	6	2.406	0.035
	2.Efek utama	1	4.475	0.038
	3.Gabungan	7	3.637	0.002
Reaksiakrosom A	1.Kovarian	6	2,276	0,045
	2.Efek utama	1	1,317	0,255
	3.Gabungan	7	2,220	0,041
Reaksi akrosom B	1.Kovarian	6	0,449	0,843
	2.Efek utama	1	0,870	0,354
	3.Gabungan	7	0,485	0,843
Reaksi akrosom C	1.Kovarian	6	2,276	0,058
	2.Efek utama	1	1,1317	0,190
	3.Gabungan	7	2,220	0,020
Reaksi akrosom D	1.Kovarian	6	0,449	0,186
	2.Efek utama	1	0,870	0,954
	3.Gabungan	7	0,485	0,247
Spermatozoa normal	1.Kovarian	6	2,644	0,022
	2.Efek utama	1	1,602	0,048
	3.Gabungan	7	4,037	0,001

Keterangan: $\alpha = 0,05$. Efek utama : infeksi *Chlamydia trachomatis*

Kovarian atau variabel penyerta terdiri dari :

FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa.

Uji statistik menunjukkan bahwa :

- a. Didapatkan perbedaan pengaruh FSH, LH, testosteron, , alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa yang tidak bermakna antara kelompok terinfeksi dan kelompok tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap semua variabel semen. Jadi pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa tidak berpengaruh terhadap kualitas semen.

- b. Didapatkan perbedaan pengaruh efek utama yang bermakna antara yang terinfeksi dan yang tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis* pada variabel leukosit ($p=0,014$), ASA IgG ($p=0,0001$) dan jumlah spermatozoa normal ($p=0,048$).
- c. Didapatkan perbedaan pengaruh efek utama antara kelompok terinfeksi dan tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis*, yang tidak bermakna terhadap variabel pH, viskositas, likuifaksi, volume, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per, motilitas spermatozoa normal, semua tipe reaksi akrosom.
- d. Didapatkan perbedaan pengaruh gabungan FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa dan efek utama yang bermakna antara kelompok terinfeksi dan tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis*, pada variabel leukosit dan ASA IgG ($p=0,0001$), akrosom normal ($p=0,002$), motilitas spermatozoa normal ($p=0,017$), reaksi akrosom A ($p=0,041$) dan reaksi akrosom C ($p=0,020$) serta jumlah bentuk spermatozoa normal ($p=0,048$).

Dengan hasil uji pengaruh gabungan ini, maka dapat dikatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi keberadaan leukosit dan ASA IgG dalam semen, mempengaruhi motilitas dan morfologis spermatozoa serta reaksi akrosom.

- e. Didapatkan perbedaan pengaruh efek utama yang tidak bermakna antara kelompok infeksi dan tidak infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat,

motilitas spermatozoa normal, reaksi akrosom A, reaksi akrosom B, reaksi akrosom C dan reaksi akrosom D.

Dari hasil uji *anlysis of variance* pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa hormon FSH, LH, dan testosteron, enzim alfa glukosidase dan fosfatase serta fruktosa tidak berpengaruh terhadap pH, viskositas, likuifaksi, volume, lekosit dan ASA IgG. Selain itu dapat pula dikatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* tidak mempengaruhi pH, viskositas, likuifaksi, volume, konsentrasi per ml, konsentrasi per ejakulat, reaksi akrosom B dan D, namun infeksi *Chlamydia trachomatis* berpengaruh terhadap lekosit, motilitas spermatozoa normal, akrosom normal, jumlah spermatozoa normal, reaksi akrosom A dan C, dan ASA IgG. Pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis*, diperkuat dengan uji pengaruh gabungan FSH, LH, dan testosteron, enzim alfa glukosidase dan fosfatase serta fruktosa dan efek utama, dengan hasil yang dapat dikatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* tidak mempengaruhi pH, viskositas, volume, konsentrasi spermatozoa per ml dan konsentrasi spermatozoa per ejakulat, tetapi berpengaruh pada lekosit, ASA IgG, motilitas dan morfologis spermatozoa serta reaksi akrosom.

2. Pengaruh faktor imunologis IgA total, IgG total, IgM total di dalam serum dan semen, termasuk ASA IgG dan pengaruh gabungan infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan faktor imunologis.

Data yang didapat berskala interval, maka untuk membedakan pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* dan pengaruh gabungan infeksi *Chlamydia*

trachomatis dengan IgA, IgG dan IgM total, ASA IgG digunakan *analysis of Variance* (lampiran 3.9 -3.10). Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 5.13.

Tabel 5.13. Hasil uji anova variabel dalam semen dan serum pada infeksi *Chlamydia trachomatis* dan gabungan antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan variabel dalam semen dan serum.

Lokasi	Variabel	Sumber Variasi	Analisis variansi		
			Derajat kebebasan	Harga F	Harga p
Semen	ASA IgG	Efek utama	1	57,860	0,0001
		Gabungan	1	57,860	0,0001
	IgA total	Efek utama	1	170,303	0,0001
		Gabungan	1	170,303	0,0001
	IgG total	Efek utama	1	3,605	0,0001
		Gabungan	1	3,605	0,0001
	IgM total	Efek utama	1	17,938	0,0001
		Gabungan	1	17,938	0,0001
Serum	IgA total	Efek utama	1	54,079	0,0001
		Gabungan	1	54,079	0,0001
	IgG total	Efek utama	1	38,492	0,0001
		Gabungan	1	38,492	0,0001
	IgM total	Efek utama	1	18,806	0,0001
		Gabungan	1	18,806	0,0001

Keterangan : $\alpha = 0,05$ Efek utama : infeksi *Chlamydia trachomatis*

Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok terinfeksi dan tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap variabel IgA total, IgG total, IgM total di semen dan serum serta ASA IgG di semen ($p=0,0001$).

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi titer IgA total, IgG total dan IgM total di dalam semen dan serum, serta berpengaruh terhadap ASA IgG di dalam semen.

3. Pengaruh titer IgA total, IgG total, IgM total di dalam serum maupun dalam semen serta ASA IgG dan pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap motilitas spermatozoa normal.

Data yang didapat berskala interval, maka dilakukan uji *analysis of variance*, untuk membuktikan ada tidaknya pengaruh IgA, IgG, dan IgM total, ASA IgG dan infeksi *Chlamydia trachomatis* (lampiran 3.11).

Tabel 5.14. Hasil uji anova pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* pengaruh variabel penyerta (kovarian) dan pengaruh gabungan terhadap motilitas spermatozoa.

Variabel Spermatozoa	Perlakuan	Analisis variansi		
		Derajat kebebasan	Harga F	Harga P
Motilitas spermatozoa normal	Kovarian :	7	2,359	0,031
	1. Serum :			
	IgA total	1	1,435	0,235
	IgG total	1	0,002	0,968
	IgM total	1	0,067	0,796
	2. plasma semen :			
	IgA total	1	2,664	0,107
	IgG total	1	1,048	0,309
	IgM total	1	1,424	0,236
	ASA	1	11,183	0,001
	Efek utama (infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i>)	1	45,218	0,637
	Gabungan (kovarian dan efek utama)	8	3,507	0,002

Keterangan : $\alpha = 0,05$. Kovarian : variabel penyerta IgA, IgG, IgM, ASA IgG.

Sebagai variabel penyerta pada uji statistik ini adalah titer faktor imunologis IgA total, IgG total IgM total dalam serum dan semen serta ASA IgG dalam semen.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa :

- Ditemukan pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* yang tidak bermakna terhadap motilitas spermatozoa normal ($p = 0,637$).
- Didapatkan pengaruh faktor imunologis IgA, IgG, IgM total dalam serum dan plasma semen yang tidak bermakna terhadap motilitas spermatozoa normal. Ditemukan pengaruh ASA IgG yang bermakna terhadap motilitas spermatozoa normal ($p = 0,001$).



- c. Didapatkan pengaruh gabungan IgA total, IgG total IgM total dalam serum dan semen serta ASA IgG dalam semen yang bermakna terhadap motilitas spermatozoa normal ($p= 0,031$).
- d. Ditemukan pengaruh gabungan antara faktor imunologis dalam semen maupun serum dan infeksi *Chlamydia trachomatis* yang bermakna terhadap motilitas spermatozoa normal ($p= 0,002$).

Dari hasil uji statistik tersebut dapat dikatakan bahwa pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, faktor imunologis IgA total, IgG total dan IgM total dalam semen dan serum tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa akan tetapi, ASA IgG dalam semen mempengaruhi motilitas spermatozoa. Selain itu gabungan seluruh faktor imunologis dalam semen maupun serum berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa ($p=0,031$). Hal ini diperkuat dengan uji gabungan antara seluruh faktor imunologis dalam semen dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* juga menunjukkan pengaruhnya terhadap motilitas spermatozoa normal ($p=0,002$).

4. Peningkatan titer faktor imunologis dalam serum maupun plasma semen pada penderita dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* positif.

Untuk mengetahui ada tidaknya peningkatan titer faktor imunologis dalam serum maupun semen pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* (positif) dan pada penderita tidak infeksi *Chlamydia trachomatis* (negatif), maka digunakan *t-test for independent samples* (lampiran 2.1). Hasil uji dapat dilihat pada tabel 5.15. dan tabel 5.16.

Tabel 5.15. Hasil uji harga rerata faktor imunologis dalam plasma semen penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* positif dan negatif.

Faktor imunologis di Semen	Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i>	Jumlah	H A R G A		
			Rerata	Simpang baku	Normal * batas maksimal
ASA IgG	-	79	4,890	8,060	< 40% per ejakulat
	+	6	32,630	16,550	
IgA total	-	79	12,953	1,168	12,8 mg/ ml
	+	6	52,483	28,801	
IgG total	-	79	86,330	26,420	65,0 mg/ ml
	+	6	98,670	22,200	
IgM total	-	79	7,554	0,875	7,4 mg/ml
	+	6	9,133	2,548	

Keterangan : * : Harga ketentuan metode/alat

Tabel 5.16. Hasil uji beda harga rerata faktor imunologis dalam serum penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* positif dan negatif.

Faktor imunologis Serum	Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i>	Jumlah	H A R G A		
			Rerata	Simpang baku	Normal * Ketentuan metode
IgA total	-	79	245,049	8,862	90 – 450 mg/dl
	+	6	514,950	54,909	
IgG total	-	79	1472,050	34,840	800 – 1700 mg/dl
	+	6	2283,330	149,530	
IgM total	-	79	132,580	7,308	60 – 280 mg/dl
	+	6	275,883	51,823	

Keterangan : * : Harga ketentuan metode/alat

Hasil uji pada tabel 5.15 menunjukkan bahwa setiap faktor imunologis di dalam semen yaitu titer ASA IgG, IgA total, IgG total, dan IgM total pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis*, dan lebih tinggi dari batas harga normal yang ditentukan pada metode dan alat yang digunakan.

Hasil uji pada tabel 5.16 menunjukkan bahwa setiap faktor imunologis di dalam serum yaitu titer IgA total, IgG total, dan IgM total pada penderita terinfeksi *Chlamydia trachomatis* lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak terinfeksi *Chlamydia trachomatis*, dan lebih tinggi dari batas harga normal yang

ditentukan pada metode dan alat yang digunakan.

Hasil uji pada penelitian ini, titer faktor imunologis di dalam semen dan serum lebih tinggi dari harga normal yang ditentukan pada metode, maka dapat dinyatakan bahwa meningkatnya titer IgA, IgG dan IgM total dalam semen dan serum dipengaruhi adanya infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Meskipun titer IgA total, IgG total, IgM total di dalam semen dan serum serta ASA IgG dalam semen pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* meningkat, tapi pada hasil uji *analysis of variance* (tabel 5.15) variabel penyerta yaitu IgA total, IgG total dan IgM total tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa normal, kecuali ASA IgG yang berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa normal ($p=0,0001$). Namun hasil uji pengaruh gabungan antara faktor imunologis dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*, menunjukkan adanya pengaruh IgA total, IgG total, IgM total, ASA IgG dan infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap motilitas spermatozoa normal ($p=0,002$). Jadi pada hasil uji statistik membuktikan bahwa perubahan motilitas spermatozoa lebih dipengaruhi oleh adanya ASA IgG.

5. Pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap aglutinasi spermatozoa.

Uji pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap proses aglutinasi di dalam semen perlu dibuktikan, mengingat aglutinasi spermatozoa dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa normal.

Nilai variabel aglutinasi ditentukan nilainya sesuai dengan banyak sedikitnya aglutinasi yang dijumpai dalam semen, penilaian dapat dilihat di halaman 107,

dan data yang di dapat berskala ordinal, sehingga uji statistik yang digunakan adalah *Mann-Whitney U test* (lampiran 1.3), dengan hasil pada tabel. 5.17.

Tabel 5.17. Hasil uji beda pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap variabel aglutinasi.

Variabel	Jumlah kasus	H a r g a (Mann-Whitney U test)			
		Rerata	Simpang baku	z	P
Aglutinasi spermatozoa	85	1,2235	0,5205	-4,4656	0,0001
Imx2 (Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> positif)	85	1,0706	0,2577		(< 0,05)

Keterangan : $\alpha = 0.05$

Hasil uji ini menunjukkan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi timbulnya aglutinasi spermatozoa ($p = 0,0001$).

Selain uji tersebut, juga dilakukan uji statistik untuk membuktikan ada tidaknya pengaruh pH dan viskositas terhadap perubahan motilitas dan morfologis spermatozoa, maka digunakan uji manova.

Tabel 5.18. Hasil analisis manova dari kovariat pH dan viskositas terhadap motilitas dan spermatozoa normal (morfologis spermatozoa)

Uji multivariat dan Univariat			
Jenis Uji	Nilai	Derajat kebebasan	Harga p
Pillais	0,14229	8,00	0,157
Hotellings	0,16036	8,00	0,147
Wilks	0,85991	8,00	0,151
Variabel	Harga F	Derajat kebebasan	Harga p
Motilitas normal	2,80940		0,310
Spermatozoa normal	1,32103		0,269

Pada penelitian ini jenis manova yang digunakan adalah Hotellings, dengan hasil yang menunjukkan tidak ada perbedaan pengaruh pH dan viskositas yang

bermakna terhadap motilitas dan spermatozoa normal. Jadi perubahan motilitas dan morfologis pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* bukan dipengaruhi oleh pH dan viskositas plasma semen.

6. Hubungan antara ASA IgG dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Data yang didapat berskala nominal, maka uji statistik menggunakan *contingency coefficient correlation test* (lampiran 2.2).

Tabel 5.19. Korelasi antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan ASA IgG

Variabel	Koefisien kontigensi	
	Harga c	Harga p.
Infeksi <i>Chlamydia trachomatis</i> - ASA IgG	0,62771	0,0001 (<0,05)

Keterangan : $\alpha = 0,05$

Hasil uji menunjukkan adanya korelasi antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan ASA IgG di dalam semen dengan $c = 0,62771$. Dengan ini, maka dapat dikatakan bahwa ada hubungan antara keberadaan ASA IgG di dalam semen dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* atau meningkatnya ASA IgG dalam semen berhubungan dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*.

7. Keberadaan *Chlamydia trachomatis* atau antigennya dalam semen.

Pada tahap ini juga dilakukan pemeriksaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen dengan membuat preparat hapusan metode *Giemsa*, tapi tidak dijumpai EB *Chlamydia trachomatis*. Juga dilakukan pemeriksaan antigen *Chlamydia trachomatis* dalam semen dengan metode IMx, ternyata semua sampel semen hasilnya negatif artinya tidak dijumpai antigen *Chlamydia trachomatis* dalam semen.

BAB 6

PEMBAHASAN

Infeksi pada traktus reproduksi pria merupakan salah satu faktor yang menyebabkan infertilitas. Menurut Khanna, *et al.* (1992), 10% infertilitas pada pria disebabkan oleh infeksi, meskipun angka ini relatif rendah tetapi merupakan urutan kedua setelah varikokel. Terjangkitnya infeksi pada traktus reproduksi pada umumnya melalui hubungan seks dengan pasangan yang mempunyai risiko tinggi terhadap STD.

Sebagian besar mikroorganisme penyebab STD adalah *Neisseria gonorrhoeae* dan *Chlamydia trachomatis* (Braveman, 1990 ; Megory, *et al.*, 1990 ; Wolff, *et al.*, 1991 ; Hinting, 1992). Infeksi pada traktus reproduksi pria yang disebabkan kedua mikroorganisme tersebut dapat menyebabkan infertil. Menurut Schmid (1996) *Chlamydia trachomatis* sebagai penyebab infertil dua kali lebih besar daripada *Neisseria gonorrhoeae*, oleh karena infeksi *Chlamydia trachomatis* tidak menunjukkan gejala yang spesifik tetapi hanya menimbulkan gejala uretritis asimtomatik.

Sebelum dilakukan penelitian ini, telah dilakukan penelitian awal yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas reagen maupun medium kultur, viabilitas alat dan waktu yang diperlukan untuk perlakuan eksperimen. Pada penelitian awal dilakukan pengeraman telur ayam budidaya jenis SPF sampai menetas dan inokulasi dengan spesimen endoservikal dari serviks wanita berisiko tinggi terhadap STD. Ternyata paling tepat dilakukan inokulasi saat

pengeraman mencapai hari ke 7, yang ditandai dengan adanya pergerakan embrio, pembuluh darah nampak menggelayung dari embrio ke arah *yolk sac*. Pengambilan hasil kultur pada hari ke 3 setelah inokulasi. Penambahan reagen untuk memisahkan spesies *Chlamydia trachomatis* dari *yolk sac* menggunakan CTM, sebab CTM tidak mengganggu kualitas semen. Waktu yang diperlukan untuk kontaminasi spesies *Chlamydia trachomatis* pada semen, ternyata 4 jam. Pada penelitian awal juga dilakukan pemeriksaan spesimen endoservikal, endouretral dan semen dengan IMx, untuk mengetahui keberadaan antigen *Chlamydia trachomatis*.

Dalam penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap penelitian yang bertujuan untuk mengetahui cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas plasma semen dan spermatozoa. Untuk itu maka dilakukan kultur *Chlamydia trachomatis* dan eksperimen *in vitro* serta melakukan analisis kualitas semen. Tujuan lain pada penelitian ini untuk mengetahui pengaruh faktor imunologis dalam semen penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* dan pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap kualitas semen pria pasangan fertil dan infertil dengan uretritis asimtomatik

6.1. Tahap kultur *Chlamydia trachomatis*

Tahap kultur dilakukan untuk mendapatkan spesies *Chlamydia trachomatis* yang kemudian digunakan pada penelitian eksperimental *in vitro*.

Kultur merupakan suatu metode yang sangat sensitif untuk mendiagnosis suatu infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme, termasuk infeksi *Chlamydia trachomatis*. Pada umumnya infeksi *Chlamydia trachomatis*

menunjukkan gejala uretritis asimtomatik, sehingga terapinya kurang tepat dengan akibat menjadi kronis, oleh karena itu diagnosis yang tepat bila dilakukan kultur. *Chlamydia* suatu mikroorganisme yang bersifat parasit obligat intraseluler (Byod, 1984 ; Broch dan Madiga, 1991), sehingga kultur yang dilakukan harus berada di dalam jaringan atau sel yang hidup (Schachter, 1985). Di negara barat kultur *Chlamydia* dilakukan pada *Mc Coy cells*, atau pada jaringan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas, namun jenis ayam yang digunakan tidak disebutkan (Bailey & Scott's, 1990 ; Isenberg, 1992, Ward, 1992 ; Meech, 1996). Atas dasar itu, maka penelitian ini menggunakan *yolk sac* dalam telur ayam bertunas, umur tujuh hari, dengan jenis ayam budidaya SPF.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari jaringan endoserviks. Sampel tersebut telah diperiksa oleh peneliti lain (tim gabungan Kanwil Depkes Kodya Surabaya, RSUD Dr. Soetomo dan FK Unair) dengan metode *Elisa* dan dinyatakan *Chlamydia trachomatis* positif. Selain itu penderita telah mendapat terapi, kemudian ditindak lanjuti dengan pemeriksaan ulang dan bagi yang masih menderita infeksi *Chlamydia trachomatis* diberi terapi lagi. Pemeriksaan ulang dilakukan setiap dua bulan dan telah dilakukan sebanyak tujuh kali, ternyata masih ada yang dinyatakan *Chlamydia trachomatis* positif. Hasil laporan penelitian tersebut menunjukkan penurunan jumlah penderita setelah di terapi (fase I dari 623 sampel yang dinyatakan positif 112 = 18%, fase berikutnya ada penurunan dan pada fase ke VII menjadi 11,4%). Dari hasil ini dikatakan bahwa prevalensi infeksi *Chlamydia trachomatis*, pada wanita berisiko tinggi terhadap STD sekitar 18%, tapi setelah

mendapat terapi (fase I-VII) mengalami penurunan 10-15%.

Pemeriksaan pada sampel penelitian ini dengan menggunakan metode *Giemsa*. Dari 25 sampel yang menunjukkan *Chlamydia trachomatis* positif dengan metode *Elisa*, ternyata 16 sampel menunjukkan *Giemsa* positif yang kemudian dilakukan kultur. Untuk menentukan spesies *Chlamydia* dilakukan pemeriksaan dengan metode *iodine* yang lebih spesifik untuk spesies *Chlamydia trachomatis* (Broch, *et al.*, 1991).

Hasil kultur yang menunjukkan *Giemsa* positif sebanyak 12, dan dari 12 ini yang menunjukkan *iodine* positif sebanyak 10. Diagnosis infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan dilakukan kultur lebih sensitif dibandingkan dengan metode *Giemsa*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa prevalensi infeksi *Chlamydia trachomatis* pada wanita berisiko tinggi terhadap STD di Putat Jaya cukup tinggi (62,5%), padahal spesimen yang digunakan pada penelitian ini sudah mendapat terapi. Dua sampel yang tidak tumbuh, disebabkan telur bertunas retak dan membusuk. Keretakan telur bertunas kemungkinan disebabkan kesalahan pada saat melubangi telur atau terjadi benturan saat meletakkan telur di dalam inkubator. Selain itu kerusakan telur kemungkinan disebabkan kesalahan saat menyuntikan spesimen yang tidak masuk jaringan *yolk sac* akan tetapi masuk ke dalam amnion. Dua sampel yang tumbuh dengan *Giemsa* positif tetapi *iodine* negatif dan dua sampel dengan *Giemsa* negatif tetap dilakukan kultur ulang, ternyata ke empat sampel tersebut tetap menunjukkan *Giemsa* positif tapi *iodine* negatif. Pemeriksaan dengan *Giemsa* tidak spesifik untuk spesies *Chlamydia trachomatis*, sedangkan pemeriksaan

dengan *iodine* lebih spesifik untuk spesies *Chlamydia trachomatis* (Broch dan Madiga, 1991). Jadi empat sampel hasil kultur yang menunjukkan *iodine* negatif bukan spesies *Chlamydia trachomatis*.

Yolk sac merupakan jaringan yang berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi embrio ayam, oleh karena itu *Chlamydia* yang bersifat parasit obligat intraseluler dapat berkembang biak di dalam sel-sel jaringan *yolk sac*. Dari hasil kultur tersebut, terbukti bahwa *Chlamydia trachomatis* dapat berkembang biak pada jaringan yang hidup, yaitu *yolk sac* dalam telur ayam bertunas jenis SPF (lampiran gambar 4).

Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan *serotype* spesies *Chlamydia trachomatis*. *Serotype* ditentukan oleh struktur antigen yang memberikan ciri khas dalam patogenesis *Chlamydia trachomatis* dan menentukan lokalisasinya. Untuk *serotype* D dan K menyebabkan uretritis asimtomatik dan lokalisasi infeksi pada traktus genitalia (penyebab STD), *serotype* L1, L2 dan L3 menyebabkan *lymphogranuloma venerum* yang lokalisasinya pada kelenjar limfe traktus genitalia dan *serotype* A, B, Ba, C menyebabkan konjungtivitis yang lokalisasinya di konjungtiva mata (Jawezt, *et al.*, 1980. ; Broch dan Madiga, 1991. ; Schachter, 1991). Jadi hasil penelitian tahap kultur ini adalah spesies *Chlamydia trachomatis*, dengan perkiraan *serotype* D atau K, yang selanjutnya akan digunakan pada tahap eksperimental *in vitro*.

6.2. Tahap eksperimental *in vitro*

Penelitian pada tahap ini dilakukan untuk membuktikan cara *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa serta kualitas plasma semen.

Hasil analisis 8 sampel semen, dalam batas harga normal, selain itu di dalam semen tidak didapatkan aglutinasi spermatozoa, lekosit, eritrosit dan ASA IgG negatif. Hasil ini sesuai dengan batas harga normal yang ditentukan WHO (1994), maka semen dapat digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

Perlakuan pertama dilakukan *washing* untuk mendapatkan spermatozoa yang bebas dari plasma semen.

Perlakuan kedua adalah mengkontaminasi semen yang tidak dilakukan *washing* dan semen yang telah dilakukan *washing* dengan spesies *Chlamydia trachomatis*. Jumlah EB *Chlamydia trachomatis* untuk kontaminasi sebanyak 250 yang dihitung pada preparat hapusan dengan metode *Giemsa*, oleh karena alat *nefelometer brown* tidak dapat dipakai mengukur konsentrasi EB *Chlamydia trachomatis*, bahkan sampai sekarang alat ukur konsentrasi EB *Chlamydia trachomatis* belum ada.

Hasil uji statistik menunjukkan adanya perubahan reaksi akrosom, tipe A, B, dan D, jumlah spermatozoa yang normal dan aglutinasi spermatozoa ($p=0,0001$) pada kelompok yang dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*. Dengan demikian telah terbukti bahwa pencemaran atau keberadaan EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen menyebabkan terjadinya perubahan morfologis spermatozoa. Hasil ini sesuai dengan penelitian Kohn, *et al.* (1998) yang melakukan penelitian *in vitro* pada semen yang dikontaminasi dengan *Escherchia coli* dan *Ureaplasma urealyticum*, ternyata pada pemeriksaan dengan *triple stain* menunjukkan perubahan reaksi akrosom dan pada pemeriksaan dengan *Giemsa* menunjukkan perubahan

morfologis spermatozoa. Jadi hasil penelitian Kohn, *et al.* (1998) dapat disimpulkan bahwa adanya mikroorganisme dalam semen dapat mempengaruhi reaksi akrosom dan morfologis spermatozoa. Demikian pula halnya dengan hasil penelitian ini bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen mempengaruhi reaksi akrosom dan morfologis spermatozoa.

Bentuk spermatozoa normal mempunyai bentuk kepala oval dengan 2/3 bagian tertutup akrosom, bagian leher dan ekor memanjang ramping, tidak dijumpai adanya perlekatan antar spermatozoa maupun perlekatan lain pada membran dan akrosom (Hafez dan Prasad, 1976).

Hasil pemeriksaan morfologis spermatozoa yang dikontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* ternyata sekitar 55% dari sampel menunjukkan peningkatan bentuk kepala *amorfo*, sedang bentuk kepala dan akrosom normal jumlahnya menurun. Bentuk kepala yang lain, ekor serta bagian leher tidak banyak menunjukkan perubahan.

Perbedaan perubahan bentuk akrosom normal dan reaksi akrosom disebabkan oleh karena adanya EB *Chlamydia trachomatis* yang melekat pada akrosom mengakibatkan akrosom rusak (lampiran gambar 2.4 pengecatan *Giemsa* ; lampiran gambar 2.1 dan 2.2 reaksi akrosom dengan *triple stain*). Didapatkan pula perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* di membran spermatozoa pada bagian kepala (lampiran gambar 2.4 pengecatan *Giemsa*), sehingga mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa.

Perubahan morfologis spermatozoa kemungkinan disebabkan oleh karena lapisan dinding sel *Chlamydia trachomatis* terdiri atas lipopolisakarida yang

dapat bersifat sebagai endotoksin. Dengan sifatnya sebagai endotoksin maka dapat menyebabkan kerusakan dinding sel inang. Selain itu dapat pula bersifat antigenik sehingga dapat merangsang pembentukan antibodi (Schachter, 1991). Jadi perlekatan *Chlamydia trachomatis* tersebut dapat menyebabkan kerusakan membran spermatozoa maupun akrosom sehingga menghancurkan struktur membran maupun struktur dinding kepala spermatozoa dan akrosom. Lapisan protein yang terdapat pada membran spermatozoa mempunyai peranan spesifik terhadap rangsangan eksternal (Hafez dan Prasad, 1976). Rangsangan eksternal dapat berupa rangsangan kimiawi, fisik maupun biologis. Adanya EB *Chlamydia trachomatis* yang bersifat sebagai endotoksin maka lapisan protein pada membran spermatozoa akan melakukan reaksi terhadap rangsangan ini. Reaksi terhadap rangsangan eksternal ini bergantung dari toksisitas rangsangan eksternal. Endotoksin ini mungkin sangat toksik, sehingga protein pada membran spermatozoa dihancurkan dengan akibat terjadi kerusakan struktur membran spermatozoa. Menurut Broch dan Madiga (1991), adanya perlekatan pada membran spermatozoa dapat menyebabkan perubahan integritas struktur membran maupun struktur dinding sel, sehingga terjadi pelepasan asam nuklei yang menyebabkan perubahan morfologis spermatozoa.

Selain itu pada kelompok yang dilakuakn kontaminasi dengan EB *Chlamydia trachomatis* menunjukkan adanya aglutinasi antara bagian kepala dengan kepala (lampiran gambar 1.3 sedian basah), keadaan ini kemungkinan disebabkan adanya ikatan antar EB *Chlamydia trachomatis*.

Meskipun EB *Chlamydia trachomatis* melekat pada membran dan akrosom

tetapi tidak didapatkan EB *Chlamydia trachomatis* yang masuk ke dalam spermatozoa. Hal ini disebabkan oleh karena kepala spermatozoa sebagian besar diisi oleh inti, sehingga relatif tidak ada sitoplasma pada bagian ini atau sangat sedikit sitoplasmanya (Hafez dan Prasad, 1976), padahal *Chlamydia trachomatis* dapat hidup dan berkembang dalam badan sitoplasma (*inclusion bodies*) sel hospes dan diselaputi oleh membran sel hospes (Idajadi, 1997).

Atas dasar hasil uji statistik morfologis spermatozoa, maka hipotesis yang menyatakan bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen menyebabkan perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* pada akrosom sehingga menimbulkan perubahan reaksi akrosom adalah diterima. Demikian pula dengan hipotesis yang menyatakan bahwa perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* pada membran spermatozoa menyebabkan kerusakan membran spermatozoa hingga menimbulkan kerusakan morfologis spermatozoa dapat diterima juga.

Pemeriksaan motilitas spermatozoa pada setiap kelompok sebelum *wahing* dan sesudah *washing* yang tidak dilakukan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* menunjukkan adanya perubahan, akan tetapi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0,168$). Hal ini disebabkan pada perhitungan statistik interval simpang baku kelompok sesudah *washing* sangat besar, sedangkan simpang baku kelompok sebelum *washing* kecil, meskipun rerata motilitas spermatozoa pada setiap kelompok menunjukkan perbedaan yang sangat besar, tetapi hasil yang didapat tidak bermakna. Pada semen kelompok sebelum *washing* dengan sesudah *washing* yang dikontaminasi, me-

menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,0001$) pada motilitas spermatozoa tipe a, b, c, d dan motilitas normal. Hasil uji tersebut diperkuat dengan hasil uji pengaruh gabungan perlakuan *washing* dan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* terhadap motilitas spermatozoa normal, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,0001$). Jadi dapat dikatakan bahwa perlakuan pencemaran semen dengan EB *Chlamydia trachomatis* dapat mengakibatkan gangguan pada motilitas spermatozoa.

Gangguan motilitas spermatozoa ini disebabkan adanya perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* pada akrosom, membran spermatozoa, dan aglutinasi spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Hafez dan Prasad (1976) yang menyatakan bahwa adanya benda asing yang melekat pada membran spermatozoa dan aglutinasi spermatozoa dapat mengganggu motilitas spermatozoa. Adanya EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen, berarti terjadi pencemaran semen, yang mengakibatkan motilitas spermatozoa terganggu. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wibowo (1989) adanya mikroorganisme patogen di dalam semen menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa. Hasil penelitian *in vitro* ini sesuai pula dengan penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Huwe, *et al.*, (1998) yang melakukan percobaan mengkontaminasi semen yang telah dilakukan *swim up* dengan mikroorganisme *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* dan *Staphylococcus saprophyticus*, ternyata menunjukkan motilitas spermatozoa yang menurun. Hal yang sama juga dilakukan oleh Kohn, *et al.* (1998), tapi menggunakan semen yang dikontaminasi dengan *Eschechia coli* dan

Ureaplasma urealyticum, ternyata membuktikan adanya gangguan pada motilitas spermatozoa. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa keberadaan mikroorganisme dalam semen maupun semen yang telah dilakukan *swim up* dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Pergerakan spermatozoa disebabkan adanya geseran mikrotubul dari letaknya dan geseran ini membutuhkan energi sehingga menggerakkan ekor dan mendorong kepala spermatozoa (Amelar, *et al.*, 1980). Menurut Hafez dan Prasad (1976) secara umum membran spermatozoa mempunyai fungsi sebagai media transpor semua zat yang dibutuhkan spermatozoa. Menurut Zaneveld (1985), membran spermatozoa khususnya bagian ekor mempunyai fungsi untuk mendapatkan substrat yang dibutuhkan sebagai sumber energi dan berfungsi untuk meng-hantarkan gelombang gerakan. Dengan adanya perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* pada membran spermatozoa yang menyebabkan kerusakan membran, sehingga menimbulkan gangguan transpor zat yang dibutuhkan sebagai sumber energi. Energi tersebut dibutuhkan dalam pergerakan spermatozoa, sehingga adanya gangguan sumber energi akan mengakibatkan gangguan geseran mikrotubul yang menyebabkan pergerakan spermatozoa terganggu. Kalau membran bagian ekor tidak mengalami kerusakan, maka akan ada pergeseran mikrotubul, akan tetapi membran spermatozoa dibagian yang rusak tidak mampu menghantarkan gelombang pergerakan, sehingga terjadi gangguan pergerakan spermatozoa.

Berdasarkan hasil uji statistik yang membuktikan bahwa adanya aglutinasi spermatozoa dan terjadi penurunan motilitas spermatozoa pada semen yang di-

menyatakan bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* di dalam semen menyebabkan aglutinasi spermatozoa dan menurunkan motilitas spermatozoa adalah diterima.

Hasil uji antara kelompok sebelum *washing* dengan sesudah *washing* yang tidak dikontaminasi, ternyata menunjukkan perbedaan konsentrasi spermatozoa per ml yang bermakna ($p=0,0001$). Hal ini dimungkinkan oleh karena perlakuan *washing* bertujuan untuk mendapatkan bentuk dan motilitas spermatozoa yang baik di dalam medium *Earle's*, sedang bentuk dan motilitas spermatozoa yang tidak atau kurang baik akan terpisahkan dan mengendap dalam plasma semen. Dengan perlakuan *washing* ini konsentrasi spermatozoa normal per ml maupun konsentrsai spermatozoa per ejakulat akan berkurang sekitar 30-50% dari jumlah awal, sedang motilitas spermatozoa tipe a dan tipe b lebih banyak (sekitar 80-90%) dari motilitas spermatozoa tipe a dan tipe b sebelum dilakukan *washing*. Uji statistik juga dilakukan pada kelompok yang dilakukan kontaminasi dan tidak dilakukan kontaminasi, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna pada konsentrasi spermatozoa ($p=0,0001$) Uji ini membuktikan bahwa perlakuan kontaminasi saja dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa, dan diperkuat dengan hasil uji gabungan perlakuan *washing* dan dikontaminasi.

Menurunnya konsentrasi spermatozoa disebabkan adanya EB *Chlamydia trachomatis* yang melekat pada membran spermatozoa. Lipopolisakarida pada dinding *Chlamydia trachomatis* bersifat sebagai endotoksin, maka dapat merusak morfologis spermatozoa. Kerusakan ini kemungkinan menyebabkan spermatozoa tidak utuh lagi atau spermatozoa hancur, sehingga sewaktu

dilakukan pemeriksaan jumlah spermatozoa yang dihitung hanya spermatozoa yang utuh meskipun bentuknya tidak normal.

Didapatkan perbedaan yang bermakna pada variabel pH, viskositas dan volume ($p=0,0001$) antara kelompok sebelum *washing* dan sesudah *washing* yang dilakukan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*. Hasil uji tersebut diperkuat dengan hasil uji pengaruh gabungan perlakuan *washing* dan kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna pula. Jadi hasil uji ini membuktikan bahwa kontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi perubahan pH, viskositas dan volume.

Adanya *Chlamydia trachomatis* dalam semen mempengaruhi perubahan pH, viskositas dan volume, oleh karena *Chlamydia trachomatis* yang melekat pada membran spermatozoa melakukan metabolisme dengan menggunakan zat yang ada. Hasil metabolisme ini mencemari semen, dengan akibat pH menjadi asam. Meningkatnya viskositas disebabkan oleh karena adanya perlakuan pencemaran dengan *Chlamydia trachomatis* di dalam sampel percobaan Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wibowo (1989) pada manusia, yang menyatakan bahwa adanya mikroorganisme di dalam semen dapat menurunkan kualitas semen. Selain itu hasil penelitian ini sesuai pula dengan penelitian yang dilakukan oleh Cooper (1993) pada *murine* yang diinfeksi dengan *Chlamydia trachomatis*, ternyata pada semen didapatkan perubahan pH, peningkatan viskositas, penurunan volume, motilitas dan konsentrasi spermatozoa serta dijumpai IgG dan IgA yang meningkat.

Berdasarkan hasil uji statistik yang menunjukkan perbedaan variabel pH, viskositas dan volume antara kelompok sebelum *washing* dan sesudah *washing* yang dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*, maka hipotesis yang menyatakan keberadaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen menyebabkan perubahan pH dan meningkatkan viskositas adalah diterima.

Tahap eksperimental *in vitro* dalam penelitian ini, merupakan suatu penelitian dengan memberikan perlakuan *washing* dan kontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis* pada setiap sampel. Hasil uji statistik data variabel sebelum *washing* dan sesudah *washing* yang dikontaminasi dengan spesies *Chlamydia trachomatis*, ternyata menunjukkan perbedaan yang bermakna untuk pH, viskositas, motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa dan morfologis spermatozoa. Hasil eksperimental *in vitro* membuktikan bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* dalam semen, mempengaruhi kualitas spermatozoa dengan melekat dan merusak membran spermatozoa maupun akrosom sehingga menyebabkan kerusakan morfologis, mengaglutinasi spermatozoa, menurunkan motilitas spermatozoa dan menurunkan konsentrasi spermatozoa. Selain itu pada penelitian eksperimen *in vitro* juga terbukti bahwa keberadaan *Chlamydia trachomatis* menyebabkan perubahan pH menjadi lebih asam dan meningkatkan viskositas.

Dengan terbuktinya pengaruh keberadaan *Chlamydia trachomatis* di dalam semen terhadap kualitas semen pada eksperimen *in vitro*, maka perlu diketahui pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap kualitas semen dan

pengaruh faktor imunologis yang terbentuk pada penderita dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap kualitas semen.

Penelitian pada manusia perlu dilakukan oleh karena ada perbedaan reaksi terhadap keberadaan *Chlamydia trachomatis*. Pada eksperimen *in vitro* keberadaan *Chlamydia trachomatis* tidak menimbulkan reaksi imunologis, sedangkan pada manusia secara umum apabila dijumpai mikroorganisme patogen maka akan merangsang mekanisme kekebalan tubuh hingga terbentuk antibodi terhadap mikroorganisme tersebut (Male dan Roit, 1993). Demikian pula dengan adanya *Chlamydia trachomatis* di saluran reproduksi tepatnya di uretra akan merangsang sistem imun sehingga terbentuk faktor imunologis, oleh karena itu kemudian dilakukan penelitian pada manusia.

6.3. Tahap *Comparative cross sectional study*

Penelitian pada tahap ini mempunyai tujuan untuk mengetahui kualitas semen pada pria pasangan infertil dengan uretritis asimtomatik, sedang sebagai pembanding adalah pria pasangan fertil dengan uretritis asimtomatik. Selain uretritis asimtomatik, kriteria lain yang ditentukan pada sampel penelitian ini adalah tidak didapatkan kelainan anatomi traktus reproduksi, kelainan fungsi kelenjar aksesori, kelainan hormon reproduksi dan tidak didapatkan mikroorganisme patogen di dalam semen. Dalam anamnesa semua sampel mengatakan bahwa keluhan uretritis asimtomatik ini terjadi berulang kali, rerata antara 3-4 kali dan mereka telah mendapat terapi antibiotika.

Hasil pemeriksaan fisik pada sampel, ternyata tidak didapatkan kelainan

anatomi, yang meliputi volume testis dalam batas normal, tidak didapatkan pembesaran epididimis dan tidak didapatkan varikokel.

Pada kultur semen di dalam medium agar, tidak didapatkan mikroorganisme yang mencemari semen, misalnya *Staphylococcus*, *Streptococcus* maupun *Mycoplasma*.

Untuk mengetahui ada tidaknya kelainan sistem hormon reproduksi dan kelainan kelenjar aksesori, maka dilakukan pemeriksaan, yang meliputi konsentrasi FSH, LH, testosteron di dalam serum, konsentrasi enzim alfa glukosidase dan fosfatase serta fruktosa dalam semen.

Hasil pemeriksaan laboratoris menunjukkan bahwa FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase dan fosfatase serta fruktosa dalam batas normal, jadi dapat dinyatakan bahwa sampel tidak mempunyai kelainan sistem hormon reproduksi dan tidak ada kelainan pada kelenjar aksesori.

Untuk menentukan keberadaan *Chlamydia trachomatis* sebagai penyebab uretritis asimtomatik dilakukan pemeriksaan *swab* endouretral dengan menggunakan Imx dan pemeriksaan mikroskopis dengan metode *Giemsa*. Metode ini berfungsi untuk mendeteksi antigen *Chlamydia trachomatis* dalam spesimen yang berasal dari *swab* endouretral. Data yang didapat diuji statistik untuk menentukan rerata IMx, ternyata dinyatakan infeksi *Chlamydia trachomatis* positif apabila nilai yang didapat minimal 1,325. Sebenarnya nilai yang ditentukan pada alat untuk menyatakan *Chlamydia trachomatis* positif adalah 1,5 namun pada penelitian ini ditentukan dari rerata hasil pemeriksaan IMx,

oleh karena pada pemeriksaan dijumpai ada beberapa sampel yang menunjukkan hasil *Giemsa* positif (lampiran gambar 3) tetapi IMx negatif.

Dari 85 sampel yang terdiri atas 40 sampel pria pasangan fertil, ternyata tidak dijumpai adanya *Chlamydia trachomatis* dan 45 sampel pria pasangan infertil, yang *Chlamydia trachomatis* positif sebanyak enam orang (13,3%).

Atas dasar hasil pemeriksaan IMx, maka sampel dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu kelompok infeksi dan kelompok tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*, yang diperhitungkan sebagai efek utama.

Variabel penyerta dalam penelitian ini adalah hormon reproduksi yang meliputi FSH, LH dan testosteron serta enzim dalam semen yang meliputi alfa glukosidase dan fosfatase serta fruktosa. Variabel penyerta ini penting diperhitungkan pengaruhnya, mengingat kemungkinan dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa dan plasma semen.

Data hasil analisis semen setelah diuji ternyata tidak menunjukkan perbedaan pengaruh FSH, LH dan testosteron, alfa glukosidase dan fosfatase serta fruktosa terhadap pH, viskositas, likuifaksi, volume, lekosit, ASA, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, motilitas spermatozoa normal pada kelompok infeksi dan tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*. Jadi hasil uji tersebut, membuktikan bahwa pada penelitian ini FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase dan fruktosa tidak berpengaruh terhadap pH, viskositas, likuifaksi, volume, lekosit, ASA IgG, konsentrasi dan motilitas spermatozoa. Keadaan ini disebabkan oleh karena penderita uretritis asimtomatik pada penelitian ini tidak mempunyai kelainan

hormon reproduksi dan tidak ada kelainan pada kelenjar aksesori. Hal tersebut sesuai dengan teori hormon reproduksi, yang menjelaskan peranan hormon reproduksi pada testis tepatnya di jaringan intra dan ekstra tubulus seminiferus testis serta pada kelenjar aksesori dalam proses spermatogenesis (Burger, *et al.*, 1976 ; Veldhuis, 1991), jadi hormon reproduksi tidak mempengaruhi pH, viskositas, likuifaksi, lekosit dan ASA IgG.

Tidak adanya perbedaan yang bermakna pada variabel lekosit, disebabkan oleh karena terbentuknya lekosit bukan dipengaruhi hormon reproduksi maupun enzim petanda kelenjar aksesori, tapi lekosit terbentuk apabila tubuh terkontaminasi mikroorganisme patogen (Male dan Roit, 1993).

Demikian pula halnya dengan ASA IgG yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna, oleh karena terbentuknya ASA bukan dipengaruhi oleh hormon reproduksi maupun enzim petanda kelenjar aksesori, tapi disebabkan adanya reaksi antara spermatozoa dengan antibodi antisperma sebagai akibat reaksi autoimun (Tjokronegoro, 1978 ; Mandelbaum, *et al.*, 1987).

Pada penelitian ini terbukti bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap kualitas semen. Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna, untuk variabel bentuk akrosom normal ($p=0,038$), bentuk spermatozoa normal ($p=0,048$), ASA IgG ($p=0,0001$) dan lekosit ($p=0,014$) antara penderita infeksi dan tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*. Selain itu didapatkan pula perbedaan yang tidak bermakna pada variabel motilitas normal, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, semua tipe reaksi akrosom, ph, viskositas, likuifaksi dan volume.

Berdasarkan hasil analisis data ini, maka dapat dibuktikan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa yang meliputi bentuk spermatozoa normal, juga mempengaruhi pembentukan ASA IgG dan lekosit. Selain itu hasil uji statistik juga membuktikan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* tidak berpengaruh terhadap variabel pH, viskositas, likuifaksi, volume, semua tipe reaksi akrosom, konsentrasi spermatozoa per ml dan konsentrasi spermatozoa per ejakulat. Keadaan ini disebabkan oleh karena pada pemeriksaan semen dengan IMx tidak dijumpai antigen *Chlamydia trachomatis* dan pada pemeriksaan *Giemsa* tidak didapatkan EB *Chlamydia trachomatis*. Dengan demikian maka di dalam semen tidak dijumpai hasil metabolisme dan fraksi antigen yang bersifat toksik, sehingga pH, viskositas dan likuifaksi tidak terpengaruh dengan adanya infeksi *Chlamydia trachomatis*. Selain itu pada penelitian ini terbukti tidak ada kelainan kelenjar aksesori dan pada pemeriksaan tidak dijumpai kelainan anatomis traktus reproduksi, maka konsentrasi spermatozoa tidak terpengaruh dengan adanya infeksi *Chlamydia trachomatis*. Dengan tidak adanya pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap motilitas spermatozoa, disebabkan oleh karena pada pemeriksaan semen tidak didapatkan antigen maupun EB *Chlamydia trachomatis*, jadi semen tidak tercemari oleh *Chlamydia trachomatis*. Terjadinya gangguan pada motilitas spermatozoa, bila di dalam semen dijumpai mikroorganisme patogen, ASA maupun lekospermia, atau ada aglutinasi spermatozoa, adanya mikroorganisme yang melekat pada spermatozoa. Untuk itu, maka dilakukan uji

statistik yang memperkuat pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap kualitas semen.

Untuk memperkuat hasil uji pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis*, pengaruh hormon reproduksi dan enzim petanda kelenjar aksesori, maka dilakukan uji statistik gabungan pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* dan pengaruh FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase serta fruktosa terhadap kualitas semen. Hasil uji menunjukkan perbedaan yang bermakna pada variabel motilitas normal ($p=0,017$), akrosom normal ($p=0,002$), spermatozoa normal ($0,001$), reaksi akrosom tipe A ($p=0,041$) dan tipe C ($p=0,020$), ASA IgG ($p=0,0001$) dan lekosit ($p=0,0001$). Tapi didapatkan hasil yang tidak bermakna pada pH, viskositas, likuifaksi, volume, konsentrasi spermatozoa per ml, konsentrasi spermatozoa per ejakulat, reaksi akrosom. Berdasarkan hasil uji pengaruh gabungan antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase serta fruktosa dapat dibuktikan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi kualitas spermatozoa khususnya pada bentuk spermatozoa normal, motilitas spermatozoa dan reaksi akrosom. Selain itu terbukti bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi keberadaan lekosit dan ASA IgG dalam semen, tapi tidak mempengaruhi konsentrasi spermatozoa dan pH dan viskositas.

Hasil uji tersebut, sesuai dengan hasil penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa infeksi pada traktus reproduksi pria maupun wanita mempengaruhi fertilitas, seperti penelitian yang dilakukan oleh Friberg (1990)

pada pasangan dengan uretritis yang tidak spesifik, ternyata dapat menyebabkan infertil.

Khusus pada infeksi *Chlamydia trachomatis*, beberapa peneliti membuktikan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* menyebabkan gangguan kualitas spermatozoa (Wolff, *et al.*, 1990 dan Witkin, *et al.*, 1991). Sotfler, *et al.* (1990) melakukan penelitian pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, ternyata menyebabkan gangguan fungsi kelenjar aksesori yang mengakibatkan gangguan kualitas spermatozoa dan menimbulkan reaksi autoimun.

Hasil uji statistik pada penelitian ini, juga sesuai dengan pendapat Radouani, *et al.* (1996) yang membuktikan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* pada traktus genitalia menyebabkan kualitas spermatozoa tidak normal, bahkan 11% dari 87 sampel ditemukan adanya ASA dalam semen, terutama pada penderita azoospermia. Menurut beberapa peneliti (Brunner, 1983 ; Bowie, 1984; Bruce dan Reid, 1989 ; Faried dan Hargreave, 1994) dalam Wolff (1998) membuktikan bahwa *Chlamydia trachomatis* dan *Ureaplasma urealyticum* adalah mikroorganisme yang paling banyak menyebabkan uretritis asimtomatik pada pria dan dapat menyebabkan lekospermia. Pada tahun 1998, Wolff melakukan penelitian pada penderita infeksi traktus genitalia pria, ternyata terbukti bahwa lekosit dalam semen meningkat. Selain itu Wolff juga membuktikan adanya lekospermia, pada penderita uretritis asimtomatik oleh karena *Chlamydia trachomatis* dan *Ureaplasma urealyticum*, namun pada penelitiannya tidak dilakukan analisis semen.

Penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* dan *Ureaplasma urealyticum*, ternyata 30% dari sampel penelitian menunjukkan lekospermia dan 13% diantaranya dengan prostatitis kronis yang menyebabkan gangguan fungsi kelenjar prostat dan mempengaruhi kualitas plasma semen (Ludwig, *et al.*, 1998). Pendapat Wolff dan Ludwig diperkuat dengan penelitian Menkveld dan Kruger (1998) yang membuktikan adanya perubahan morfologis spermatozoa pada infeksi urogenital dengan lekospermia.

Jadi hasil uji pengaruh gabungan infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan FSH, LH, testosteron, alfa glukosidase, fosfatase serta fruktosa membuktikan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* pada traktus reproduksi mempengaruhi morfologis dan motilitas spermatozoa, menimbulkan lekospermia dan pembentukan ASA IgG.

Pada penelitian ini gangguan motilitas dan morfologis spermatozoa lebih dipengaruhi dengan keberadaan ASA IgG dan lekosit, sebab pada uji pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* tidak menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna terhadap motilitas spermatozoa, demikian pula halnya dengan uji pengaruh hormon reproduksi dan enzim petanda kelenjar aksesori.

Untuk memperkuat hasil uji tersebut, maka pada penelitian ini dibuktikan bahwa pada penderita dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*, ternyata menunjukkan hasil pemeriksaan MAR IgG direk positif, artinya di dalam semen didapatkan ASA IgG. Keadaan ini mungkin disebabkan oleh karena *Chlamydia trachomatis* atau antigennya telah menginfeksi bagian lain dari traktus reproduksi dalam hal ini mungkin testis, prostat atau epididimis,

mengingat hasil anamnesa bahwa penderita menunjukkan uretritis asimtomatik kronis. Sebagai akibat infiltrasi *Chlamydia trachomatis* atau antigennya, maka dapat terjadi kerusakan pada *blood testis barrier*. Dengan kerusakan pada *blood testis barrier*, menimbulkan terjadinya proses ekstrasvasasi spermatozoa (Tjokronegoro, 1991). Akibat lebih lanjut menyebabkan sel imunokompeten sistemik kontak dengan spermatozoa sehingga terjadi reaksi antara spermatozoa dengan antibodi antisperma sebagai akibat reaksi autoimun (Tjokronegoro, 1978 ; Mandelbaum, *et al.*, 1987 Pavia, *et al.*, 1985). Faktor lain yang mungkin menyebabkan kerusakan pada traktus reproduksi adalah aktivitas faktor imunologis yaitu limfosit T dan makrofag yang dipresentasi sebagai lekosit dan yang bersifat kemotaksis (Cooper, 1995). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Kruse, *et al.* (1998) yang menggunakan metode MAR IgG direk, ternyata yang menunjukkan hasil positif yang cukup tinggi pada penderita dengan infeksi *Escherichia coli* (33,3% dari 24 sampel), *Staphylococcus epidermis* (34,8% dari 46 sampel), *Enterococcus spp.*(37,0% dari 46 sampel), dan infeksi oleh karena *Chlamydia trachomatis* tidak menonjol (9,4% dari 64 sampel). Adanya ASA IgG di dalam semen dapat menyebabkan gangguan motilitas spermatozoa, oleh karena antibodi antisperma terdapat pada permukaan spermatozoa, bahkan menurut Ariguno, *et al.* (1988) dapat mempengaruhi fungsi membran spermatozoa.

Terjadinya lekospermia pada penelitian ini menunjukkan bahwa ada mekanisme pertahanan terhadap keberadaan antigen *Chlamydia trachomatis* di uretra. Hal ini disebabkan oleh karena sepanjang saluran reproduksi pria mulai

dari rete testis sampai uretra dijumpai kelenjar limfe (Pudney, *et al.*, 1993). Selain itu di antara ipetil mukosa saluran reproduksi akan terjadi aktivitas reaksi imunomukosal. Bila ada mikroorganisme patogen, maka aktivitas ini dipaparkan sebagai lekosit serta limfosit, bahkan antibodi terhadap mikroorganisme tersebut (Pollanen dan Niemi, 1987 ; El-Demiry dan James, 1988).

Adanya lekospermia dapat menyebabkan kerusakan morfologi spermatozoa dan gangguan pada motilitas spermatozoa. Hal ini disebabkan oleh karena terjadi distruksi pada membran spermatozoa sebagai akibat proses oksidasi pada struktur membran spermatozoa antara lain lapisan lemak, protein di membran spermatozoa. Lekosit dalam metabolismenya akan mengeluarkan hasil metabolisme oksigen yaitu hidrogen peroksidase (H_2O_2), radikal hidroksil (OH) dan oksigen (O_2), yang ketiganya dapat berperan sebagai antimikroba (Takemura, 1980). Peroksidase ini dapat menimbulkan oksidasi asam lemak tidak jenuh yang disebut dengan proses lipid peroksidasi. Lekosit juga memproduksi *lysosomal leucocyte enzymes* yang menyebabkan pembusukan plasma membran spermatozoa sehingga substansi endogen pada spermatozoa mengubah sifat sebagai autoantigen (Riedel dan Samm, 1980). Reaksi lekosit dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme di dalam semen, menyebabkan hambatan motilitas spermatozoa, sebab granulosit dan monosit akan menyebabkan aglutinasi spermatozoa bahkan dapat menfagositosis spermatozoa (Reidel dan Samm, 1980).

Netrofil juga mengeluarkan beberapa enzim, salah satunya adalah *myeloperoxidase* yang tidak mempunyai peranan (Weiss, 1989), akan tetapi

dengan adanya H_2O_2 yang dihasilkan oleh lekosit, maka akan bereaksi menjadi *H₂O₂-myeloperoxidase* yang mampu menghancurkan membran sel di sekitarnya (Weiss, 1989). Jadi kerusakan morfologis, gangguan motilitas dan aglutinasi spermatozoa dalam penelitian ini bukan secara langsung oleh adanya *Chlamydia trachomatis* atau antigen, tetapi disebabkan adanya lekospermia, meskipun lekospermia ini merupakan reaksi pertahanan imunomukosal pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Pada penelitian ini EB atau antigen *Chlamydia trachomatis* tidak terdeteksi dalam semen tetapi terdeteksi di epitel uretra, sehingga kerusakan morfologis, motilitas dan aglutinasi spermatozoa disebabkan adanya lekospermia.

Berdasarkan hasil uji statistik pada penelitian ini, maka dinyatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra pada pria pasangan infertil, menyebabkan terbentuknya ASA IgG dan terjadi lekospermia, yang mengakibatkan motilitas spermatozoa terganggu dan kerusakan morfologis spermatozoa. Pada penelitian ini tidak terbukti bahwa lekospermia mempengaruhi pH, viskositas, volume dan likuifaksi.

Dilakukan juga uji pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap faktor imunologis ASA IgG, IgA, IgG, dan IgM total di dalam semen maupun serum. Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada variabel ASA IgG, IgA, IgG, IgM total dalam semen ($p=0,0001$) dan variabel IgA, IgG, IgM total ($p=0,0001$) dalam serum antara kelompok infeksi dan tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*. Hasil uji tersebut diperkuat dengan hasil uji gabungan antara infeksi *Chlamydia trachomatis* dengan faktor imunologis dalam semen

dan serum, ternyata menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada variabel IgA, IgG, IgM total dalam semen dan serum, serta ASA IgG dalam semen ($p=0,0001$) antara kelompok infeksi dan tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Atas dasar hasil uji ini maka terbukti bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* mempengaruhi keberadaan ASA IgG dalam semen dan IgA, IgG, IgM total dalam semen maupun serum.

Pada penelitian ini juga dilakukan uji statistik untuk membuktikan titer faktor imunologis meningkat. Hasil uji harga rerata ASA IgG, IgA, IgG IgM total di dalam semen maupun serum dan ASA IgG dalam semen, pada infeksi *Chlamydia trachomatis* lebih tinggi dari pada harga rerata pada yang tidak infeksi *Chlamydia trachomatis*, dan lebih tinggi dari batas harga normal yang ditentukan pada metode. Dengan demikian terbukti bahwa titer ASA dalam semen, IgA, IgG, IgM total dalam semen dan serum pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* meningkat. Dengan titer yang lebih tinggi dari harga normal, maka jelas menunjukkan bahwa sampel dalam keadaan terinfeksi.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa IgA total dalam plasma semen lebih tinggi dibandingkan dalam serum, sedangkan IgG dan IgM total dalam serum lebih tinggi daripada dalam plasma semen. Adanya titer IgA dalam semen yang lebih tinggi daripada dalam serum menunjukkan bahwa terjadi reaksi imunomukosal pada traktus reproduksi. Titer IgG dan IgM total dalam serum, pada penelitian ini lebih tinggi daripada titer IgG dan IgM dalam semen. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Bollmann, *et al.*

(1998) yang melakukan deteksi IgA dan IgG dalam plasma semen dan serum penderita infertil dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* pada traktus genitalia, ternyata menunjukkan adanya peningkatan titernya, terutama pada IgA menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi dalam plasma semen. Bollmann menyimpulkan bahwa IgG lebih tinggi di dalam serum (68%), sedangkan IgA lebih tinggi dalam plasma semen (36%).

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan hasil penelitian Kruse, *et al.* (1998) yang melakukan deteksi IgA, IgG, IgM, ASA dalam serum dan semen serta lekosit dalam semen penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*. Kruse, *et al.* (1998) menyimpulkan bahwa di dalam serum maupun semen didapatkan kenaikan titer IgA, IgG dan IgM, kecuali titer ASA (Mar IgG) dalam serum hanya dijumpai pada beberapa penderita 9,4% (6 dari 64 penderita) sedangkan ASA dalam semen lebih menonjol 35,8% (39 dari 109 penderita) dan lekosit dalam semen tidak menunjukkan peningkatan yang bermakna pada penderita dengan MAR IgG positif dalam semen. Penelitian lain yang mendukung penelitian ini adalah hasil penelitian Witkin, *et al.* (1995) yang membuktikan bahwa adanya infeksi *Chlamydia trachomatis* menyebabkan reaksi autoimun terhadap spermatozoa, dengan adanya ASA.

Reaksi imunologis pada infeksi *Chlamydia trachomatis* lokal dan sistemik memang dapat terjadi, sesuai dengan teori imunologi bahwa adanya protein asing dalam tubuh akan merangsang sistem imun sehingga terbentuk antibodi (Male dan Roit, 1993). Traktus reproduksi mempunyai sistem imunologi mukosal, sehingga apabila terdapat mikroorganisme terutama penyebab STD

pada salah satu saluran atau organ akan terjadi reaksi lokal untuk memusnahkan mikroorganisme tersebut (Cooper, 1995). Reaksi imunologis lokal yang terjadi, didahului dengan aktifitas sel makrofag yang terdapat di antara sel Sertoli dan limfosit yang terdapat di jaringan sub mukosa akan melakukan fagositosis (Pudney, 1986 ; Lydyard dan Grossi, 1993). Menurut Ludwig, *et al.* (1998) terjadi pula reaksi imunologi mukosal yaitu berupa aktivitas granulosit tepatnya polimorfonuklear (PMN). Aktivitas tersebut dibuktikan dengan pemeriksaan *PMN-elastase*, ternyata didapatkan lekospemia yang sangat menonjol pada infeksi. Kruse, *et al.* (1998), melakukan pemeriksaan aktivitas PMN dalam plasma semen dengan *PMN granulocyte elastase*, pada beberapa spesies yang menginfeksi traktus genitalia. Hasil penelitian Kruse *et al.* (1998) membuktikan adanya lekospemia termasuk pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Terbentuknya ASA IgG pada penderita infeksi, merupakan suatu reaksi autoimun (Tjokronegoro, 1978, Mandelbaum, *et al.*, 1987 dan Pavia, *et al.*, 1985). Hal ini diduga oleh karena adanya infeksi memungkinkan terjadinya kerusakan *blood testis barrier* yang akan mengakibatkan penetrasi sel pertahanan imunologis seperti makrofag testis dan limfosit sistemik menuju ke sel germinal (Pudney dan Quale, 1995). Telah diketahui bahwa spermatozoa merupakan protein asing yang dapat bersifat sebagai antigen terhadap tubuhnya sendiri. Kalau terjadi kontak dengan sel imunologis yang melakukan penetrasi ke sel germinal dapat menimbulkan reaksi dengan spermatozoa dan terjadi pembentukan ASA (Mandelbaum, *et al.*, 1987).

Menurut Cooper (1993) pada minggu pertama dan ke dua setelah terjadi infeksi *Chlamydia trachomatis* akan didapatkan IgA dan IgG lokal dan ini sangat efektif untuk RB *Chlamydia trachomatis*, namun menyebabkan EB *Chlamydia trachomatis* malah tetap menetap di dalam sel.

Pudney, *et al.* (1993), menyatakan bahwa reaksi imun lokal pada jaringan traktus reproduksi pria tidak hanya ditandai dengan aktivitas makrofag, tetapi juga ada peningkatan aktivitas limfosit T yang terletak diantara sel epitelium.

Demikian pula dengan pendapat Cooper (1995) yang mengatakan bahwa pada infeksi *Chlamydia trachomatis*, didapatkan aktivitas proliferasi limfosit T lokal, hingga terbentuk IgG dan IgA yang dapat dijumpai dalam plasma semen. Teori Cooper (1995) mengatakan bahwa dengan sifat antigenik pada *Chlamydia trachomatis*, maka dapat terjadi reaksi sistemik dengan terbentuknya IgA, IgG dan IgM.

Berdasarkan hasil uji statistik pada penelitian ini yang sesuai dengan teori, maka hipotesis yang menyatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra pria dapat meningkatkan titer IgA, IgG IgM total dan ASA IgG di dalam semen adalah diterima. Bahkan pada penelitian ini terbukti titer IgA, IgG dan IgM total dalam serum juga meningkat.

Dalam penelitian ini membuktikan tidak pengaruh IgA, IgG IgM total dalam semen dan serum serta ASA IgG dalam semen terhadap motilitas spermatozoa, terkecuali ASA IgG yang terbukti mempengaruhi motilitas spermatozoa. Sebenarnya hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Kruse, *et al.* (1996) yang membuktikan bahwa adanya titer IgA, IgG dan IgM yang

meningkat dalam semen tidak ada hubungan dengan penurunan kualitas semen. Padahal menurut penelitian Radouni, *et al.* (1996) pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis*, yang menggunakan metode MIF, adanya imunoglobulin tersebut dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa. Perbedaan hasil penelitian Radouni dan penelitian ini, mungkin disebabkan oleh karena pada penelitian ini jumlah sampel penderita infertil dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* sangat kecil dan titer IgA, IgG dan IgM total pada setiap sampel tidak cukup tinggi dibandingkan dengan penelitian Radouni dan mungkin juga oleh karena perbedaan metode yang digunakan. Namun dapat dijelaskan sesuai teori, bahwa di dalam semen dijumpai adanya anti komplemen yang berperan untuk mencegah aktivitas komplemen. Meskipun di dalam semen dijumpai peningkatan IgA, IgG dan IgM, tapi kalau tidak ada aktivitas komplemen, maka tidak akan terjadi reaksi imun terhadap spermatozoa, sehingga tidak mempengaruhi motilitasnya.

Pada uji gabungan pengaruh variabel penyerta IgA, IgG, IgM total dan ASA IgG dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*, ternyata terbukti bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* dan faktor imunologis IgA, IgG, IgM total dan ASA IgG berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa ($p=0,002$).

Atas dasar uji tersebut, maka dapat dijelaskan bahwa perubahan motilitas spermatozoa pada penderita infeksi *Chlamydia trachomatis* lebih dipengaruhi oleh ASA IgG. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mandelbaum, *et al.* (1987) yang menyatakan bahwa ASA mengganggu motilitas, oleh karena ASA melekat pada permukaan membran spermatozoa.

ASA di dalam semen pada penelitian Radouni, *et al.* (1996) ternyata sesuai dengan penelitian ini, bahwa adanya ASA di dalam semen dapat menurunkan kualitas spermatozoa, terutama motilitasnya.

Terganggunya motilitas spermatozoa ini diperkuat dengan uji yang membuktikan adanya pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap aglutinasi spermatozoa. ($p=0,0001$). Hasil ini sesuai dengan pendapat Hafez (1980) yang menyatakan bahwa aglutinasi spermatozoa mempersulit pergerakan spermatozoa. Terjadinya aglutinasi spermatozoa pada penelitian ini tidak hanya dipengaruhi oleh infeksi *Chlamydia trachomatis*, tetapi sebagai akibat adanya reaksi leukosit dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme di dalam semen, sebab granulosit dan monosit akan menyebabkan aglutinasi spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat dari Hankel dan Schill (1998) yang menyatakan bahwa adanya leukospermia dapat menyebabkan aglutinasi spermatozoa hingga mempengaruhi kualitas spermatozoa, terutama motilitasnya.

Atas dasar hasil pembuktian pada penelitian ini yang sesuai dengan penelitian lain, maka hipotesis yang menyatakan bahwa peningkatan titer IgA total, IgG total dan IgM total dan ASA IgG dalam semen pada infeksi *Chlamydia trachomatis* menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa adalah diterima.

Dalam penelitian ini dilakukan pula uji korelasi untuk melihat hubungan antara keberadaan ASA IgG dalam semen dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*. Hasil menunjukkan adanya korelasi antara ASA IgG dengan

infeksi *Chlamydia trachomatis*. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Kruse, *et al.* (1998) pada penderita infeksi oleh karena beberapa spesies mikroorganime, antara lain *Escherechia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus spp*, ternyata ASA berkorelasi positif dengan infeksi. Hasil penelitian Kruse tersebut dapat diasumsikan bahwa adanya infeksi dengan penyebab mikroorganime menunjukkan korelasi antara ASA dengan infeksi. Penelitian ini sesuai pula dengan penelitian Radouni, *et al* (1996) yang mengatakan ada korelasi antara ASA dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Berdasarkan hasil pembuktian pada penelitian ini, maka hipotesis yang menyatakan ada korelasi positif antara ASA IgG dalam semen dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* adalah diterima.

Pada penelitian ini telah membuktikan adanya penurunan motilitas, morfologis dan aglutinasi spermatozoa, adanya lekospermia dan ASA IgG, maka hipotesis yang menyatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra pria menyebabkan penurunan kualitas semen adalah diterima

Setelah dilakukan uji pada seluruh tahap penelitian maka dapat dikatakan bahwa infeksi *Chlamydia trachomatis* dapat didiagnosis dengan melakukan kultur pada *yolk sac* dalam telur ayam bertunas berumur 7 hari dari jenis ayam SPF. Selain itu dapat dijelaskan bahwa hasil penelitian *comparative cross sectional* pada manusia didukung dengan hasil penelitian eksperimen *in vitro* pada semen yang dikontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis*, tetapi ada pula hasil uji yang berbeda pada kedua tahap penelitian ini.

Adanya *Chlamydia trachomatis* atau fraksi antigen pada uretra mempengaruhi motilitas dan morfologis spermatozoa. Pengaruh *Chlamydia trachomatis* terhadap motilitas spermatozoa dibuktikan dengan adanya aglutinasi spermatozoa pada kedua tahap penelitian ini. Pada kedua tahap penelitian ini juga terbukti adanya perubahan morfologis spermatozoa normal yang ditentukan dengan jumlah bentuk spermatozoa normal.

Pada penelitian di manusia tidak menunjukkan pengaruh infeksi *Chlamydia trachomatis* terhadap reaksi akrosom dan konsentrasi spermatozoa. Tetapi pada penelitian eksperimental *in vitro* terbukti bahwa adanya *Chlamydia trachomatis* dalam semen mempengaruhi reaksi akrosom dan konsentrasi spermatozoa. Perbedaan hasil penelitian disebabkan penelitian pada manusia tidak dijumpai antigen maupun EB *Chlamydia trachomatis* dalam semen, padahal sifat antigenik dan endotoksin *Chlamydia trachomatis* dapat menghancurkan struktur membran spermatozoa bahkan mungkin menghancurkan spermatozoa. Sebenarnya hasil penelitian eksperimental *in vitro* ini sesuai dengan penelitian eksperimental *in vitro* yang dilakukan oleh Huwe, *et al.* (1998) dan Kohn, *et al.* (1998) yang menunjukkan bahwa adanya mikroorganisme di dalam semen dapat mempengaruhi reaksi akrosom dan konsentrasi spermatozoa.

Demikian pula halnya dengan pH, viskositas dan volume semen pada penelitian di manusia ternyata tidak ada perbedaan antara penderita yang tidak terinfeksi dan yang terinfeksi *Chlamydia trachomatis*. Tetapi pada penelitian eksperimen *in vitro* dapat dibuktikan bahwa adanya *Chlamydia trachomatis* dalam semen dapat menurunkan pH dan meningkatkan viskositas semen.

Perbedaan hasil penelitian ini disebabkan penelitian pada manusia tidak dijumpai *Chlamydia trachomatis* dalam semen sehingga tidak ada hasil metabolisme yang mencemari semen. *Chlamydia trachomatis* tidak dijumpai dalam semen pada penelitian di manusia, kemungkinan disebabkan adanya faktor imunologis dalam semen yang menghancurkannya. Penelitian pada manusia menunjukkan adanya faktor imunologis dalam semen, sedang pada eksperimental *in vitro* tidak dijumpai faktor imunologis. Hal ini sangat jelas menunjukkan perbedaan, oleh karena pada manusia adanya mikroorganisme dalam tubuh akan merangsang pembentukan faktor imunologis, sedang pada eksperimental *in vitro* mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme tidak dijumpai.

Dengan demikian maka penelitian pada pria infertil dengan infeksi *Chlamydia trachomatis* pada uretra, terbukti bahwa menyebabkan perubahan motilitas dan morfologis spermatozoa, sehingga mengakibatkan spermatozoa tidak mampu membuahi ovum.

Akibat lain yang perlu diperhitungkan adalah adanya perlekatan EB *Chlamydia trachomatis* pada membran spermatozoa atau akrosom dapat terbawa masuk ke dalam traktus reproduksi wanita. Lokus primer infeksi *Chlamydia trachomatis* pada wanita di epitel serviks, endometrium dan saluran indung telur (Cooper, 1995), kemudian akan menimbulkan reaksi imun lokal maupun sistemik. Pada minggu pertama terjadinya infeksi *Chlamydia trachomatis*, akan dijumpai titer Chlam IgA Ab dalam sekret serviks lebih

tinggi daripada dalam serum, sedang Chlam IgG Ab dalam serum lebih tinggi daripada dalam sekret serviks (Cooper, 1995 ; Kruse, *et al.*, 1997).

Menurut Kruse, *et al.* (1997) Chlam IgA Ab dan Chlam IgG Ab tidak hanya dijumpai dalam sekret vagina, tetapi juga dijumpai pada sekret saluran indung telur. Cooper (1995) mengatakan bahwa pada minggu pertama setelah terkontaminasi dengan *Chlamydia trachomatis* akan terjadi aktivitas imunomukosal dengan adanya proliferasi limfosit T dan makrofag yang dipresentasikan sebagai limfosit dan lekosit. Respon tersebut sangat efektif untuk bentuk RB, tetapi tidak demikian halnya dengan bentuk EB yang malah akan tetap berada dalam sel epitel. EB *Chlamydia trachomatis* dan lekosit tidak hanya berada dalam serviks tetapi dapat infiltrasi ke endometrium maupun saluran indung telur atau ke luar dari saluran indung telur menuju ke jaringan disekitarnya, yang mungkin menyebabkan salpingitis. Dalam aktivitasnya, lekosit mengsekresi hidrogen peroksidase yang akan bereaksi dengan enzim *myeloperoxidase* hingga terbentuk H_2O_2 -*myeloperoxidase* yang akan merusak struktur membran sel jaringan disekitarnya. Akibat adanya kerusakan sel-sel jaringan, mungkin menyebabkan proliferasi kolagen berlebihan yang mengakibatkan perubahan struktur jaringan dengan akibat terjadi obstruksi. Menurut Tjokronegoro (1991) adanya makrofag dalam sekret serviks dapat menfagositosis spermatozoa yang berada ditempat itu, kemudian dipresentasikan kepada limfosit T dan B hingga terjadi aglutinasi spermatozoa yang menyebabkan motilitas spermatozoa terganggu dan tidak mampu membuahi ovum.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

- 7.1.1. *Chlamydia trachomatis* dalam semen dapat melekat dan merusak akrosom serta membran spermatozoa sehingga merusak morfologis spermatozoa, menurunkan motilitas spermatozoa, mempengaruhi reaksi akrosom, mengaglutinasi spermatozoa, menurunkan pH dan meningkatkan viskositas semen.
- 7.1.2. Infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra menurunkan motilitas spermatozoa, mempengaruhi morfologis spermatozoa, meningkatkan titer IgA total, IgG total, IgM total dalam semen dan serum.
- 7.1.3. Infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra meningkatkan ASA IgG dalam semen dan menyebabkan lekospermia.
- 7.1.4. Peningkatan paparan ASA IgG di dalam semen berhubungan dengan infeksi *Chlamydia trachomatis*.
- 7.1.5. Prevalensi infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra pria pasangan infertil sebesar 13,3%.
- 7.1.6. Kultur *Chlamydia trachomatis* dapat dalam *yolk sac* ayam bertunas berumur 7 hari dari jenis ayam budidaya SPF.
- 7.1.7. Dengan pemeriksaan kultur prevalensi infeksi *Chlamydia trachomatis* pada wanita tunasusila di Putat Jaya sebesar 62,5%
- 7.1.8. Infeksi *Chlamydia trachomatis* di uretra mempengaruhi kualitas semen khususnya motilitas dan morfologis, hingga mempengaruhi fertilitas pria.

7.2. Saran

Dengan ditemukan cara *Chlamydia trachomatis* merusak morfologis spermatozoa dan mengaglutinasi spermatozoa hingga menurunkan motilitasnya, maka perlu dipikirkan cara mengatasi kerusakan tersebut.

Untuk diagnosis klinis sampai sekarang masih sulit mendeteksi *Chlamydia trachomatis* khususnya pada pria, sehingga perlu dipikirkan suatu cara yang mudah untuk mendeteksi antigen *Chlamydia trachomatis* dalam darah, semen atau tempat infeksi, selain itu sebaiknya juga dilakukan kultur.

Untuk masyarakat perlu waspada terhadap penyakit infeksi di traktus genitalia, khususnya pada uretritis asimtomatik yang disebabkan *Chlamydia trachomatis*, mengingat infeksi ini dapat mempengaruhi fertilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimoelja A, 1981. Transport Spermatozoa. Pentaloka Andrologi Fakultas Kedokteran se Indonesia di BKKBN. Surabaya.
- Alexander NJ, Anderson DJ, 1987. Immunology of semen. **Fertil Steril.** 47 : 192-205.
- Amelar Rd, Dubin L, Schoenfeld CY, 1980. Sperm motility. **Fertil Steril.** 34 : 197-215.
- Anderson DJ, Tarter TH, 1982. Immunosuppressive effects of mouse seminal plasma components in vivo and in vitro. **J. Immunol.** 12 : 535- 539.
- Anderson DJ, Hill JA, 1996. Cytokines in the reproductive tract that affect fertility. **J. Mucosal Immunol.** 3 : 6-15.
- Ariguno L, Tjokronegoro A, Soebijanto, 1988. Pengaruh antibodi antisperma pada permukaan sperma terhadap fungsi membran spermatozoa. Semarang. Simposium Internasional Andrologi II.
- Bailey & Scott's. 1990. *Chlamydia, Mycoplasma and Rickettsia*. in **Diagnostic Microbiology**. Eighth edition. St.Louis. The C.V. Mosby company. part 38. pp 558-564.
- Beer AE, Neaves WB, 1978. Antigen status of semen from the view point of the female and male. **Fertil Steril.** 29 : 3-19.
- Beckerman KP, 1994. Reproduction & the immune system. in **Basic Clinical Immunology**. Eight edition. USA. Edited by Steties DP, Terr AI, Parslow TG, Prentice-Hall International Inc. part 42. pp : 552-555.
- Bedford MJ, 1990. Sperm dynamic in the epididymis. in **Gamete Physiology**. Sero Symposia. California USA. Edited by Ash H, et al. pp : 53-67.
- Bielfeld P, 1994. The zona pellusida induced acrosome reaction of human spermatozoais mediated by protein kinase. **Fertil Steril.** 6 : 536-540.
- B.K.K.B.N. 1985. Laporan program K.B. nasional selama tiga pelita, Jakarta bab III.
- Bollmann R, Engel S, Sagert D, Gobel UB, 1998. Investigation on the detection of *Chlamydia trachomatis* infections in infertile male outpatients. **Andrologia.** 30 : 23-27.

- Braverman J, 1990. Asymptomatic urethritis in adolescent. **J.Adols.Health.** 11: 141-144.
- Broch TA, Madiga MT, 1991. in **Biology of Microorganismes**. sixth edition. New Jersey. Prentice Hall. pp : 767-769.
- Brule AJC, Hamrika DJ, Walboomers JMM, 1993. Detection of *Chlamydia trachomatis* in semen of artificial insemination donors by polymerase chain reaction. **Fertil Steril.** 5 : 1098-1104f
- Burger HG, Kretser DM, Hudson B, 1976. Spermatogenesis and its endocrine control. in **Human Semen and Fertility Regulation in Men**. Saint Louis. Edited by Hafez ESE, 1976. The C.V. Mosby Company part 1. pp : 3-16.
- Byod RF, 1984. *Chlamydia*. in **General Microbiology**. St.Louis.The CV Mosby Co. part : 38 pp: 340-348.
- Cates W Jr, 1992. The impact of STD on reproductive health, Ujung Pandang. International symposium : in **The impact of infection on reproductive health**. First ed. Surabaya Indonesia. Edited by Hinting A, et al. 1993. Mediproc publishing. pp: 49-59.
- Cooper MD, 1995. The mucosal immune response to sexually transmitted diseases in the human female genital tract. **J. Mucosal Immunol.** 3 : 9, 10 and 14.
- Darnell J, Lodish H, Baltimore D, 1990. Molecular Cell Biology. **Sci.Am Books**. Second edition. pp : 11-28.
- El-Demiry MIM, James K, 1988. Lymphocyte subsets and macrophages in the male genital tract in health and disease. **European Urol.** 14 : 226-235.
- Fish E, 1989. Reproductive biology. **Obstet. Gynecol.** 31 : 67-74.
- Friberg J, 1990. Non specific urethritis in men. **Obstet. Gynecol.** 28. : 66-77.
- Genc M, Ruusuvaara L, Marrdh PA, 1993. An Economic Evaluation of Screening for *Chlamydia trachomatis* in Adolescent Males. **Am. J. Med. Ass.** 27 : 20-57.
- Goldfarb AF, 1988. Unexplained infertility. in **Current Therapy of Infertility** - 3. Edited by Gracia M, et al. pp : 311-314.
- Hafez ESE, Prasad MRN, 1976. Functional aspect of the epididymis. in **Human semen and infertility regulation in men**. First edition. Saint Louis. Edited by Hafez ESE. 1976.The C.V. Mosby Company. pp: 31- 42.

- Hafez ESE, 1977. Physio-anatomical parameters of andrology. in **Techniques human andrology**. Amsterdam. Edited by Hafez ESE, North-Holland Publishing Company. pp : 39-79.
- Hafez ESE, 1980. The semen. in **Human reproduction, conception and contraception**. Second edition. Hagerstown. Edited by Hafez ESE, Harper & Row. pp : 99-103.
- Hargreave TB, James K, Kelly R, Skibinski G, Szymaniec S, 1993. Immunosuppressive factors in the male reproductive tract. **Local Immunity in Reproductive Tract Tissues**. World Health Organization. First published Oxford USA. Edited by Griffin, et al. 1993. Oxford Univ.Press. part 9
- Hankel R, Schill WB, 1998. Sperm separation in patient with urogenital infections. **Andrologia**. 30 : 91-97.
- Hinting A, 1989. Assessment of human sperma fertilizing ability. A study with special interest for sperm motility characteristic, antisperm antibodies and in vitro sperm fertilizing ability. Thesis submitted in fulfillment of requirements for the degree of special doctor in reproductive medicine. **Desertation**. Rijks Universiteit Gent :1-3.
- Hinting A, 1992. The role of genital infection in male infertillity. Ujung Pandang International symposium : **The impact of infection on reproductive health**. . First edition. Surabaya Indonesia. Edited by Hinting, A. et al. 1993. Mediproc publishing. pp : 71-79.
- Hudson B, Pepperel RJ, Wood C, 1980. The problem of infertility. in **The infertile couple**. First publication. Churchill Livington London. Edited by Pepperel RJ, et al. pp : 1-7.
- Huwe P, Diemer T, Ludwig M, liu J, Schiefer HG, Weidner W, 1998. Influence of different urophatogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an invitro experiment. **Andrologia**. 30 : 55-59.
- Idajadi A, 1997. Biomolekuler dalam bidang penyakit infeksi mikrobial (*Chlamediasis*). **Biologi Molekuler Kedokteran**. Edisi pertama. Airlangga University Press. Editor Suhartono TP. Hal.: 29-38.
- Isenberg HD (editor), 1992. Isolation of *Chlamydia* spp. In cell cultur. in **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. Vol.2. ASM. Washington. Chapter 8.23. pp : 8.23.1-8.23.10.
- Jawetz E, Melnich, Michael T, 1991. *Chlamydia*. in **Review of Medical Micro**



- biology**. Sixten edition. California. Lang Medical Publication. pp: 270-273.
- Johnson M, Everitt B, 1980. Testicular function in **Essential Reproduction**. First edition. Toronto. Black Scientific Publication. Chapter 3. Pp : 33-63.
- Johansson M, Schlon K, Ward M, Lyke N, 1997. Genital tract infection with *Chlamydia trachomatis* fails to induce protective immunity in gamma interferon receptor-deficient mice despite a strong local immunoglobulin A response. **Infect Immun**. 65 : 1032-44. 1997 Mar. (Journal on-line) di-dapat dari <http://www.mcdcape.com/scrver-java/Medlist>: diakses 11 Juli 1997.
- Kadar A, Bucsek M, Kardos M, Corradi G, 1995. Detection of *Chlamydia trachomatis* in chronic prostatitis by in situ hybridization. **Urol**. 136 : 659-662.
- Khanna J, Van Look PFA, Griffin PD, 1992. A key to brighter future. Geneva. Word Health Organization.
- Kjaergaard N, Kristensen B, Hansen ES, Farholt S, Schonheyder HC, Uldbejerg N, Madsen H, 1997. Microbiology of semen specimen from males attending a fertility. **APMIS**. 105 : 566-70. (journal on-line); didapat dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?uid=99269303&form=6&db=m&Dopt=b>, diakses 5 Oktober 1998 jam 9.47.
- Kruse EW, Gerhard I, Nather H, Tinnes G, Holst T, Runnebaum B, 1990. *Chlamydial* infection- a female and /or male infertility factor ?. **Fertil Steril**. 5 : 1037-1043.
- Kruse EW, Gopfarth BN, Rohr G, Probst S, Aufenanger J, Nather H, Runnebaum B, 1996. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in semen and relationship with parameters of male fertility. **Hum.Reprod**. 11 : 1408-1417.
- Kruse EW, Rohr G, Demirakca T, Rusu R, Naher H, Petzoldt D, Runnebaum B, 1997. Chlamydial serology in 1303 asymptomatic subfertile couples. **Hum.Reprod**. 12 : 1464-75. (Journal on-line) ; didapat dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?uid=9262279&form=6&db=m&Dopt=b>, diakses 5 Oktober 1998 jam 9.49.
- Kruse EW, Rohr G, Probst S, Rusu R, Hund M, Demirakca T, Aufenanger J, Runnebaum B, Petzoldt D, 1998. Antisperm antibodies and microorganisms in genital secretions-a clinically significant relationship?. **Andrologia**.30 : 61-71.

- Kohn, FM. ; Erdmann, I. ; Oeda, T. ; Mulla, K.F. ; Schiefer, H.G. and Schill, WB. 1998. Influence of urogenital infections on sperm function. **Andrologia**. 30 : 73-80.
- Koopman WJ, Gillis MH, David JR, 1973. Prevention of MIF activity by agents known to increase cellular cyclic AMP. **J.Immunol**. 1 : 1609.
- Krieger JN, 1984. Epididymitis, orchitis and related conditions. **Sex Transm Dis** 11 : 173-174.
- Liu DY, Baker HWG, 1992. Test of human sperm function and fertilization in vitro. **Fertil Steril**. 58 : 465-483.
- Ludwig M, Kummel C, Schroeder PI, Ringert RH, Weidner W, 1998. Evaluation of seminal plasma parameters in patients with chronic prostatitis or leukocytospermia. **Andrologia**. 30 : 41-47.
- Lydyard P, Grossi C, 1993. The Lymphoid system. in **Immunology**. Third edition. London. Edited by Roitt IB, Jonathan, Male D. Mosby. Chapter 3. pp : 3.9-3.10.
- Makler A, 1980. The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. **Fertil Steril**. 33 : 337-338.
- Male D, Roit IB, 1993. Introduction of the immune system. in **Immunology**. Third edition. London. Edited by Roit IB, Jonathan, Male D. Mosby. Chapter 1. pp : 1.1-1.8.
- Mancini RE, Vilar O, Lavigne JC, Andrada, J.A, Heinrich JJ, 1978. Development of Leydig cells in the normal human testis. A cytological, cytochemical and quantitative study. **Am. J. Anat**. 112 : 203-204.
- Mandelbaum SL, Diamond MP, DeCherney AH, 1987. The impact of antisperm antibodies on human infertility. **Urol**. 46 : 613-615.
- Meech RJ, 1996. *Chlamydia*: An Update. **J. Pediatr. Obstet. Gynaecol**. 22 : 17-20
- Megory E, Zuckerman Z, Schwartz S, Lunenfeld B, 1990. Infection and Male Fertility. **Gynecol**. 42 : 283-290.
- Menkveld R. and Kruger T.F, 1988. Sperm morphology and male urogenital infections. **Andrologia**. 3 : 49-53.
- Nikkanen V, Terko P, Punnonen R and Muerman O, 1980. The significance of *Chlamydia* genital infection in male infertility. **Arch. Androl**. 4 : 57-61.

- Parr MB, Parr E, 1994. Mucosal immunity in the human genital tract. In **Handbook of mucosal immunity**. San Diego. Edited by Orgra PL, et al. Academic press. pp : 677-688.
- Pavia CD, Stites DP, Bronson RA, 1985. Reproductive immunology. **Reprod. Immunol.** 34 : 619-631.
- Pederson H, Fawcett DW, 1976. Functional anatomic of the human spermatozoon. in **Human semen and in fertility regulation in men**. First edition. Saint Louis. Edited by Hafez ESE. The C.V. Mosby Company. pp : 65-75.
- Perry LL, Feilzer K, Caldwell HD, 1997. Immunity to *Chlamydia trachomatis* is mediated by T helper cells through IFN-gamma-dependent and indepent pathway. **J. Immunol.** 158 : 3344-52. (Journal on-line) ; didapat dari <http://www.mcidscape.com/scrvcr-java/Medlist>, diakses 11 Juli 1997.
- Petersen BHM, Lammel CJ, Stites DP, Brooks GF, 1980. Human seminal plasma inhibition of complement. **J.Lab.Clin.Med.** 96 : 582-583.
- Player JHL, 1993. Reproductive immuno mucosal. **Immunology at Glance**. Third edition. London, Mosby. pp : 1-20.
- Pollanen P, Niemi M, 1987. Immunohistochemical identification of macrophages, lymphoid cells and HLA antigens in the human testis. **Int. J. Androl.** 10 : 37-47.
- Pudney J, 1986. Fine structural changes in Sertoli and leydig cells, during the reproductive cycle of the ground squirrel *Citellus lateralis*. **J. Reprod. Infert.** 77: 37-49.
- Pudney J, Anderson DJ, 1993. Organization of immunocompeten cells and their function in the male reproductive tract. Local immunity in reproductive tract tissue. Symposium on Local Immunity in Reproductive Tract Tissue. **World Health Organization**. First published. Oxford USA Edited by Griffin PD, et al. Oxford Univ. Press. part 7.
- Pudney J, Quale AJ, 1995. Hormonal regulation of mucosal immunity in the male reproductive tract. **J. Mucosal Immunol.** 3 : 9, 10 and 14.
- Pudjirahardjo WJ, 1993. Penentuan sampel. dalam **Metode Penelitian dan Statistik Terapan**. Surabaya. Editor Poerwadi T, et al. Airlangga University Press. edisi 1. hal.49-59.

- Radouani F, Bennani A, Takourt B, Had N, Ibrahim S, Boutaleb Y, Guinet R, Banslimane A, 1996. *Chlamydial* infection and male infertility in Marocco. **Contracept Fertil Sex.** 24 : 779-83 1996 Oct. (Journal on-line) ; didapat dari <http://www.mcdscapc.com/scrvcv-java/Medlist>, diakses 11 Juli 1997.
- Riedel HH, Semm K, 1980. Leucospermia and male fertility. **Arch Androl.** 4 : 51-56.
- Rowe PJ, 1995. Prevention and management of infertility. in **Annual Technical Report.** Geneva. WHO. pp : 109-114.
- Schachter J, 1985. *Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venerum-Trachoma Group)*.in **Manual of Clinical Microbiology.** Fourth edition. Washington D.C. Edited by Lennette EH, et al. American Society for Microbiology. Chapter 85. pp : 856-861.
- Schachter J, 1990. *Chlamydiae* in **Micobiology.** Fourth edition. Singapore. Edited by Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS. Harper & Row Publishers. Chapter 39. pp : 699-706.
- Schmid, 1996. Evolving strategies for management of the nongonococcal urethritis Syndrome. **Am. J. Med. Ass.** 12 : 10-12.
- Skhandhan KP, Vadodaria H, Langalia D, Mazumdar BN, 1982. Incidence of male factor in involuntary infertility. **Andrologia.** 14 : 328-330.
- Sotfer Y, Ron ER, Golan A, 1990. Male genital mycoplasma and *Chlamydia trachomatis* culture ; its realationship with accessory gland function, sperm quality and autoimmunity. **Fertil Steril.** 53 : 331-336.
- Stamm WE, Hicks CB, Martin H, 1996. Azithromy cin for Empirical Treatment of the Nongonococcal Urethritis Syndrome in Men. **Am. J. Med. Ass.** 12 : 23-27.
- Strickler RC, 1995. Factors Influencing Fertility. in **Infertility Evaluation and treatment.** USA. Editors Keye WR Jr, et al. WB. Saunders Company. chapter 2. pp : 8-18.
- Suominen J, Gonroos M, Terho P, et al., 1989. Chronic prostatitis, *Chlamydia trachomatis* and infertility. **Int. J. Androl.** 5 : 406-413.
- Takemura R, Reiko, Werb Z, 1984. Secretory product of macrophages and their physiological function. **Am.J.Physiol.** 246 : C1-C9.
- Talbot P, Chacon RS, 1981. A Triple-Satin Technique for Evaluating Normal acrosom Reaction of Human Sperm. **J. exp. zool.** 215 : 201-208.

- Thaler CJ, 1989. Immunological role for seminal plasma in insemination and pregnancy. **Am. J. Reprod. Immunity**. 21 : 147-150.
- Tim Peneliti STD-HIV AID, 1997. Laporan Proyek MEE (Proyek kerja sama Kanwil Depkes Kodya Surabaya-RSUD. Dr. Soetomo-Fakultas Kedokteran Unair- Antwerpen Swedia. Konggres Nasional STD-HIV AID di Manila 1997.
- Tjokronegoro A, 1978. Imuno andrologi. Suatu perkembangan baru dalam bidang reproduksi pria. **Medika** 7 : 4.
- Tjokronegoro A, 1982. Immunological aspect in the regulation of male infertility in Andrology International Conggres. Bali Indonesia.
- Tjokronegoro A, 1991. Aspek Imunitas Humoral pada Pasangan Infertil. **Maj.Obstet Ginekol Indones**. 17 : 35-48.
- Tjokronegoro A, 1991. Berbagai aspek imunologis pada sistem reproduksi wanita. Pertemuan tahunan perkumpulan VII POGI. Surakarta.
- Veldhuis J, 1991. The Hypothalamic-Pituitary-testicular Axis (Testicular control mechanisms). in **Reproductive Endocrinology**. Third edition. USA. Edited by Yen SSC, Jaffe RB. W.B. saunders company. Chapter 12. pp : 420-439.
- Ward ME, 1992. The laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases. Ujung Pandang International symposium. in **The impact of infection on reproductive health**. First ed. Surabaya Indonesia. Edited by Hinting A, et al. 1993. Mediproc publishing. pp : 61-69.
- Weiss SJ, 1989. Tissue destruction by neutrophils. **The New England J. Med**. 9 : 365-375.
- Wessels PH, Viljoen GJ, Marais NF, 1991. The prevalence, riks, and management of *Chlamydia trachomatis* infection in fertile and infertile patients from the high sosioeconomic bracket of the South African population, **Fertil Steril**. 56 : 485-488.
- Wibowo S, 1989. Studi tentang sperma yang tercemar oleh mikroorganisme pada pasangan infertil. **Disertasi**. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Witkin SS, Jeremias JAB, Grifo JA, 1993. Detection of *Chlamydia trachomatis* in semen by the polymerase chain reaction in male members of infertile couples. **Am.J.Obstet. Gynecol**. 12 : 1457-1462

- Witkin SS, Kligman I, Bongiovanni AM, 1995. Relationship between an asymptomatic male genital tract exposure to *Chlamydia trachomatis* and an autoimmune response to spermatozoa. **Hum.Reprod.** 10 : 2952-2955.
- Wolff H, Neubert U, Zebhauser M, 1991. *Chlamydia trachomatis* induces aninflammatory response in the male genital tract and is associated with altered semen quality. **Fertil Steril.** 55 : 1017- 1019.
- Wolff H, 1998. Methods for detection of male genital tract inflammation. **Andrologia.** 30 : 35-39.
- World Health Organization. 1994. **WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction.** Third edition. Cambridge University Press.
- World Health Organization. 1994. Prevalence of sexually transmitted disease. **Annual Technical Report.** pp : 109-114.
- Zaneveld LJD, 1985. The biology of human spermatozoa. in Proceeding Pandi Congress. Pandi. Jakarta.

Lampiran 1.1

Test of normality Kolmogorov-Smirnov (data penelitian eksperimental *in vitro*)Tests of Normality^{b,c,d}

Explore

Warnings

LAG1 is constant. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
LBAK1 is constant. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
LERI1 is constant. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

- a. Lilliefors Significance Correction
- b. LAG1 is constant. It has been omitted.
- c. LBAK1 is constant. It has been omitted.
- d. LERI1 is constant. It has been omitted.

LERI3 is constant. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
LLEU3 is constant. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

- a. Lilliefors Significance Correction
- b. LERI3 is constant. It has been omitted.
- c. LLEU3 is constant. It has been omitted.

Lampiran 1.2.

Test of normality Kolmogorov-Smirnov

(data penelitian *comparative cross sectional*)

Explore

Tests of Normality^b

- *. This is a lower bound of the true significance.
- a. Lilliefors Significance Correction
- b. LERI is constant. It has been omitted.

Lampiran 1.3.

Uji homogenitas data penelitian *comparative cross sectional*

		t-test for Equality of Means						
		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Mean	
							Lower	Upper
NIKAH	Equal variances assumed	-4.842	83	.000	-1.6586	.3425	-2.3399	-.9773
	Equal variances not assumed	-4.831	80.961	.000	-1.6586	.3433	-2.3417	-.9755
UMUR	Equal variances assumed	-6.326	83	.000	-3.44	.54	-4.53	-2.36
	Equal variances not assumed	-6.468	77.665	.000	-3.44	.53	-4.50	-2.38

Chi-square test(data penelitian eksperimental *in vitro*)

	X ²	Df	p
Lbak3 by kontam	32.0000	1	0.0000
Kontam by Lbak3 controlling for washing	16.0000	1	0.0006

Lbak = *Chlamydia trachomatis*

Kontam = kontaminasi

Mann-Whitney U-Wilcoxon rank sum W test(data penelitian eksperimen *in vitro* dan *comparative cross sectional*)

	Harga Z	Harga p
Lag3 by kontam	- 5.1757	0.0000
Lag by IMx 2	- 4.4656	0.0000

Lag = aglutinasi spermatozoa

Imx 2 = infeksi *Chlamydia trachomatis*.

Lampiran 2.1

t-test for independent samples of kontam
(data penelitian eksperimental *in vitro*)

kelompok	Harga t	df	p
1. Kontam 1- Kontam 2 :			
Raka 3 = reaksi akrosom tipe a	-13.82	22.07	0.0000
Rakb 3 = b	5.07	25.12	0.0000
Rakc 3 = c	11.63	26.87	0.0000
Rakd 3 = d	6.79	22.48	0.0000
Spn 3 = spermatozoa normal	10.75	29.91	0.0000
2. Kontam 1 = tidak dikontaminasi			
pH			
Viskositas	-1.37	15	0.191
Konsentrasi/ml 1 – 3	8.53	15	0.000
Konsentrasi/ejakulat 1 – 3	10.76	15	0.000
Motilitas A 1 – 3	- 3.38	15	0.004
Motilitas B 1 – 3	4.32	15	0.001
Motilitas C 1 – 3	0.53	15	0.602
Motilitas D 1 – 3	1.92	15	0.074
Motilitas normal 1 - 3	- 1.45	15	0.168
3. Kontam 2 = dikontaminasi			
pH	14.76	15	0.000
Viskositas 1 – 3	-12.31	15	0.000
Volume 1 – 3	39.78	15	0.000
Konsentrasi/ml 1 – 3	9.29	15	0.000
Konsentrasi/ejakulat 1 – 3	10.91	15	0.000
Motilitas A 1 – 3	- 0.14	15	0.000
Motilitas B 1 – 3	11.57	15	0.000
Motilitas C 1 – 3	- 3.20	15	0.000
Motilitas D 1 – 3	- 5.59	15	0.000
Motilitas normal 1 – 3	8.59	15	0.000

t-test (data penelitian comparative cross sectional)

	IMX2	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ASA	1.00	79	4.89	8.06	.91
	2.00	6	32.63	16.55	6.75
SPIGA	1.00	79	12.953	1.168	.131
	2.00	6	52.483	28.801	11.758
SPIGG	1.00	79	86.33	26.42	2.97
	2.00	6	98.67	22.20	9.06
SPIGM	1.00	79	7.554	.875	9.846E-02
	2.00	6	9.133	2.548	1.040
SRIGA	1.00	79	245.049	78.769	8.862
	2.00	6	514.950	134.498	54.909
SRIGG	1.00	79	1472.05	309.68	34.84
	2.00	6	2283.33	366.27	149.53
SRIGM	1.00	79	132.580	64.955	7.308
	2.00	6	275.883	126.939	51.823

Lampiran 2.2

Frequencies

Statistics

	N		Mean	Std. Deviation
	Valid	Missing		
SRFSH	85	0	4.7474	1.5945
SRLH	85	0	4.5386	1.5344
SRTEST	85	0	453.29	111.35
SPGLUC	85	0	81.7031	34.4029
SPPHOSP	85	0	702.1176	87.3856
SPFRUCT	85	0	35.9945	20.7184

SR = di dalam serum ; SP = di dalam semen

SRFSH = FSH ; SRLH = LH ; SRTEST = Testosteron

SPGLUC = alfa glukosidase ; SPPHOSP = fosfatase ; SPFRUCT = fruktosa

Correlation test

GRUPASA = anti sperm antibodi by IMX2

Statistic	Value	ASE1	Val/ASE0	Significance
Contingency Coefficient	.62771			00000 *1
Pearson's R	.80635	.12221	12.42104	.00000 *4
Spearman Correlation	.80635	.12221	12.42104	.00000 *4

*1 Pearson chi-square probability

*4.VAL/ASE0 is a t-value based on a normal approximation, as is the significance

Number of missing observations : 0

Lampiran 3.1

ANALYSIS OF VARIANCE

KONTAM = 1 VS KONTAM = 2

PH3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	.070	1	.070	1.991	.169
WASH	.070	1	.070	1.991	.169
Main Effects	7.508	1	7.508	212.611	.000
KONTAM	7.508	1	7.508	212.611	.000
Explained	7.578	2	3.789	107.301	.000

VIS3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	.031	1	.031	.165	.688
WASH	.031	1	.031	.165	.688
Main Effects	20.801	1	20.801	109.555	.000
KONTAM	20.801	1	20.801	109.555	.000
Explained	20.832	2	10.416	54.860	.000

VOL3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	.008	1	.008	.350	.559
WASH	.008	1	.008	.350	.559
Main Effects	2.880	1	2.880	129.051	.000
KONTAM	2.880	1	2.880	129.051	.000
Explained	2.888	2	1.444	64.700	.000

KCC3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	1684.901	1	1684.901	37.578	.000
WASH	1684.901	1	1684.901	37.578	.000
Main Effects	394.805	1	394.805	8.805	.006
KONTAM	394.805	1	394.805	8.805	.006
Explained	2079.706	2	1039.853	23.192	.000

Lampiran 3.2

ANALYSIS OF VARIANCE

KEJ3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	1387.986	1	1387.986	28.890	.000
WASH	1387.986	1	1387.986	28.890	.000
Main Effects	1067.336	1	1067.336	22.216	.000
KONTAM	1067.336	1	1067.336	22.216	.000
Explained	2455.322	2	1227.661	25.553	.000

MNOR3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	7938.000	1	7938.000	97.979	.000
WASH	7938.000	1	7938.000	97.979	.000
Main Effects	17484.500	1	17484.500	215.812	.000
KONTAM	17484.500	1	17484.500	215.812	.000
Explained	25422.500	2	12711.250	156.896	.000

AKN3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	1845.281	1	1845.281	24.006	.000
WASH	1845.281	1	1845.281	24.006	.000
Main Effects	14322.781	1	14322.781	186.331	.000
KONTAM	14322.781	1	14322.781	186.331	.000
Explained	16168.062	2	8084.031	105.168	.000

RAKA3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	157.531	1	157.531	.952	.337
WASH	157.531	1	157.531	.952	.337
Main Effects	31563.281	1	31563.281	190.758	.000
KONTAM	31563.281	1	31563.281	190.758	.000
Explained	31720.812	2	15860.406	95.855	.000

RAKB3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	22.781	1	22.781	1.494	.231
WASH	22.781	1	22.781	1.494	.231
Main Effects	399.031	1	399.031	26.172	.000
KONTAM	399.031	1	399.031	26.172	.000
Explained	421.812	2	210.906	13.833	.000

Lampiran 3.3

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E

RAKC3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	116.281	1	116.281	.930	.343
WASH	116.281	1	116.281	.930	.343
Main Effects	16882.031	1	16882.031	135.041	.000
KONTAM	16882.031	1	16882.031	135.041	.000
Explained	16998.312	2	8499.156	67.986	.000

RAKD3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	16.531	1	16.531	.963	.334
WASH	16.531	1	16.531	.963	.334
Main Effects	790.031	1	790.031	46.038	.000
KONTAM	790.031	1	790.031	46.038	.000
Explained	806.562	2	403.281	23.500	.000

SPN3 by KONTAM with WASH

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	1696.531	1	1696.531	27.553	.000
WASH	1696.531	1	1696.531	27.553	.000
Main Effects	13407.031	1	13407.031	217.737	.000
KONTAM	13407.031	1	13407.031	217.737	.000
Explained	15103.562	2	7551.781	122.645	.000

32 cases were processed.

0 cases (.0 pct) were missing.

lampiran 3.4

ANALYSIS OF VARIANCE

KUALITAS SEMEN

All variable by IMX2 with SRLH, SRFSH, SRTEST, SPFRUCT, SPPHOSP, SPGLUC

PH	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Source of Variation					
Covariates	.988	6	.165	1.119	.359
SRLH	.002	1	.002	.014	.906
SRFSH	.047	1	.047	.319	.574
SRTEST	.140	1	.140	.952	.332
SPFRUCT	.207	1	.207	1.406	.239
SPPHOSP	.040	1	.040	.273	.603
SPGLUC	.372	1	.372	2.524	.116
Main Effects	.665	1	.665	4.513	.037
IMX2	.665	1	.665	4.513	.037
Explained	1.252	7	.179	1.215	.305

VIS = viskositas	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Source of Variation					
Covariates	2.511	6	.418	.486	.817
SRLH	.035	1	.035	.040	.842
SRFSH	.034	1	.034	.039	.844
SRTEST	.954	1	.954	1.107	.296
SPFRUCT	.067	1	.067	.078	.781
SPPHOSP	.457	1	.457	.531	.469
SPGLUC	.934	1	.934	1.085	.301
Main Effects	1.074	1	1.074	1.247	.268
IMX2	1.074	1	1.074	1.247	.268
Explained	4.614	7	.659	.765	.618

LIK = likwifaksi	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Source of Variation					
Covariates	318.802	6	53.134	.361	.901
SRLH	.231	1	.231	.002	.968
SRFSH	69.319	1	69.319	.472	.494
SRTEST	1.354	1	1.354	.009	.924
SPFRUCT	189.660	1	189.660	1.290	.260
SPPHOSP	35.040	1	35.040	.238	.627
SPGLUC	122.220	1	122.220	.831	.365
Main Effects	868.257	1	868.257	5.907	.017
IMX2	868.257	1	868.257	5.907	.017
Explained	1206.377	7	172.340	1.172	.328

Lampiran 3.5

ANALYSIS OF VARIANCE

KUALITAS SEMEN

All variable by IMX2 with SRLH, SRFSH, SRTEST, SPFRUCT, SPPHOSP, SPGLUC

VOL = volume

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	9.168	6	1.528	2.179	.054
SRLH	1.708	1	1.708	2.436	.123
SRFSH	.286	1	.286	.408	.525
SRTEST	.024	1	.024	.034	.854
SPFRUCT	6.891	1	6.891	9.825	.002
SPPHOSP	.489	1	.489	.698	.406
SPGLUC	.180	1	.180	.256	.614
Main Effects	.232	1	.232	.331	.567
IMX2	.232	1	.232	.331	.567
Explained	10.191	7	1.456	2.076	.056

LLEU = leukosit

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	4.662	6	.777	2.881	.014
SRLH	.478	1	.478	1.774	.187
SRFSH	.427	1	.427	1.584	.212
SRTEST	.029	1	.029	.108	.743
SPFRUCT	.799	1	.799	2.964	.089
SPPHOSP	.155	1	.155	.573	.451
SPGLUC	1.738	1	1.738	6.443	.013
Main Effects	.773	1	.773	2.867	.094
IMX2	.773	1	.773	2.867	.094
Explained	8.938	7	1.277	4.734	.000

ASA = anti sperm antibodi

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	273.629	6	45.605	.581	.744
SRLH	100.951	1	100.951	1.286	.260
SRFSH	113.429	1	113.429	1.445	.233
SRTEST	50.646	1	50.646	.645	.424
SPFRUCT	.007	1	.007	.000	.993
SPPHOSP	92.113	1	92.113	1.173	.282
SPGLUC	1.111	1	1.111	.014	.906
Main Effects	3311.070	1	3311.070	42.172	.000
IMX2	3311.070	1	3311.070	42.172	.000

Lampiran 3.6

ANALYSIS OF VARIANCE

KUALITAS SEMEN

All variable by IMX2 with SRLH, SRFSH, SRTEST, SPFRUCT, SPPHOSP, SPGLUC

hormon dalam serum : SRLH = LH ; SRFSH = FSH ; SRTEST = testosteron
enzim dalam seminal plasma : SPFRUCT = Fruktose ; SPPHOSP = fosftase
SPGLUC = alfa glukosidase

KONC = Konsentrasi/cc

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	2170.597	6	361.766	1.842	.102
SRLH	89.868	1	89.868	.458	.501
SRFSH	739.096	1	739.096	3.763	.056
SRTEST	1.948	1	1.948	.010	.921
SPFRUCT	6.574	1	6.574	.033	.855
SPPHOSP	1112.503	1	1112.503	5.664	.020
SPGLUC	3.424	1	3.424	.017	.895
Main Effects	164.069	1	164.069	.835	.364
IMX2	164.069	1	164.069	.835	.364
Explained	2424.526	7	346.361	1.763	.107

KONEJ = Konsentrasi/ejakulat

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	29832.299	6	4972.050	1.826	.105
SRLH	3797.432	1	3797.432	1.395	.241
SRFSH	10357.884	1	10357.884	3.804	.055
SRTEST	324.813	1	324.813	.119	.731
SPFRUCT	1113.613	1	1113.613	.409	.524
SPPHOSP	13022.603	1	13022.603	4.783	.032
SPGLUC	273.004	1	273.004	.100	.752
Main Effects	1495.591	1	1495.591	.549	.461
IMX2	1495.591	1	1495.591	.549	.461
Explained	30361.825	7	4337.404	1.593	.150

MOTN = motilitas normal

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	1716.938	6	286.156	1.304	.266
SRLH	200.862	1	200.862	.915	.342
SRFSH	15.185	1	15.185	.069	.793
SRTEST	652.875	1	652.875	2.974	.089
SPFRUCT	702.407	1	702.407	3.200	.078
SPPHOSP	22.082	1	22.082	.101	.752
SPGLUC	100.666	1	100.666	.459	.500
Main Effects	848.312	1	848.312	3.865	.053
IMX2	848.312	1	848.312	3.865	.053
Explained	4040.235	7	577.176	2.630	.017

Lampiran 3.7

ANALYSIS OF VARIANCE

KUALITAS SEMEN

All variable by IMX2 with SRLH, SRFSH, SRTEST, SPFRUCT, SPPHOSP, SPGLUC

hormon dalam serum : SRLH = LH ; SRFSH = FSH ; SRTEST = testosteron
enzim dalam seminal plasma : SPFRUCT = Fruktose ; SPPHOSP = fosftase
SPGLUC = alfa glukosidase

AKN = akrosom normal

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	3871.864	6	645.311	2.406	.035
SRLH	1138.450	1	1138.450	4.244	.043
SRFSH	106.980	1	106.980	.399	.530
SRTEST	763.428	1	763.428	2.846	.096
SPFRUCT	1109.433	1	1109.433	4.136	.045
SPPHOSP	86.768	1	86.768	.323	.571
SPGLUC	445.764	1	445.764	1.662	.201
Main Effects	1200.548	1	1200.548	4.475	.038
IMX2	1200.548	1	1200.548	4.475	.038
Explained	6830.482	7	975.783	3.637	.002

RAKA = reaksi akrosom A

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	5637.874	6	939.646	2.276	.045
SRLH	1199.358	1	1199.358	2.906	.092
SRFSH	863.539	1	863.539	2.092	.152
SRTEST	1190.806	1	1190.806	2.885	.093
SPFRUCT	129.547	1	129.547	.314	.577
SPPHOSP	851.179	1	851.179	2.062	.155
SPGLUC	514.685	1	514.685	1.247	.268
Main Effects	543.645	1	543.645	1.317	.255
IMX2	543.645	1	543.645	1.317	.255
Explained	6415.119	7	916.446	2.220	.041

RAKB = reaksi akrosom B

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	186.383	6	31.064	.449	.843
SRLH	8.299	1	8.299	.120	.730
SRFSH	27.642	1	27.642	.400	.529
SRTEST	14.596	1	14.596	.211	.647
SPFRUCT	.015	1	.015	.000	.988
SPPHOSP	39.770	1	39.770	.575	.451
SPGLUC	57.847	1	57.847	.836	.363
Main Effects	60.160	1	60.160	.870	.354
IMX2	60.160	1	60.160	.870	.354
Explained	234.961	7	33.566	.485	.843

lampiran 3.8

ANALYSIS OF VARIANCE

KUALITAS SEMEN

All variable by IMX2 with SRLH, SRFSH, SRTEST, SPFRUCT, SPPHOSP, SPGLUC

hormon dalam serum : SRLH = LH ; SRFSH = FSH ; SRTEST = testosteron
enzim dalama seminal plasma : SPFRUCT = Fruktose ; SPPHOSP = fosftase
SPGLUC = alfa glukosidase

RAKC = reaksi akrosom C

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	4623.970	6	770.662	2.137	.058
SRLH	1371.250	1	1371.250	3.803	.055
SRFSH	31.177	1	31.177	.086	.770
SRTEST	919.073	1	919.073	2.549	.114
SPFRUCT	1390.018	1	1390.018	3.855	.053
SPPHOSP	45.280	1	45.280	.126	.724
SPGLUC	885.457	1	885.457	2.456	.121
Main Effects	629.533	1	629.533	1.746	.190
IMX2	629.533	1	629.533	1.746	.190
Explained	6443.475	7	920.496	2.553	.020

RAKD = reaksi akrosom D

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	610.806	6	101.801	1.510	.186
SRLH	313.770	1	313.770	4.655	.034
SRFSH	32.832	1	32.832	.487	.487
SRTEST	154.763	1	154.763	2.296	.134
SPFRUCT	89.877	1	89.877	1.333	.252
SPPHOSP	2.878	1	2.878	.043	.837
SPGLUC	3.662	1	3.662	.054	.816
Main Effects	.225	1	.225	.003	.954
IMX2	.225	1	.225	.003	.954
Explained	628.194	7	89.742	1.331	.247

SPN = spermatozoa normal

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	3795.891	6	632.648	2.644	.022
SRLH	1303.054	1	1303.054	5.446	.022
SRFSH	16.619	1	16.619	.069	.793
SRTEST	804.807	1	804.807	3.364	.071
SPFRUCT	1066.931	1	1066.931	4.459	.038
SPPHOSP	217.232	1	217.232	.908	.344
SPGLUC	383.197	1	383.197	1.602	.209
Main Effects	965.729	1	965.729	4.037	.048
IMX2	965.729	1	965.729	4.037	.048
Explained	6303.776	7	900.539	3.764	.001

lampiran 3.9

ANALYSIS OF VARIANCE

All variable by IMX2

IMX2 = infeksi *Chlamydia trachomatis*

ASA = anti sperm antibodi

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	4405.088	1	4405.088	57.860	.000
IMX2	4405.088	1	4405.088	57.860	.000
Explained	4405.088	1	4405.088	57.860	.000

SRIGA = IgA (serum)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	386867.046	1	386867.046	54.079	.000
IMX2	386867.046	1	386867.046	54.079	.000
Explained	386867.046	1	386867.046	54.079	.000

SRIGG = IgG (serum)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	3745337	1	3745336.753	38.492	.000
IMX2	3745337	1	3745336.753	38.492	.000
Explained	3745337	1	3745336.753	38.492	.000

SRIGM = IgM (serum)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	96830.518	1	96830.518	18.806	.000
IMX2	96830.518	1	96830.518	18.806	.000
Explained	96830.518	1	96830.518	18.806	.000

lampiran 3.10

ANALYSIS OF VARIANCE

All variable by IMX2

IMX2 = infeksi *Chlamydia trachomatis*

SPIGA = IgA (seminal plasma)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	8749.085	1	8749.085	170.303	.000
IMX2	8749.085	1	8749.085	170.303	.000
Explained	8749.085	1	8749.085	170.303	.000

SPIGG = IgG (seminal plasma)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	2404.682	1	2404.682	3.605	.061
IMX2	2404.682	1	2404.682	3.605	.061
Explained	2404.682	1	2404.682	3.605	.061

SPIGM = IgM (seminal plasma)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	19.603	1	19.603	17.938	.000
IMX2	19.603	1	19.603	17.938	.000
Explained	19.603	1	19.603	17.938	.000

EFFECT .. IMX2

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 38)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.01207	.47650	2.00	78.00	.623
Hotellings	.01222	.47650	2.00	78.00	.623
Wilks	.98793	.47650	2.00	78.00	.623
Roys	.01207				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. IMX2 (Cont.)

Univariate F-tests with (1,79) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MOTN	180.22853	16299.3340	180.22853	206.32068	.87354	.353
SPN	187.03891	20825.1237	187.03891	263.60916	.70953	.402

lampiran 3.11

ANALYSIS OF VARIANCE

MOTN = Motilitas normal by IMX2
with SRIGA, SRIGG, SRIGM, SPIGA, SPIGG, SPIGM, ASA

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Covariates	3323.186	7	474.741	2.359	.031
SRIGA	288.885	1	288.885	1.435	.235
SRIGG	.330	1	.330	.002	.968
SRIGM	13.522	1	13.522	.067	.796
SPIGA	536.068	1	536.068	2.664	.107
SPIGG	210.935	1	210.935	1.048	.309
SPIGM	286.668	1	286.668	1.424	.236
ASA	2250.570	1	2250.570	11.183	.001
Main Effects	45.218	1	45.218	.225	.637
IMX2	45.218	1	45.218	.225	.637
Explained	5646.483	8	705.810	3.507	.002
Residual	15294.693	76	201.246		
Total	20941.176	84	249.300		

85 cases were processed.
0 cases (.0 pct) were missing.

SR = serum : IgA, IgG, IgM SP = seminal plasma : IgA, IgG, IgM

EFFECT .. WITHIN+RESIDUAL Regression
Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1/2, N = 38)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.14229	1.51274	8.00	158.00	.157
Hotellings	.16036	1.54351	8.00	154.00	.147
Wilks	.85991	1.52854	8.00	156.00	.151
Roys	.12468				

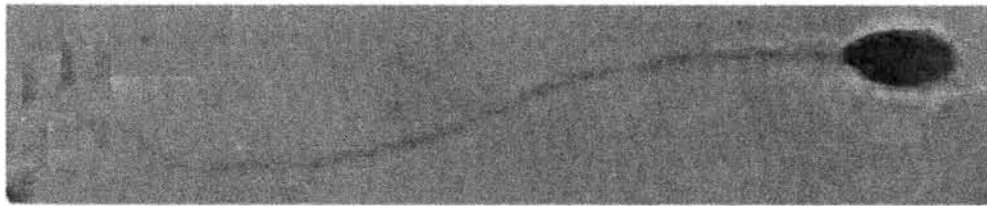
Note.. F statistic for WILKS' Lambda is exact.

EFFECT .. WITHIN+RESIDUAL Regression (Cont.)
Univariate F-tests with (4,79) D. F.

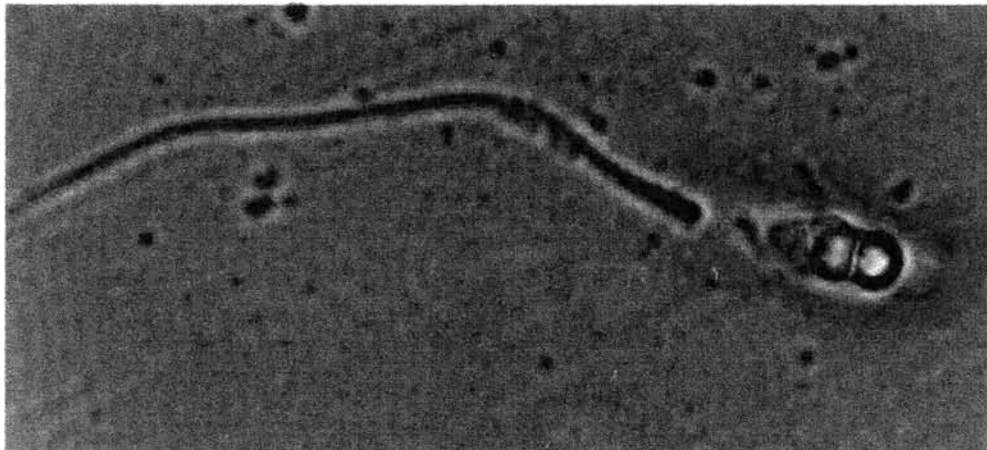
Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F
MOTN	2318.54576	16299.33398	579.63644	206.32068	2.80940
SPN	1392.94386	20825.12366	348.23596	263.60916	1.32103

Variable	Sig. of F
MOTN	.031
SPN	.269

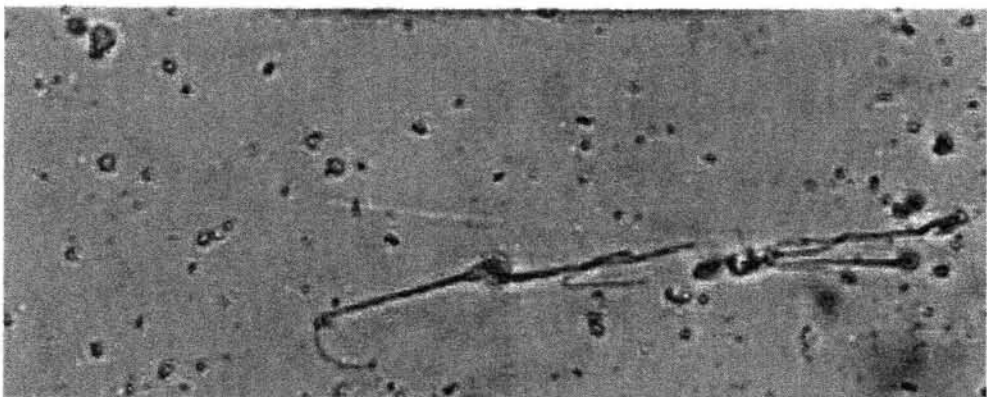
Lampiran Gambar 1



Gambar 1.1 Spermatozoa Normal (*Giemsa*)

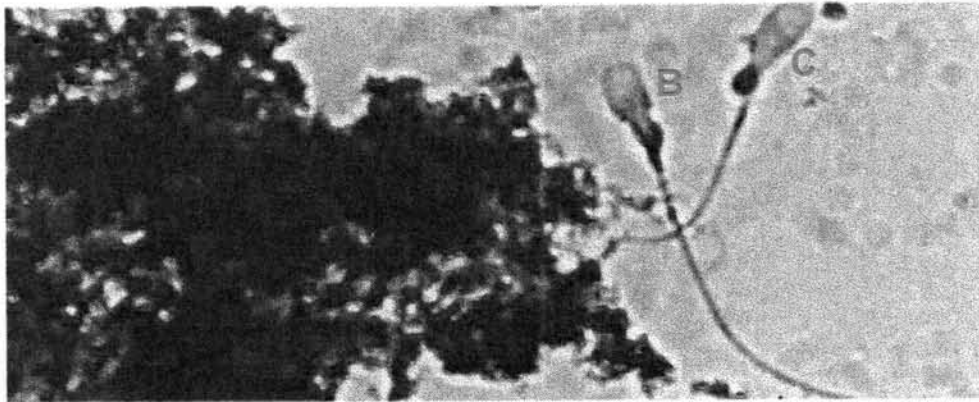


Gambar 1.2 Spermatozoa terperangkap partikel lateks (MAR direk)

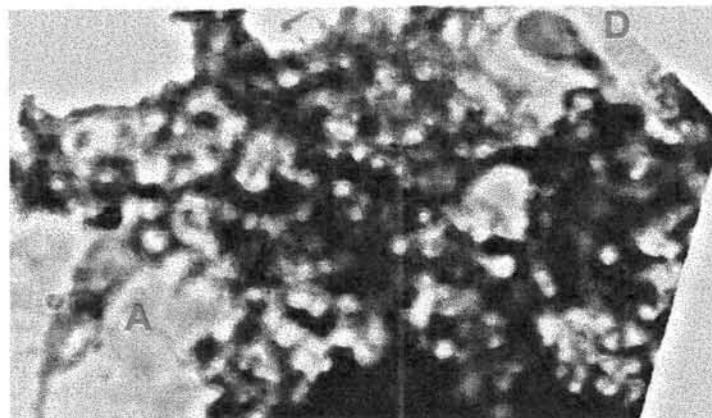


Gambar 1.3 Aglutinasi spermatozoa (preparat basah)

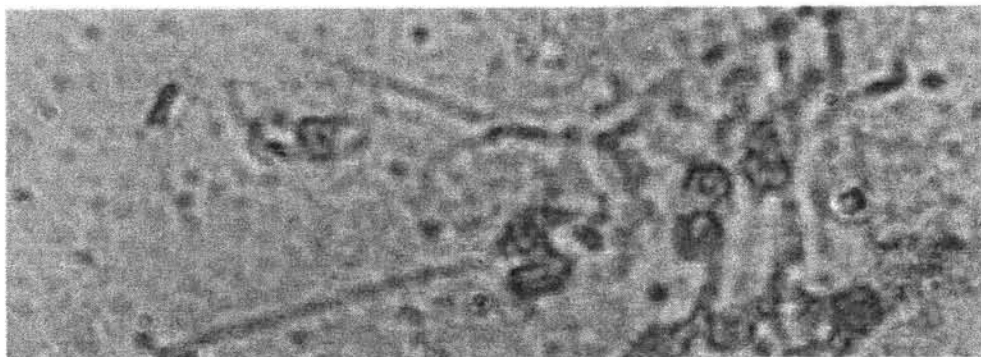
Lampiran Gambar 2



Gambar 2.1 Reaksi akrosom tipe B dan C (*triple stain*)

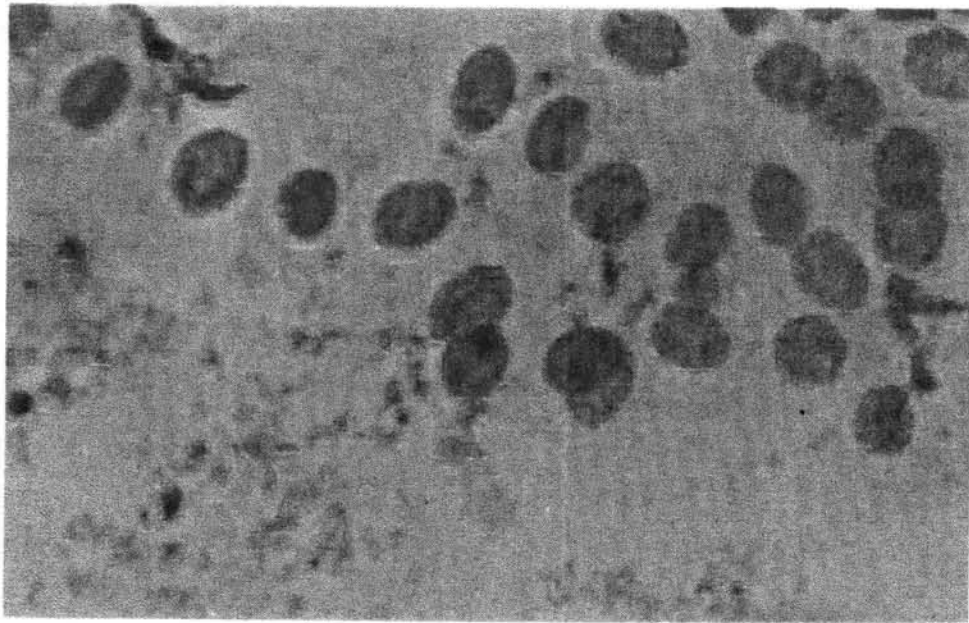


Gambar 2.2 Reaksi akrosom tipe A dan D (*triple stain*)

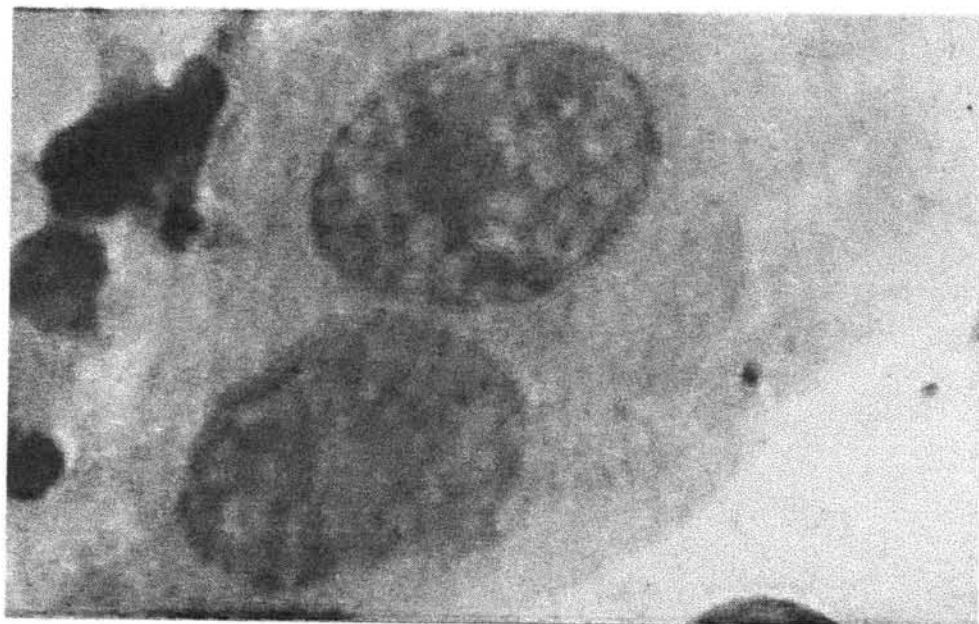


Gambar 2.3 EB *Chlamydia* lekat pada spermatozoa (metode *Giemsa*)

Lampiran Gambar 3

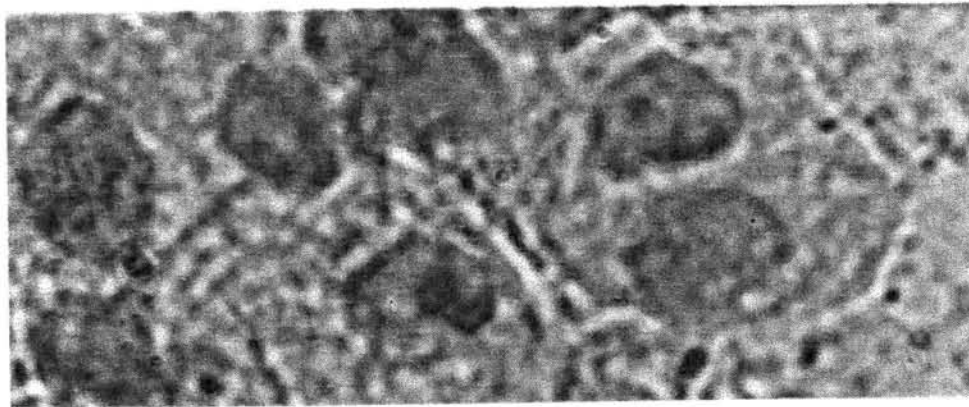


Gambar 3.1. EB *Chlamydia trachomatis* di jaringan epitel uretra (*Giemsa*)

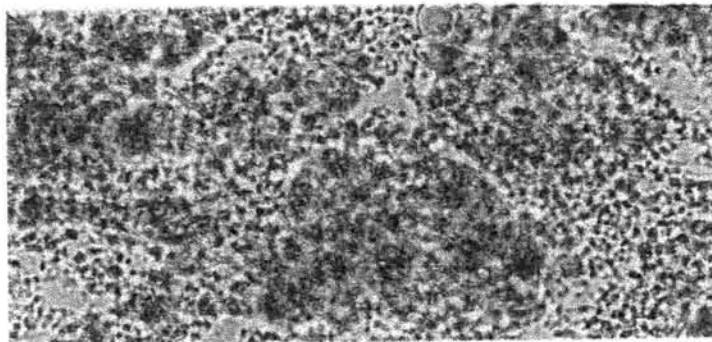


Gambar 3.2. EB *Chlamydia trachomatis* dalam epitel uretra (*Giemsa*)

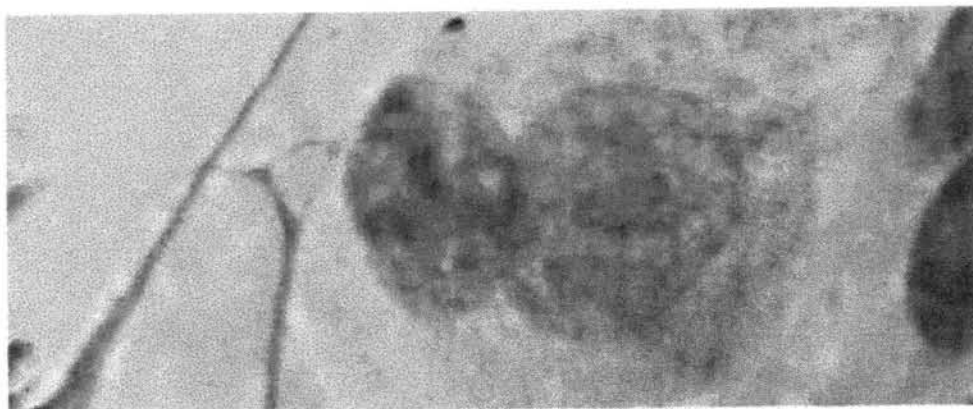
Lampiran Gambar 4



Gambar 4.1. *Chlamydia trachomatis* dalam jaringan yolk sac (Giemsa)



Gambar 4.2. *Chlamydia trachomatis* dalam jaringan yolk sac (iodine)



Gambar 4.3. EB *Chlamydia trachomatis* dalam sel jaringan yolk sac (iodine)

Lampiran kerja 1

Pemeriksaan antigen *Chlamydia trachomatis* dengan IMx.**1. *Chlamydia trachomatis* :**

Reagen :

1. IMx select *Chlamydial reagen pack* :Antibodi *C.trachomatis* (0,2 µg/ml, rabbit, diawetkan 0,1% sodium azide).2. IMx select *Chlamydial extended reagen pack*

Mikropartikel diawetkan dalam 0,1% sodium azide.

3. IMx select *Chlamydial Mode I Calibrator*.Bufer : saline fosfat dengan detergen, tidak reaktif terhadap *Chlamydial* dan diawetkan dalam 0,1% sodium azide.4: IMx select *Chlamydial specimen extraction buffer*.

Bufer : saline fosfat diawetkan dalam 0,1% sodium azide.

Cara kerja :

Sebelum dilakukan pemeriksaan pada sampel, alat dipersiapkan untuk menguji kontrol dan sistem *Mode I Calibrator*, apabila diterima oleh alat maka dikerjakan pada sampel, dengan cara sebagai berikut :

150 µl kontrol (+) dan 150 µl kontrol (-), masing-masing dimasukkan ke *labelled test tube* dan ditambahkan 1,2 ml bufer IMx select *Chlamydia specimen extraction*. Kemudian divorteks selama 15 detik, setelah itu dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 100°C selama 10-15 menit. Setelah dipanaskan, kontrol (+) dimasukkan ke dalam STD filtration system.

Spesimen penderita berasal dari *swab endouretral* yang menggunakan stik kapas IMx, setelah pengambilan stik dimasukkan ke dalam *labelled test tube*, kemudian dilakukan proses seperti pada kontrol.

Kemudian spesimen penderita dan kontrol dimasukkan ke dalam alat dan alat secara otomatis akan mendeteksi.

Hasil yang didapat adalah kalkulasi *ratio sample rate* dengan *Mode I calibrator rate* = S/N value dengan hasil : spesimen S/N > 1,5 antigen *Chlamydial* (+)

Lampiran kerja 2

2. Hormon :

Pada penelitian ini hormon yang diperiksa adalah FSH, LH dan testosteron.

Reagen :

1. IMx reagen pack : FSH, LH dan testosteron
2. IMx reaction cells untuk semua hormon sama.

Sebelum dilakukan pemeriksaan pada sampel, alat dipersiapkan untuk menguji kontrol dan sistem *Mode 1 Calibrator*, apabila diterima oleh alat maka dikerjakan pada sampel, dengan cara sebagai berikut :

Misal pemeriksaan LH

Reaction cells tube + 200 μ serum penderita, *reagent pack tube* yang berisi LH dan *Mode 1 Calibrator*. Semua tube ini diletakkan pada alat dan alat akan bekerja otomatis sampai hasil didapatkan.

Pemeriksaan antibodi dengan Immunoturbidimetri

Pemeriksaan IgA, IgG dan IgM total dalam serum dan plasma semen.

Reagen :

1. Reagen standar dalam *standart tube*
2. Reagen kontrol
3. Reagen *Calibration*

Cara kerja :

Sebelum dilakukan pemeriksaan pada sampel, maka dilakukan uji pada kontrol dan kalibrasi serta menentukan harga terendah sampai tertinggi pada standar.

Apabila kalibrasi ini diterima alat, maka dilakukan pemeriksaan pada sampel, dengan langkah sebagai berikut : Misal pemeriksaan IgG pada serum.

500 μ serum (minimal 200 μ) dimasukkan ke dalam tube, kemudian diletakkan pada alat bersama tube untuk uji, alat akan menentukan sendiri kebutuhan sampel dalam proses ini secara otomatis hingga di dapatkan hasil.

Lampiran kerja 3

Pemeriksaan dengan metode spektrometer.**1. Fruktosa :**

Tabung reaksi I diisi 0,02 ml semen, tabung II diisi 0,02 ml larutan standar, kemudian masing-masing ditambah dengan 2ml resorcinol alkohol 96% dan 1,0 ml Hcl pekat. Setelah itu dimasukkan ke dalam air dengan suhu 80°C selama 30 menit. Kemudian tabung reaksi dimasukkan ke dalam spektrometer dan di dapatkan hasil sebagai berikut :

$$\frac{\text{hasil sampel /}}{\text{hasil standar x}} \times 5,6 \times \text{volume semen. Normal} > 50 \text{ m}\mu\text{/ejakulat.}$$

2. Alfa glukosidase :

Tabung reaksi I diisi 0,05 ml semen, tabung II (blanko), masing-masing ditambah dengan 0,25 ml substrat alfa glukosidase, kemudian dimasukkan ke dalam air panas dengan suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu setiap tabung ditambah 2,5 ml Na₂CO₃ dan diperiksa pada spektrometer dengan hasil sebagai berikut : Hasil x volume semen. Harga normal > 50 mμ/ejakulat.

3. Fosfatase :

Dilakukan pengenceran pada semen dengan aquades (0,05 ml semen + 5 ml aquades). Dari larutan pengenceran tersebut diambil 0,02 ml kemudian ditambah dengan 1,0 ml substrat fosfatase dan dimasukkan ke dalam air dengan suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu ditambah dengan 10 ml NaOH dan dilakukan pemeriksaan pada spektrometer. Hasil yang didapat sebagai berikut :

$$\frac{\text{Hasil}}{\text{-----}} \times 200. \text{ Harga normal} > 1000 \mu\text{/ml.}$$

72

FORMULIR PERSETUJUAN*(Inform Consent)*

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama :

Umur :

Jenis kelamin :

Alamat :

Pekerjaan :

Setelah mendengar keterangan serta menyadari manfaat penelitian yang berjudul : **PENGARUH INFEKSI *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*****DI URETRA TERHADAP KUALITAS SEMEN****(Studi Eksperimental *In Vitro*)**

dengan sukarela menyetujui diikut sertakan sebagai sampel penelitian ini.

Surabaya, Nopember 1996

Penanggung jawab penelitian

Menyetujui :

Peserta :

Tjandrakirana MS Noer, dr, M.S.

.....

Mengetahui :

.....