

1. BACTERIA.

2. SPERMATOZOA

IB-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KIK

TKR 02/06

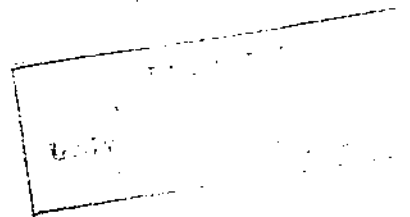
Suk

P

TESIS

PENGARUH SPESIES BAKTERI DAN RATIO SPERMATOZOA / BAKTERI TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MANUSIA SECARA IN VITRO

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



SUKARJATI

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999

**PENGARUH SPESIES BAKTERI DAN RATIO
SPERMATOZOA / BAKTERI TERHADAP KUALITAS
SPERMATOZOA MANUSIA SECARA IN VITRO**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**SUKARJATI
NIM. 099612277 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 22 Maret 1999**

**Oleh
Pembimbing ketua**



**Aucky Hinting, Ph.D., dr
NIP. 130873509**

Pembimbing



**Prof. Atasiati Idadjadi, Sp MK., dr.
NIP. 130128215**

**Mengetahui Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Aucky Hinting, Ph.D., dr.
NIP. 130873509**

Telah diuji pada

Tanggal 5 Maret 1999

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. IGB. Amitaba, drh.

Anggota : 1. Prof. DR. Kuntjoro Soehadi, dr.
2. Prof. Atasiati Idadjadi , Sp.MK., dr.
3. Aucky Hinting , Ph.D., dr.
4. Cholil Munif, dr.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

Terima kasih kepada Pemerintah Republik Indonesia melalui Tim Manajemen Program Doktor, Direktorat Jendral 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 ijin 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, dr., yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Terima kasih kepada Rektor Universitas PGRI Adibuana Surabaya Prof. Soelaiman Yusuf, drs, dan mantan Rektor IKIP PGRI Surabaya H.A. Hudan Dardiri yang telah memberikan ijin kepada saya untuk dapat melanjutkan pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Aucky Hinting, dr., Ph.D., selaku pembimbing utama yang dengan sabar, penuh perhatian dan tulus ikhlas meluangkan waktu disela-sela kesibukannya untuk memberikan dorongan, bimbingan, petunjuk dan saran hingga terselesainya penelitian dan penulisan Tesis ini.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Atasiati Idadjadi Sp. MK, dr., selaku pembimbing yang dengan sabar, penuh perhatian dan tulus ikhlas meluangkan waktu disela-sela kesibukannya untuk memberikan dorongan, bimbingan, petunjuk dan saran hingga terselesainya penelitian dan penulisan Tesis ini.

Terima kasih kepada Staf Pengajar Program Pascasarjana khususnya staf pengajar program studi Ilmu Kesehatan Reproduksi yang dengan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan selama saya menempuh pendidikan .

Terima kasih kepada Dekan FMIPA dan Ketua Jurusan Biologi Universitas Airlangga yang telah memberikan tempat dan fasilitas kepada saya selama penelitian.

Terima kasih kepada Cholil Munif dr., atas kesediaanya sebagai konsultan dalam bidang statistik.

Terima kasih tak terhingga kepada Joko S dr., atas bantuan beliau selama saya melakukan penelitian .Terima kasih kepada Amalia A Md, Staf Klinik Infertilitas RS. Budi Mulya Surabaya khususnya Rini Catur Darmi A Md dan Maria Dra. atas bantuannya selama saya melakukan penelitian ini.

Untuk sobat Alfiah Hayati Dra., Tony Winata dr., Anang S dr., terima kasih atas kerja sama yang baik selama menempuh pendidikan ini.

Kehadapan yang mulia ibunda Ponisih dan almarhum ayahanda Deri , saya menghaturkan terima kasih yang tiada terhingga atas segala bimbingan yang tulus penuh kasih sayang, dan doanya serta bantuan moril dan materiil sejak lahir sampai sekarang , bahkan sampai saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Kehadapan mertua ibunda dan ayahanda H. Abd. Wakhid, saya menghaturkan terima kasih atas segala bantuan moril dan materiil serta doanya hingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Terima kasih kepada kakak dan adik kandung serta adik ipar atas doa, bantuan moril dan materiil selama saya menyelesaikan pendidikan ini

Dengan tulus saya mengucapkan terima kasih kepada suami tercinta Ahmad Umar Lutfi atas pengorbanan dan pengertiannya serta doanya yang tulus dan penuh kasih sayang telah memberikan perhatian hingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini

Dengan rasa sayang ibu ucapkan terima kasih kepada ananda tercinta Fifin dan Dhella atas pengertianmu selama ibu menyelesaikan pendidikan ini.

Saya mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang sulit disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

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

Ringkasan

Pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa /bakteri terhadap kualitas spermatozoa telah diteliti secara *in vitro*. Spesies bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*. *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* diperoleh dengan mengkultur semen pria infertil yang berkunjung ke klinik infertilitas RS. Budi Mulya Surabaya, sedang *E. coli* diperoleh dengan mengkultur cairan prostat pria penderita prostat dan gangguan instrumen saluran kencing yang berkunjung ke Poli Urologi R.S. Dr. Soetomo Surabaya.

Spermatozoa yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah yang memenuhi kriteria WHO, 1992 sejumlah 6 sampel. Spermatozoa di persiapkan dengan metode kolom bertingkat Percoll. Spermatozoa yang telah dipersiapkan tersebut selanjutnya di inokulasi dengan *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli* dengan ratio spermatozoa/ bakteri awal 1:10 dan 1:1000. Inkubasi spermatozoa-bakteri dilakukan pada mikroplate.

Pengamatan terhadap motilitas dan aglutinasi spermatozoa di lakukan pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam setelah inokulasi dengan menggunakan mikroskop inverted. Pada eksperimen ke dua, pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa di cegah dengan penambahan antibiotik penisilin .

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *Randomized Control Group Extended Post Test Only Design*. Data yang terkumpul di analisis dengan Anova faktorial sama subyek, yang apabila hasilnya bermakna dilanjutkan dengan uji efek lugas.

Hasil penelitian ini di dapat bahwa ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/ bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a ($p < 0,05$) dan a+b ($p < 0,05$) setelah 3 jam dan 6 jam inkubasi. Di banding dengan kontrol, *Staphylococcus epidermidis* berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 setelah 6 jam inkubasi (62,167 vs 70,833, $p < 0,05$), *Streptococcus faecalis* berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1 :10 (59,667 vs 74,167 , $p < 0,05$) dan 1:1000 (65,667 vs 74,167 , $p < 0,05$) setelah 6 jam inkubasi, *Enterobacter aerogenes* berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 setelah 6 jam inkubasi (51,833 vs 65,833, $p < 0,05$), sedangkan *E. coli* berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b baik pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 (51,000 vs 78,667 , $p < 0,05$), 1:1000 (61,500 vs 78,667 , $p < 0,05$) setelah 3 jam inkubasi dan setelah 6 jam inkubasi pada ratio spermatozoa 1:10 (27,667 vs 68,333, $p < 0,05$) , 1:1000 (36,167 vs 68,333, $p < 0,05$)

Kesimpulan penelitian ini adalah ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/ bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a dan a+b pada 3 jam dan 6 jam inkubasi. Bila dibanding kontrol ,*Staphylococcus epidermidis*,*Enterobacter*

aerogenes pada ratio spermatozoa / bakteri 1:10 , *Streptococcus faecalis* pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 dan 1:1000 berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa setelah 6 jam inkubasi, sedang *E. coli* berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa setelah 3 jam dan 6 jam inkubasi. Spesies bakteri yang paling menurunkan motilitas spermatozoa adalah *E. coli* yang terjadi pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 setelah 6 jam inkubasi. Penambahan antibiotik tidak mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa. Semakin lama inkubasi dan semakin tinggi ratio spermatozoa/ bakteri prosentase penurunan motilitas spermatozoa semakin besar. *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis* tidak menyebabkan aglutinasi spermatozoa. *Enterobacter aerogenes* menyebabkan aglutinasi spermatozoa pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 setelah 6 jam inkubasi. *E. coli* menyebabkan aglutinasi spermatozoa baik pada ratio spermatozoa / bakteri 1:10 dan 1:1000 setelah 3 jam dan 6 jam inkubasi.

ABSTRACT

Key words : Species of bacteria

Sperm/bacteria ratio

Sperm quality

The effect of some species of bacteria and sperm/bacteria ratio on sperm quality has been studied. Four species of bacteria were used in this study : *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* were obtained from semen culture of infertile men and *E. coli* was obtained from prostatic fluid culture from men with prostat and urinary system disturbances.

Six semen samples fulfilling the WHO criteria (1992) were used in this study. After preparation by Percoll gradient-column method, sperm were inoculated in a microplate with *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* under the sperm/bacteria ratio 1:10 and 1:1000.

Sperm motility and agglutination was observed immediately, 3 and 6 hours after inoculation using an inverted microscope. At the second experiment, the detrimental influence of bacteria on sperm was prevented by adding penicillin.

The design of this study was Randomized Control Group Extended Post Test Only Design. Collected data were analyzed by Anova same subject factorial, of which they would be examined futher by simple effect test , if the result was significant.

The result of this research indicated that species of bacteria and sperm/bacteria ratio affecting the sperm motility grade a ($p < 0,05$) and a+b ($p < 0,05$) after 3 and 6 hours of incubation.

Conclusion of this research indicated that species of bacteria and sperm/bacteria ratio affecting the sperm motility grade a and a+b in 3 and 6 hours after incubation. *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* affecting the sperm motility in 6 hours after incubation, whereas *E. coli* affecting the sperm motility in 3 and 6 hours after incubation. The most detrimental effect on sperm motility was shown by *E. coli* at the ratio of sperm/bacteria 1:10 after 6 hours incubation. This detrimental effect was not prevented by the addition of penicillin. It appears that longer incubation period and higher sperm/bacteria ratio may cause lower sperm motility. Concerning sperm agglutination, *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus faecalis* didn't show any, whereas *Enterobacter aerogenes* at sperm/bacteria ratio 1:10 cause sperm agglutination after 6 hours of incubation, and *E. coli* cause sperm agglutination after 3 and 6 hours of incubation.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR BAGAN	viii
DAFTAR GRAFIK.....	ix
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang masalah	1
1.2 Rumusan masalah	9
1.3 Tujuan penelitian	9
1.4 Manfaat penelitian	10
2. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Pengaruh infeksi traktus genitalis terhadap kualitas spermatozoa...	11
2.1.1 Penurunan jumlah spermatozoa.....	12
2.1.1.1 Oleh karena fagositosis.....	12
2.1.1.2 Oleh karena sumbatan partial	13
2.1.2 Penurunan motilitas spermatozoa	14
2.1.2.1 Adanya perlekatan bakteri	14
2.1.2.2 Adanya zat dari fagosom	15
2.1.2.3 Oleh karena berubahnya lingkungan hidup spermatozoa	17
2.1.2.4 Viskositas spermatozoa yang meningkat	19
2.1.2.5 Bertambahnya morfologi spermatozoa abnormal.....	20
2.1.3 Berkurangnya viabilitas spermatozoa	21
2.1.4 Timbulnya antisperma antibodi.....	21
2.1.5 Berkurangnya kemampuan fertilisasi	21

2.2	Mekanisme terjadinya infeksi traktus genitalis pria	21
2.3	Spermatozoa.....	25
2.3.1	Morfologi spermatozoa	25
2.3.2	Metabolisme spermatozoa	29
2.3.4	Motilitas spermatozoa	30
2.3.4	Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa	33
2.4	Anatomi fungsional kelenjar seks asesori pria	34
2.5	Flora normal traktus genitourinarius	37
2.6	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Enterobacteraerogenes E. coli</i>	38
2.7	Pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa manusia	41
3.	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	45
3.1	Kerangka konseptual	45
3.2	Hipotesis	48
4.	METODE PENELITIAN	50
4.1	Rancangan penelitian	50
4.2	Populasi dan sampel	52
4.2.1	Populasi.....	52
4.2.2	Sampel	52
4.3	Variabel penelitian dan definisi operasional variabel.....	54
4.3.1	Variabel penelitian	54
4.3.2	Definisi operasional variabel	54
4.4	Bahan dan alat penelitian	55
4.4.1	Bahan penelitian	55
4.4.2	Alat penelitian	56
4.5	Lokasi dan waktu penelitian	56
4.6	Prosedur pengambilan atau pengumpulan data	57
4.6.1	Persiapan bakteri	57

4.6.2	Persiapan spermatozoa	61
4.6.3	Pencampuran/perlakuan spermatozoa dengan bakteri	63
4.7	Pengamatan.....	65
4.8	Analisis data	68
5.	HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN	70
5.1	Data analisis sperma sebelum dan sesudah dicuci dengan metode kolom bertingkat Percoll.....	70
5.2	Data dan analisis data motilitas spermatozoa.....	71
5.2.1	Motilitas spermatozoa kategori a	71
5.2.2	Motilitas spermatozoa kategori a+b	76
5.3.	Data dan analisis data tentang perbandingan motilitas spermatozoa spesies bakteri dan ratio spermatozoa/ bakteri yang berbeda antara yang diberi antibiotik dan tanpa antibiotik	83
5.4	Data dan analisis data tentang prosentase penurunan motilitas spermatozoa kategori a, dan a+b pada masing-masing spesies bakteri	88
5.5	Perbandingan regresi sebagai fungsi waktu pada motilitas spermatozoa kategori a,a+b pada spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda antara yang diberi antibiotik dan tanpa antibiotik.....	91
5.6.	Data dan analisis data tentang aglutinasi spermatozoa.....	98
6	PEMBAHASAN.....	100
7.	SIMPULAN DAN SARAN	114
7.1	Simpulan.....	114
7.2	Saran	115
	DAFTAR PUSTAKA	116
	LAMPIRAN	123

DAFTAR TABEL**Halaman**

Tabel 5.1 : Hasil analisis spermatozoa sebelum dan sesudah Pencucian spermatozoa Dengan metoda kolom bertingkat Percoll.....	70
Tabel 5.2 : Data rerata motilitas spermatozoa kategori a pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa /bakteri yang berbeda pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam	71
Tabel 5.3 : Hasil uji beda rerata pengaruh antar spesies bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a pada 0jam, 3jam dan 6 jam.....	72
Tabel 5.4 : Hasil uji beda rerata pengaruh antar ratio spermatozoa/ bakteri terhadap spermatozoa kategori a pada 0 jam, 3jam dan 6 jam.....	73
Tabel 5.5 : Uji beda rerata pengaruh faktor 1 terhadap faktor 2 pada motilitas kategori a.....	74
Tabel 5.6: Uji beda rerata pengaruh faktor 2 terhadap faktor 1 pada motilitas kategori a.....	75
Tabel 5.7 : Data rerata motilitas spermatozoa kategori a+b pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa /bakteri yang berbeda pada 0jam,3jam dan 6 jam	76
Tabel 5.8 : Hasil uji beda rerata pengaruh antar spesies bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b pada 0jam, 3jam dan 6 jam.....	77

Tabel 5.9 : Hasil uji beda rerata pengaruh ratio spermatozoa / bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b pada 0jam, 3 jam dan 6 jam.....	78
Tabel 5.10 : Uji beda rerata pengaruh faktor 1 terhadap faktor 2 pada motilitas spermatozoa kategori a+b.....	79
Tabel 5.11 : Data uji beda rerata pengaruh faktor 2 terhadap faktor 1 terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b	80
Tabel 5.12 : Data perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 dan 1:10+Ab pada <i>Staphylococcus epidermidis</i>	83
Tabel 5.13 : Data rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 dan 1:10+ab pada <i>Streptococcus faecalis</i>	84
Tabel 5.14 : Data rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 dan 1:10+ab pada <i>Enterobacter aerogenes</i>	84
Tabel 5.15 : Data rerata motilitas spermatozoa kategori a, dan a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 dan 1:10+ab pada <i>E. coli</i>	85
Tabel 5.16 : Data perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:1000 dan 1:1000+ab pada <i>Staphylococcus epidermidis</i>	85
Tabel 5.17 : Data perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:1000 dan 1:1000+ab <i>Streptococcus faecalis</i>	86
Tabel 5.18 : Data perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:1000 dan 1:1000+ab <i>Enterobacter aerogenes</i>	86

Tabel 5.19 : Data perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:1000 dan 1:1000+ab pada <i>E. coli</i>	87
Tabel 5.20 : Perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a, a+b antara kontrol dan kontrol +ab.....	87
Tabel 5.21: Data prosentase penurunan motilitas spermatozoa kategori a pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda pada jam, 3jam 6jam.....	88
Tabel 5.22 : Data prosentase penurunan motilitas spermatozoa Kategori a+ b pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda pada 0jam, 3 jam dan 6 jam.....	89
Tabel 5.23 : Data prosentase penurunan motilitas kategori a pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa /bakteri yang berbeda dengan penambahan antibiotik...	90
Tabel 5.24 : Data prosentase penurunan motilitas kategori a+ b pada Inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri ratio sperma/ bakteri yang berbeda dengan penambahan antibiotik.....	91

DAFTAR GAMBAR

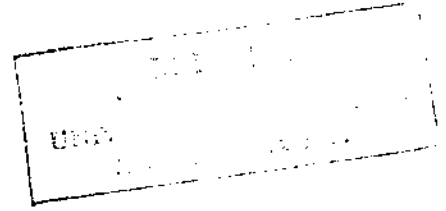
	Halaman
Gambar 2.1 : Morfologi spermatozoa normal pada mamalia	28
Gambar 2.2 : Morfologi spermatozoa abnormal	29
Gambar 2.3 : Struktur ekor spermatozoa dengan pola dasar axonema 9+2 ...	32
Gambar 2.4 : Sistem reproduksi pria	39
Gambar 4.1 : Gambar mikroskop inverted	56
Gambar 5.1 : Gambar aglutinasi spermatozoa	99

DAFTAR BAGAN

	Halaman
Bagan 2.1: Pengaruh peroxida terhadap kualitas spermatozoa.....	17
Bagan 3.1 : Bagan kerangka konseptual	49
Bagan 4.1 : Bagan rancangan penelitian Randomized Control Group Extended Post Test Only Design	51
Bagan 4.2 : Bagan langkah kerja eksperimen 1	66
Bagan 4.3 : Bagan langkah kerja eksperimen 2	67

BAB I

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Infeksi traktus genitalis telah diakui sebagai penyebab infertilitas (Megory, 1987). Infeksi traktus genitalis berperan dalam infertilitas pria, karena (a) secara langsung berpengaruh pada spermatozoa atau (b) secara tidak langsung menghasilkan obstruksi atau lesi *non destructive* pada duktus ekskretori, lesi pada kelenjar seks aksesori atau akhirnya menyebabkan timbulnya antibodi anti sperma (ASA) (Auroux et al, 1991). Di samping itu adanya infeksi traktus genitalis juga menyebabkan terjadinya respon inflamasi. Adanya inflamasi menyebabkan sel darah putih dan sekret yang dihasilkannya akan mengganggu spermatozoa melalui mekanisme seperti fagositosis, spesies oksigen reaktif, kerusakan protease dan sitokine dapat terjadi secara *in vivo* (Berger et al, 1982; Wolff et al, 1990) dan *in vitro* (Maruyama et al, 1985; Hill et al, 1987).

Akibat lain dari infeksi bakteri pada traktus genitalis adalah terjadinya penurunan motilitas spermatozoa (Gopalkrishnan et al, 1988), terjadi perubahan morfologi spermatozoa karena disintegrasi dari bakteri (Gopalkrishnan et al, 1989) atau juga mengakibatkan terjadinya perubahan hormon regulator yang rusak karena toksin yang di keluarkan bakteri dimana hormon ini bertanggung jawab untuk fungsi dan struktur yang normal dari spermatozoa (Gopalkrishnan, 1994). Disamping itu

gangguan motilitas ini juga disebabkan karena terjadi gangguan produk intra selular dalam spermatozoa yaitu c-AMP (Allen dan Tuttle, Eldrige, 1979).

Terjadinya infeksi traktus genitalis ini disebabkan karena telah terjadi Infeksi Saluran Kemih (ISK). Infeksi saluran kemih ini mayoritas di sebabkan oleh bakteri. Ada 3 cara dimana bakteri dapat menyerbu dan menyebar dalam saluran kemih yaitu cara limpatik, hematogen dan cara asenden. Paling sering di hasilkan dari cara asenden dan jarang melalui cara hematogen (Sobel , 1991). Jika telah terjadi ISK, bisa saja mula-mula kelenjar prostat dan vesikula seminalis tidak terinfeksi, tetapi karena adanya mekanisme *intra-prostatic urinary refluks* pada waktu proses kencing berakhir maka infeksi yang ada pada urethra dan kandung kencing dapat masuk ke dalam kelenjar prostat dan vesikula seminalis. Mekanisme *intra-prostatic urinary refluks* ini telah dibuktikan terjadi secara *in vivo* (Kirby, et al, 1982).

Jika mikroorganisme masuk ke dalam kelenjar prostat yang kebetulan pada saat itu enzim lisosim, spermin dan lain-lain zat protektor terganggu keseimbangannya karena berbagai sebab, maka akan terjadi infeksi kelenjar prostat dan vesikula seminalis. Jika terjadi infeksi pada kelenjar seks aksesori maka mengakibatkan penurunan fungsi sekresi atau terjadi kerusakan total sampai ke gonad serta kelenjar seks aksesori dapat terjadi pada stadium lanjut dengan bakteri penyebab tidak lagi ditemukan (Megory, 1987). Akibat lain jika terjadi infeksi prostat dan vesikula seminalis adalah berubahnya komposisi cairan transpor spermatozoa dan akibatnya mengubah kemampuan fertilitasi spermatozoa, dimana cairan prostat dari pasien dengan prostatitis bakterial kronik adalah lebih alkali dan berisi kurang zinc,

asam sitrat dan fruktose dibanding dengan yang tidak terinfeksi (Fowler, 1983). Dengan demikian infeksi traktus genitalis pria menyebabkan tercemarnya lingkungan hidup spermatozoa sehingga kualitas dan kuantitas spermatozoa menurun, hal ini menyebabkan penurunan potensi fertilitas pada pria.

Mikroorganisme yang terbukti mencemari spermatozoa dan mengganggu spermatozoa serta sering menyebabkan infeksi traktus genitalis pria di bagi menjadi mikroorganisme patogen dan non patogen (Swenson et al, 1980). Mikroorganisme patogen adalah *E.coli*, *Proteus sp*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus haemoliticus*, *Clostridium sp*, *Candida albicans*, *N.gonorrhoe*. Yang non patogen adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Corrine bact. sp (Diphtheroids)*, *Lactobasilus*, *Ps.aeroginosa* dan lain bakteri yang tak disebutkan.

Mikroorganisme patogen dan non patogen mempunyai kemampuan yang berbeda. Mikroorganisme patogen dapat menghindari, mengganggu dan menghambat fagositosis oleh karena adanya *antiphagocytic capsules*. Mikroorganisme patogen sulit di fagosit, di samping itu juga memproduksi metabolit berupa enzim-enzim ekstrasel. Enzim tersebut beserta eksotoksin dan atau endotoksin akan dapat mengaktifasi komplemen sehingga timbul kemotaksis yang positif. Dengan adanya kemotaksis yang positif ini akan menarik lekosit lebih banyak dan mempertinggi fagositosis (Jawetz et al, 1986). Kemampuan kemotaksis ini bervariasi pada tiap-tiap spesies mikroorganisme.

Kebanyakan spesies mikroorganisme patogen bersifat invasif dan juga toksigenik. Daya invasi ini menyebabkan kuman patogen mampu memasuki jaringan induk semang dan berkembang biak serta menyebar ke jaringan lain (Jawetz et al, 1986).

Dari penelitian yang dilakukan oleh Bartoov et al (1991), dilaporkan bahwa mikroorganisme yang paling umum diantara bakteri patogen yang diisolasi dari semen pria pasangan infertil adalah *Ureaplasma urealyticum* (29,1%) dan *E.coli* (26,1%).

Dari hasil penelitian Wibowo (1989) tentang spermatozoa yang tercemar oleh mikroorganisme pada pasangan infertil di Surabaya di dapat bahwa dari kelompok serta yang terdiri 171 pasangan infertil dan 52 kelompok kontrol, di dapatkan *Streptococcus faecalis* 26,9% pada kelompok serta, 30,76% pada kelompok kontrol, *Staphylococcus epidermidis* 22,22% pada kelompok serta, 21,15% pada kelompok kontrol. *E.coli* baik pada kelompok serta maupun kelompok kontrol tidak di temukan (0%).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Tanojo (1991) tentang kultur semen pasangan infertil didapat bahwa dari 152 sampel semen yang terinfeksi bakteri patogen, bakteri patogen yang paling banyak adalah *Enterobacter aerogenes* (30,46%), *Streptococcus faecalis* (22,52%), *Aerobacter aerogenes* (18,54%), *Staphylococcus aureus* (17,22%), *Pseudomonas*(6,62%), *Escherichia coli* (3,31%) dan *Streptococcus viridans* (1,33%), dan bakteri non patogen yang diketemukan adalah *Staphylococcus epidermidis*.

Dari hasil survey yang peneliti lakukan di Klinik Infertilitas RS. Budi Mulya Surabaya di dapat bahwa dari 1727 sampel semen yang dikultur mulai tahun 1990 sampai dengan 1997, 65,84% semen terinfeksi *Staphylococcus epidermidis*, 20,9% terinfeksi *Enterobacter aerogenes*, 9,4% terinfeksi *Streptococcus faecalis*, 2,4% terinfeksi *Staphylococcus aureus*, 0,52% terinfeksi *Streptococcus viridans*, 0,46 % terinfeksi *Pseudomonas*, 0,35% terinfeksi *E.coli*, dan 0,13 % terinfeksi *Streptococcus pyogenik*.

Dari data diatas terlihat bahwa *E.coli* jarang di temukan mencemari sperma, tetapi mempunyai kemampuan yang besar untuk menurunkan fertilitas pria, bila saluran reproduksinya terinfeksi *E.coli*.

E.coli biasanya berada dalam usus, *E.coli* ini ternyata secara gampang dan kebetulan tumbuh serta berkembang pada mukosa genital. Pada kondisi tertentu dimana terjadi penurunan daya tahan tubuh dan penurunan enzim lisosim dalam plasma sperma, maka bakteri yang mula-mula dalam keadaan biasa tidak patogen akan berubah menjadi patogen .

E.coli adalah patogen yang paling penting menyebabkan prostatitis dan epididimitis (Comhaire, et al, 1980; Weidner et al, 1991, Weidner , 1992). *E.coli* merupakan penyebab utama epididimitis pada pria yang berumur lebih dari 35 tahun (Berger, et al, 1978). *E.coli* juga terdapat pada semen laki-laki infertil , tanpa lekosperma dan tanda-tanda infeksi klinis (Dahlberg, 1976).

Akibat dari infeksi semen oleh *E.coli* menyebabkan menurunnya motilitas atau membunuh spermatozoa secara *in vitro*, menyebabkan necrozoosperma dan

spermatozoa menjadi tidak bergerak (Paulson dan Palakoski, 1977), mengakibatkan terjadinya aglutinasi (Wolff, 1993) dan juga mengakibatkan kerusakan membran plasma spermatozoa yaitu membran plasma menjadi robek dan mengalami lisis terutama pada *mid piece* dan *tail* mengalami invaginasi (Diemer, 1996).

Menurunnya motilitas spermatozoa akibat dari infeksi oleh *E.coli* ini mungkin di sebabkan efek langsung *E.coli* pada spermatozoa, misalnya perlekatan bakteri ke spermatozoa (Wolff, 1993), atau karena adanya sitotoksin yang di keluarkan oleh *E.coli* (Paulson dan Polakoski, 1977) atau secara tidak langsung oleh efek yang merugikan dari rangsangan proses inflamasi, misalnya adanya inflamasi mengakibatkan tingginya polymorphonuclear leukosit (Wolff et al, 1990), makrofage dan toksin yang dihasilkannya (Hill, et al, 1987).

Dengan demikian walaupun *E.coli* ini jarang di temukan tetapi dapat mengakibatkan terganggunya spermatozoa seperti yang di jelaskan di atas . Di samping itu *E.coli* ini sering digunakan sebagai mikroorganisme standar penginfeksi semen pada penelitian infeksi traktus genitalis secara *in vitro*. Sedangkan *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* yang sering di temukan mencemari spermatozoa tetapi pengaruhnya terhadap spermatozoa secara *in vitro* belum banyak di teliti. Sehingga timbul permasalahan apakah spesies bakteri yang berbeda mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa ?

Selain spesies bakteri jumlah bakteri juga berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa . Dari studi yang dilakukan oleh Auroux et al (1991) didapat bahwa

motilitas populasi 10^7 spermatozoa/ml berkurang secara bermakna dengan adanya 10^6 /ml *E. coli* dibanding dengan populasi spermatozoa yang berjumlah 4.10^7 /ml.

Penurunan motilitas dan *Clumping* spermatozoa terjadi ketika ejakulat segar di campur dengan suspensi *E. coli* sejumlah 10^{13} mikroorganisme/ ml. Disamping itu telah di amati juga bahwa spermatozoa yang dicampur *E. coli* dengan jumlah 500 sampai 100.000 tidak menunjukkan perubahan motilitas setelah 1 jam inkubasi. Pada konsentrasi 10^6 mikroorganisme/ml telah terjadi penurunan motilitas spermatozoa sekitar 40 %. (Derrick, Dalhberg, 1976).

Menurut Comhaire (1980) konsentrasi *E. coli* $> 10^8$ organisme/ ml yang dapat menurunkan motilitas spermatozoa dan menyebabkan aglutinasi secara *in vitro* tidak dapat diterapkan secara realistik dalam *in vivo* yang mana konsentrasi bakteri jarang mencapai 10^6 /ml. Comhaire (1980) juga berpendapat bahwa batas bakteri patogen untuk dapat berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa adalah 10^3 mikroorganisme /ml sedang bakteri non patogen $> 10^4$ /ml. Farri et al (1977) dalam Comhaire (1980) menyatakan bahwa batas yang signifikan untuk bakteriospermia adalah 3.10^3 bakteri/ml. Sedang Auroux (1991) menyatakan bahwa konsentrasi *E. coli* 10^4 /ml tidak menurunkan motilitas spermatozoa.

Hasil studi yang dilakukan oleh Wolff et al (1993) di dapat bahwa *E. coli* dapat menyebabkan aglutinasi spermatozoa pada ratio 1:20 dan aglutinasi spermatozoa paling banyak(90 %) terjadi pada ratio 1:5 atau pada ratio yang lebih tinggi, sedang sisanya 10 % spermatozoa yang tidak beraglutinasi adalah immotil.

Dari hasil studi yang dilakukan oleh Diemer (1996), menyatakan bahwa pengaruh *E. coli* terhadap motilitas spermatozoa tergantung atas konsentrasi bakteri. Dari hasil penelitiannya didapat bahwa motilitas dihambat pada ratio spermatozoa/ *E. coli* sekitar satu yang dicapai oleh pertumbuhan *E. coli* setelah 3 - 5 jam dan tergantung pada awal konsentrasi *E. coli*. Menurut Comhaire (1980), ratio spermatozoa / bakteri = 1 merupakan kasus yang jarang terjadi pada *in vivo*.

Dari uraian diatas jelas bahwa pada penelitian terdahulu masih belum terjawab pertanyaan apakah ratio spermatozoa/ bakteri menjadi faktor penentu dalam menurunkan kualitas spermatozoa. Sehingga timbul permasalahan apakah spesies bakteri yang berbeda dan ratio spermatozoa/ bakteri yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa ? Untuk itu perlu diadakan penelitian tentang "Pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/ bakteri terhadap kualitas spermatozoa manusia secara *in vitro*".

Penelitian ini penting dilakukan karena (1) infeksi tratus genitales ataupun kelenjar seks aksesori ini tampaknya masih kurang mendapat perhatian dari penderitanya sendiri maupun di kalangan dokter yang menanganinya. Padahal pengaruh atau akibat dari infeksi kronis traktus genitales ataupun kelenjar seks aksesori terhadap fertilitas sangat dominan karena dapat menyebabkan kontaminasi atau tercemarnya spermatozoa sehingga kualitas dan kuantitas spermatozoa menurun. (2) adanya bakteri dalam ejakulat memungkinkan memberikan jalan masuk ke traktus genitales wanita yang menyebabkan peradangan pada pelvis. (3) Dan bila ternyata bakteri non patogen juga berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa maka

kita harus berhati-hati dalam melakukan persiapan spermatozoa untuk teknologi bantu reproduksi.(4) Penelitian ini juga penting dilakukan karena 23,6% penyebab infertilitas pada pasangan pria infertil Tahun 1996 dari pasien yang datang ke Poliklinik Andrologi Rumah Sakit Dr. Sutomo Surabaya disebabkan karena MAGI (*Male Accesory Gland Infection*). Angka ini adalah nomor 2 setelah varikokel (28,5 %).

1.2 . Rumusan Masalah.

1. Apakah spesies bakteri dan ratio spermatozoa/ bakteri berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa manusia yang di inkubasi selama 0 jam, 3 jam dan 6 jam secara *in vitro* ?
2. Spesies bakteri apakah dan ratio spermatozoa/ bakteri berapakah yang paling menurunkan kualitas spermatozoa manusia ?
3. Apakah penambahan antibiotik pada inkubasi spermatozoa-bakteri mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa manusia ?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap kualitas spermatozoa manusia yang di inkubasi selama 0 jam, 3jam dan 6 jam secara *in vitro*.
2. Untuk mengetahui spesies bakteri apa dan ratio spermatozoa/bakteri berapa yang paling menurunkan kualitas spermatozoa manusia.

3. Untuk membuktikan apakah penambahan antibiotik pada inkubasi spermatozoa-bakteri mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Menambah wawasan ilmu pengetahuan di bidang Kesehatan Reproduksi khususnya tentang infertilitas yang disebabkan karena infeksi traktus genitalis pria.
2. Memberikan informasi tentang spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa manusia.
3. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam melakukan persiapan spermatozoa untuk teknologi bantu reproduksi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengaruh Infeksi Traktus Genitalis Terhadap Kualitas Spermatozoa

Infeksi traktus genitalis dapat menyebabkan infertil. Hal ini disebabkan mikroorganisme penginfeksi dapat mempengaruhi fertilitas baik secara langsung maupun secara tidak langsung. Infeksi traktus genitalis ini berpengaruh langsung pada spermatozoa melalui perlekatan bakteri ke spermatozoa (Wolff, 1993) atau karena adanya sitotoksin yang dihasilkan oleh bakteri (Paulson dan Polakoski, 1977) atau secara tidak langsung menghasilkan obstruksi atau *lesi non destruktive* pada duktus ekskretori, lesi pada kelenjar seks aksesori atau menimbulkan ASA (Auroux et al, 1991), dapat menyebabkan lekospermia, atau pyospermia dengan segala akibatnya (Berger et al, 1982), penurunan jumlah spermatozoa sampai dengan azoospermia (Zaneveld, 1985), menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa (Gopalkrishnan, 1994).

Disamping itu infeksi traktus genitalis pria dan kelenjar seks aksesori dapat menurunkan parameter semen normal yang mana dapat menyebabkan menurunnya fertilitas pria (Arsyad dkk, 1984), fungsi kelenjar seks aksesori rusak dan kualitas semen menurun, merusak tubulus seminiferus atau obstruksi lintasan spermatozoa pada tingkat epididimis atau duktus ejakulatorius. Lebih lanjut dinyatakan bahwa infeksi oleh Chlamydia, mumps orchitis, tbc, sypilis dapat menyebabkan sterilitas irreversibel, dengan gejala yang bervariasi (Sikka, 1996).

Dari uraian tersebut diatas jelas bahwa adanya infeksi pada traktus genitalis dan kelenjar seks aksesori dapat menyebabkan :

- 2.1.1 Penurunan jumlah spermatozoa
- 2.1.2 Penurunan motilitas spermatozoa
- 2.1.3 Berkurangnya viabilitas spermatozoa
- 2.1.4 Timbulnya ASA
- 2.1.5 Berkurangnya kemampuan fertilisasi

2.1.1 Penurunan jumlah spermatozoa

2.1.1.1 Oleh karena fagositosis

Mekanisme penurunan jumlah spermatozoa ini salah satunya di sebabkan karena banyaknya spermatozoa yang di fagosit oleh lekosit (PMN). Lekosit yang "memakan" spermatozoa di sebut spermofage. Pada keadaan tertentu lekosit yang sudah "memakan" spermatozoa tadi dapat difagosit oleh monosit dan monosit yang memakan lekosit ini sering sebagai lekofage (Riedel , Semm, 1980). Mekanisme yang mendasari terjadinya spermofage ini diperkirakan oleh adanya induksi antibodi terhadap mikroorganisme penginfeksi.

Antibodi yang timbul dapat berinteraksi dengan spermatozoa sehingga diproduksi bermacam-macam kemoatraktan, misalnya C 3-b yang mempunyai sifat opsonisasi. Spermatozoa yang teropsonisasi akan menjadi *palatable* sehingga di fagosit oleh PMN dan makrofage lain (Wibowo , 1997). Kemungkinan lain dari penyebab di fagositnya spermatozoa adalah adanya mikroorganisme yang menempel



pada membran plasma spermatozoa. Jika PMN atau makrofage memfagosit mikroorganisme tersebut bisa terjadi spermatozoanya ikut tertelan (Wibowo , 1997).

Proses difagositnya spermatozoa ini dapat terjadi di dalam rete testis, epididimis dan bahkan di dalam ejakulat penderita. Dalam keadaan ekstrem seluruh spermatozoa dapat terfagosit oleh PMN dan di absorpsi di dalam traktus genitalis (Zaneveld , 1985), sehingga di dapatkan penderita infeksi kronis dengan azoospermia, tetapi kasus azoospermia yang semata-mata disebabkan oleh karena proses fagositosis spermatozoa ini sangat jarang bahkan tidak pernah di temukan (Wibowo , 1989).

Dengan demikian lekospermia dapat menyebabkan penurunan kuantitas spermatozoa (Reidel, 1980). Hubungan antara tingginya sel darah putih dan berkurangnya jumlah spermatozoa sebenarnya tidak dapat diduga karena inflamasi pada traktus reproduksi biasanya sering terjadi pada epididimis, prostat dan vesikula seminalis dan tidak pada tempat produksi spermatozoa yaitu testis. Tetapi gangguan rangsangan inflamasi lebih mempengaruhi transpor spermatozoa dalam epididimis selama maturasi spermatozoa dan penyimpanan atau dalam vas deferen dan atau prostat selama ejakulasi (Alexander , Anderson , 1987).

2.1.1.2 Oleh karena adanya sumbatan partial

Sumbatan partial dapat terjadi oleh karena adanya oedemamikro pada saluran spermatozoa atau karena tersumbatnya saluran spermatozoa oleh adanya pelepasan dini sel-sel spermatozoa muda, sel-sel spermatogenik. Sel-sel bulat yang lepas dan akan di transport ke dalam lumen yang kecil sehingga memenuhi lumen dan

mengganggu transportasi spermatozoa yang telah terbentuk. Akibatnya bisa berbalik menjadi *partial spermatogenic arrest* (Wibowo , 1997).

2.1.2 Penurunan motilitas spermatozoa

2.1.2.1 Adanya perlekatan bakteri

Mikroorganisme penginfeksi secara langsung dapat berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. *E.coli* dapat menyebabkan immobilisasi dan aglutinasi spermatozoa (Bartoov et al,1991). Adanya perlekatan bakteri ke spermatozoa juga mengganggu motilitas spermatozoa. Hal ini ditunjukkan oleh *Ureaplasma urealiticum*, *Chlamydia trachomatis* dan *E.coli*. Perlekatan bakteri yang cukup kuat untuk menginduksi heteroaglutinasi hanya ditunjukkan oleh *E. coli*. *E. coli* melekat pada kepala dan ekor spermatozoa. (Wolff et al, 1993). *Neisseria gonorrhoeae* dan *Chlamydia trachomatis* melekat ke spermatozoa menyebabkan *Coiled tail* sehingga menurunkan motilitas (Bartoov et al, 1991). Dan juga telah dibuktikan bahwa EB (*elementary body*) *Chlamydia trachomatis* dapat melekat dan merusak akrosom serta membran spermatozoa (Tjandrakirana , 1998).

Akibat perlekatan bakteri ke membran spermatozoa dapat menyebabkan perubahan integritas struktur membran spermatozoa. Menurut (Hafez, 1976) secara umum membran spermatozoa mempunyai fungsi sebagai media transpor semua zat yang di butuhkan spermatozoa. Menurut Zaneveld (1985) membran spermatozoa khususnya bagian ekor mempunyai fungsi untuk mendapatkan substrat yang dibutuhkan sebagai sumber energi dan berfungsi untuk menghantarkan gelombang

gerakan. Dengan adanya perlekatan bakteri pada membran spermatozoa yang menyebabkan kerusakan membran, akan menimbulkan gangguan transpor zat yang dibutuhkan sebagai sumber energi. Energi tersebut dibutuhkan dalam pergerakan spermatozoa, sehingga adanya gangguan sumber energi akan menyebabkan pergerakan spermatozoa terganggu.

2.1.2.2 Adanya zat dari fagosom

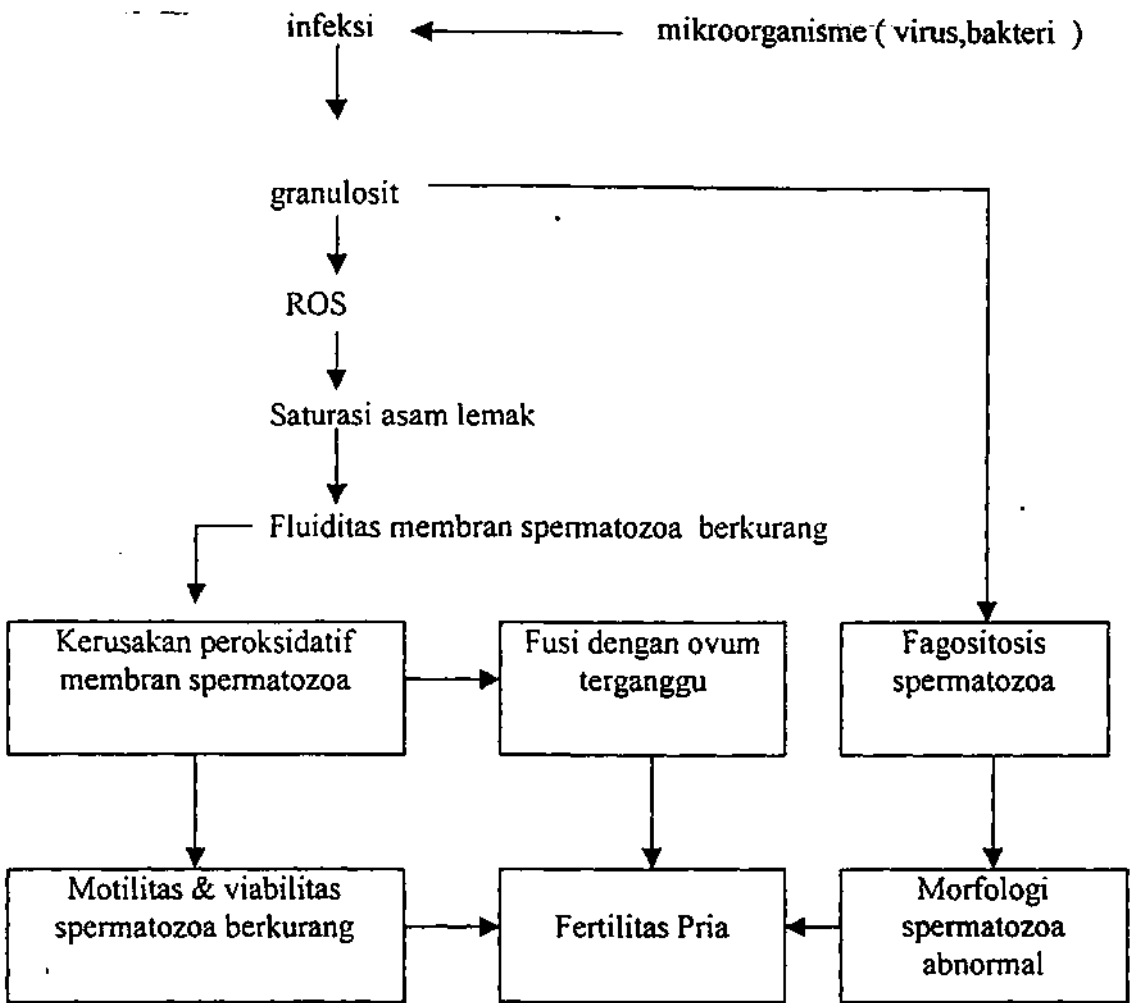
Hill (1987) melaporkan bahwa banyak pria infertil yang tidak diketahui penyebabnya, ternyata di dalam spermatozoanya di temukan jumlah limosit dan makrofag yang meningkat di banding dengan kontrol pada pria fertil. Hasil penemuannya memperlihatkan bahwa lekosit memproduksi faktor-faktor yang menghambat motilitas spermatozoa. Produk dari limosit dan monosit yaitu limpokines dan monokines sangat menurunkan motilitas spermatozoa. Produk tersebut dapat menghambat motilitas sel dengan merusak susunan struktur sitoskeletal membran plasma spermatozoa. Mereka menyimpulkan bahwa fertilitas yang subnormal dapat di pengaruhi limpokines dan monokines yang dilepaskan oleh limosit serta makrofage yang diaktifkan di dalam saluran reproduksi pria.

Mekanisme zat yang di dikeluarkan oleh fagosom sehingga dapat menurunkan motilitas dapat di jelaskan sebagai berikut : pada saat spermofage "*menelan*" spermatozoa ternyata tidak seluruh spermatozoa "*tertelan*" oleh lekosit PMN, paling tidak pada saat proses *ingestion* (penelanan) spermatozoa, dengan elektron mikroskop terlihat bahwa spermatozoa ini hanya setengah tertelan (*partially ingested*), bagian

ekor masih berada di luar sehingga fagosom masih berhubungan dengan plasma sperma, setelah proses penelanan terjadi, kemungkinan besar bagian ekor akan terlepas keluar karena tidak dapat lagi diidentifikasi di dalam spermofage (Riedel, 1980). Pada proses "penelanan" ini akan teraktifasi enzim-enzim lisosom untuk mendekomposisi membran plasma spermatozoa. Enzim-enzim dari fagosom yang telah teraktifasi ini (*Lysosomal substance*) sebagian akan tertumpah keluar. Enzim yang keluar antara lain enzim mieloperoksidase dan hidrogen peroksidase (Maruyama, et al, 1985). Dengan adanya tambahan enzim peroksidase yang tertumpah keluar ini akan terjadi lebih banyak lagi peroksidase di dalam plasma sperma. Peroksidase ini dengan cepat akan menurunkan motilitas spermatozoa secara langsung atau dengan cara mengaglutinasi spermatozoa.

Penurunan motilitas spermatozoa yang cepat dan langsung oleh karena peroksida ini terjadi melalui berbagai mekanisme yang merusak antara lain : efek toksik peroksida terhadap permeabilitas membran menjadi tidak terkontrol. Pengaruh peroksida terhadap kualitas spermatozoa dapat dijelaskan seperti bagan 2.1.

Wolff (1990) di dalam studinya tentang lekospermia pada penderita infertil melaporkan bahwa pada pria dengan lekospemia terdapat penurunan bermakna konsentrasi dan jumlah total spermatozoa, persentase spermatozoa motil, velositas spermatozoa, indeks motilitas dan jumlah total spermatozoa immotil.



Bagan 2.1. Pengaruh ROS terhadap kualitas spermatozoa
 Sumber : Soehadi, 1996

2.1.2.3 Oleh karena berubahnya lingkungan hidup Spermatozoa

Terjadinya penurunan motilitas juga dapat di sebabkan oleh karena kerusakan organela spermatozoa atau oleh karena perubahan lingkungan spermatozoa misalnya berubahnya lingkungan seminal plasma. Berubahnya lingkungan spermatozoa karena infeksi ini seperti dinyatakan oleh Fowler (1983) bahwa cairan prostat dari pasien

dengan prostatitis bakterial kronik lebih alkali dan berisi kadar zinc yang rendah, asam sitrat dan fruktose yang rendah dibanding yang tidak terinfeksi.

Hasil studi Gopalkrishnan (1994) di dapat bahwa infeksi bakteri pada traktus genitalis menyebabkan perubahan pada sifat seminal plasma dan faktor regulator lalu mengubah kemampuan fertilitasi spermatozoa. Di samping itu adanya mikroorganisme patogen dalam spermatozoa dapat menghasilkan perubahan sifat semen dan menurunkan kemampuan fertilitasi spermatozoa. Bakteriospermia ini dikaitkan dengan infeksi kelenjar seks aksesori terutama prostat dan vesikula seminalis terutama asam sitrat atau asam fosfatase dan fruktose (Grizard, 1985).

Hasil studi yang dilakukan oleh Wolff et al (1991) tentang adanya inflamasi pada traktus genitalis pria yang di tunjukkan secara biokimiawi didapat hasil bahwa jumlah PMN dalam semen tinggi, sedang fruktosa sebagai marker fungsi vesikula seminalis rendah. Asam sitrat sebagai marker fungsi prostat rendah dengan jumlah PMN tinggi. Hal tersebut akan menurunkan motilitas spermatozoa. Hal yang sama juga di kemukakan oleh Comhaire (1989) bahwa pada pria dengan inflamasi traktus genitalis terjadi penurunan asam sitrat.

Menurut Glezerman , Bartoov, (1993), bila terjadi infeksi akut pada vesikula seminalis maka pH seminal plasma melebihi 8, (karena seminal plasma melepaskan CO₂ terus menerus dan akibatnya nilai pH bertambah). Jika pH di bawah 7 mungkin merupakan tanda oklusi dari duktus ejakulatorius atau semen terkontaminasi oleh urine. Proses inflamasi kronik dari vesikula seminalis juga menyebabkan nilai pH

kurang dari 7,2. Penurunan pH karena adanya pertumbuhan berlebih dari bakteri di dalam semen akan menurunkan motilitas spermatozoa (Appell, Evans, 1978).

2.1.2.4 Viskositas spermatozoa yang meningkat

Pada keadaan infeksi atau inflamasi kelenjar seks aksesori, maka akan terjadi gangguan terhadap fungsi sekresi prostat dan vesikula seminalis yang menyebabkan berkurangnya enzim litik yang sangat kompleks. Berkurangnya enzim litik ini menyebabkan terjadinya gangguan liquefaksi. Paling tidak gangguan liquefaksi ini melibatkan 3 macam proteinase dan 2 macam proteinase inhibitor. Enzim proteinase yang terlibat antara lain : pepsinogen, plasminogen aktivator dan neutral proteinase yang disebut sebagai seminin atau *chymotrypsin-like enzym*. Sedang enzim proteinase inhibitor adalah - 1 anti tripsin dan - 1 x antikimotripsin dan enzim-enzim lain seperti lisosim, ν - kimotripsin, *pancreatic dornase* dan α amilase (Tauber, Zaneveld, 1976). Dengan berkurangnya enzim-enzim litik diatas akan terjadi pula peningkatan viskositas (Wibowo, 1989). Akibatnya motilitas spermatozoa yang terjadi karena dorongan propulsif pergerakan tangensial ekor spermatozoa akan terpengaruh. Hal ini terjadi karena pergerakan spermatozoa secara langsung dipengaruhi oleh perbandingan luas permukaan ekor terhadap beban viskositas spermatozoa. Pada percobaan *in vitro* gambaran umum pergerakan tidak berubah tetapi amplitudu pergerakan menjadi lebih lebar dan pukulan ekor (*Tailbeat*) berkurang sehingga motilitas menurun (Mitchel, Nelson, Hafez, 1976).

2.1.2.5 Bertambahnya morfologi spermatozoa abnormal.

Infeksi dapat menyebabkan bertambahnya jumlah spermatozoa dengan morfologi abnormal, di mana yang paling tampak berhubungan langsung dengan adanya mikroorganisme penginfeksi adalah timbulnya ekor terlipat (*Coiled Tail*) (Wibowo, 1989). Bertambahnya morfologi spermatozoa dengan morfologi abnormal ini juga disebabkan karena disintegrasi spermatozoa dengan bakteri (Gopalkrishnan et al, 1989), terjadinya perubahan hormon regulator yang bertanggung jawab untuk fungsi dan struktur yang normal dari spermatozoa (Gopalkrishnan et al, 1994), dan mengakibatkan kerusakan membran plasma sperma yaitu membran plasma menjadi robek dan mengalami lisis terutama pada *mid piece* dan ekor mengalami invaginasi (Diemer, 1996). Selain itu mungkin juga adanya toksin dari mikroorganisme dan terjadinya lesi pada epididimis menyebabkan terjadinya gangguan pematangan spermatozoa di epididimis.

2.1.3 Berkurangnya viabilitas spermatozoa.

Berkurangnya viabilitas spermatozoa dapat disebabkan oleh berbagai sebab antara lain : toksin mikroorganisme, peroksida yang timbul, perubahan pH, penurunan kadar asam fosfatase, asam sitrat, Zn dan Mg. Penurunan kadar Zn ini akan memacu aktifitas fagositosis karena hambatan pelepasan histamin dari mast cell dan serotonin dari platelet menjadi turun (Wibowo, 1997).

2.1.4 Timbulnya anti sperma - antibodi.

Infeksi dan inflamasi sering merupakan suatu proses yang terjadi bersamaan dan sulit dipisahkan serta melibatkan reaksi immunologis yang kompleks. Infeksi dan inflamasi dapat menyebabkan rusaknya *Blood Testis Barrier* yang dapat menimbulkan ASA (Anti Sperm Antibodi). Adanya ASA ini dapat mengganggu fungsi membran spermatozoa karena anti bodi ini melekat dengan kuat pada permukaan spermatozoa dan bersama-sama dengan sistem komplemen dapat merusak membran spermatozoa (Metz, et al., 1976). Hal ini dapat menyebabkan gangguan dalam kapasitas spermatozoa dan reaksi akrosom, menghambat fusi spermatozoa pada zona pelusida.(Berger , Korp , Williamson , 1982).

2.1.5 Berkurangnya kemampuan fertilisasi

Kemampuan spermatozoa untuk menembus membran fertilisasi terganggu dengan adanya lekosit pada lingkungan di sekitarnya, hal ini mungkin terjadi karena pengaruh substansi lisosom tersebut mempengaruhi fusi membran viteline dengan spermatozoa. Diperkirakan peroksida yang timbul akan menyebabkan mengerasnya membran fertilisasi ovum (Berger , Korp , Williamson , 1982)

2.2 Mekanisme Terjadinya Infeksi Traktus Genitalis Pria

Hasil studi yang dilakukan Swenson et al (1980) di dapat bahwa tidak ada semen yang secara sempurna steril, dan 98% sampel semen berisi 2 atau lebih spesies bakteri yang berbeda. Dari data yang di peroleh di laporkan bahwa flora genital pria

bervariasi dan kompleks seperti pada wanita. Pada semen normal, hanya berisi sedikit mikroorganisme. Hasil studi Mobley (1975) di laporkan bahwa terdapat hubungan antara kultur sekret prostatik dan semen, dimana kultur semen ini hampir selalu menjadi diagnosis pada pasien dengan bakterial prostatitis. Juga dinyatakan bahwa prostatitis bakterial kronik umumnya sering terjadi pada infeksi kronik pada pria setengah baya. Hal ini dipercaya bahwa 35% lebih pria pada umur 50 tahun mempunyai prostatitis kronis.

Terjadinya infeksi kelenjar seks aksesori dan traktus genitalis ini di sebabkan karena telah terjadi Infeksi Saluran Kemih (ISK). ISK mayoritas di sebabkan oleh bakteri. Ada 3 cara dimana bakteri dapat menyebar dan menyerbu dalam saluran kemih yaitu cara limpatik, hematogen dan cara asenden. Paling sering di hasilkan dari cara asenden (Sobel , 1991).

Bakteri patogen yang paling umum menginfeksi saluran kemih manusia adalah *E.coli*. Langkah pertama dari infeksi adalah perlekatan bakteri ke permukaan sel uroepitelial (Robledo , et al, 1990; Straube, et al, 1993; Svanborg, Cotrana, 1997). Langkah ini di pengaruhi oleh beberapa antigen permukaan atau produk yang di hasilkan *E.coli*, misalnya fimbriae atau adhesin, K antigen dan hemolisin (Straube et al, 1993). Adanya pili juga berhubungan dengan kemampuan *E.coli* untuk melekat ke sel uroepitelial manusia (Svanborg et al, 1997). *E.coli* juga menghasilkan faktor-faktor virulensi yang terlarut, dimana faktor virulensi yang terlarut tersebut menambah kecepatan infeksi yang akan mendukung perlekatan bakteri ke sel mukosa kandung kencing pada rabbit (Mostafavi, et al, 1995).

Bakteri mempunyai kemampuan secara selektif melekat ke permukaan mukosa. Molekul esensial yang paling penting untuk adhesi selular adalah Pili. Struktur ini mempunyai diameter 5- 10 nm, panjangnya di atas 2μ m dan terutama disusun oleh sub unit yang diketahui sebagai pilin. Adhesin pada ujung pilus merupakan perantara perlekatan ke reseptor sel (Schaeffer, 1998)

Pili P *E.coli* melekat ke sel epitelial yang lebih muda yang mana mempunyai mikrovilli pada permukaannya, tetapi tidak melekat ke sel epitelial yang lebih tua/matur yang mana mempunyai microfolds pada permukaannya. Perlekatan ini resisten/tidak dihambat oleh D-manose. Pili tipe 1 *E.coli* melekat ke kedua tipe sel epitelial, tetapi di cegah/dihambat oleh D-monase (Fujita et al, 1991). Adanya perlekatan bakteri ini memungkinkan mikroorganisme-mikroorganisme bertahan terhadap pencucian oleh cairan dan sekret yang membasahi permukaan mukosa, dan perlekatan ini merupakan faktor virulensi (Shulman et al, 1994).

Setelah mengadakan perlekatan, langkah selanjutnya adalah invasi ke sel epitelial oleh beberapa bakteri. Hemolisin yang di hasilkan uropatogenik *E.coli* telah di percaya berperan dalam proses internalisasi pada bakteri oleh proses "*endocytosis-like*"(Straube, 1993).

Jika telah terjadi ISK, maka mula-mula kelenjar prostat dan vesikula seminalis tidak terinfeksi, tetapi karena adanya mekanisme *intra- prostatic urinary refluks* pada waktu proses kencing berakhir maka infeksi yang ada pada uretra dan



kandung kencing dapat masuk ke dalam kelenjar prostat dan vesikula seminalis (Kirby et al, 1982).

Jika mikroorganisme masuk ke dalam kelenjar prostat yang berkelok-kelok, kebetulan saat itu enzim-enzim lisosim, spermin dan lain-lain zat protektor terganggu keseimbangannya karena berbagai sebab, maka akan terjadi infeksi kelenjar prostat dan vesikula seminalis .

Disamping itu adanya *retrograde ascendens* dari patogen uretra melalui duktus ejakulatorius ke dalam vas deferens juga dapat menyebabkan infeksi epididimis, dimana secara normal duktus ejakulatorius yang menembus prostat terdapat fungsi *valve-like mechanism* yang melindungi epididimis dari *refluks* urine yang terinfeksi (Krieger, 1984).

Bila telah terjadi infeksi kelenjar seks aksesori dan traktus genitalis maka menyebabkan kualitas semen menurun, dimana dalam semen tersebut akan didapatkan lekosit dan produk metabolitnya, mikroorganisme dengan toksin yang dihasilkannya serta perubahan komposisi plasma sperma.

Pencemaran ini umumnya di temukan secara kebetulan pada saat pemeriksaan analisis spermatozoa rutin pada kasus infertilitas (Dahlberg, 1976). Hal ini bisa dimengerti oleh karena penderita sama sekali tidak ada keluhan, atau walaupun ada biasanya samar atau tidak jelas. Sebenarnya yang di temukan pada analisis spermatozoa tersebut adalah di dapatkannya lekosit dan/atau mikroorganisme. Sedangkan infeksi kelenjar seks aksesori atau traktus genitalis ini kadang sulit di tentukan lokasinya.

2.3 Spermatozoa

2.3.1 Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel yang sudah sangat terspesialisasi dan padat yang mana tidak lagi mengalami pertumbuhan atau pembelahan (Hafez, 1980). Morfologi spermatozoa adalah salah satu sifat yang penting untuk mengevaluasi fertilitas pria. Pria dengan spermatozoa yang mempunyai kepala bulat kecil tanpa akrosom adalah steril sebab tidak dapat melakukan fertilisasi dengan oosit baik secara *in vivo* atau *in vitro*, tetapi hal ini jarang terjadi sebagai penyebab infertilitas pria (Liu, 1992)

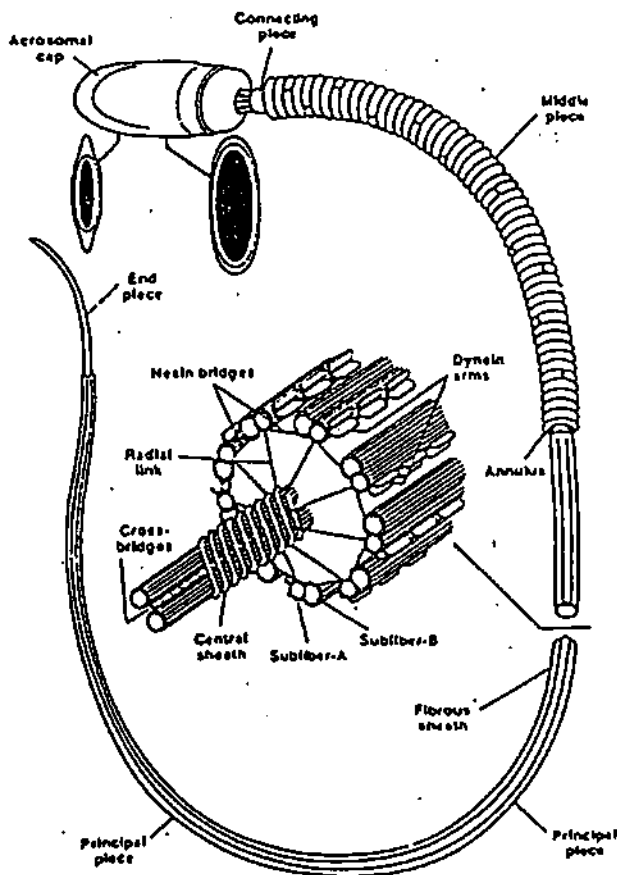
Hasil studi yang dilakukan oleh Kruger (1996) di dapat bahwa pasien yang mempunyai spermatozoa dengan morfologi normal < 14% tidak terjadi fertilisasi. Prosentase spermatozoa dengan morfologi normal memainkan peranan yang penting dalam fertilisasi *in vitro*.

Mashiach, et al (1992) menyatakan bahwa, ultra struktur morfologi dari komponen-komponen kepala spermatozoa merupakan kunci parameter untuk membantu kemampuan fertilisasi spermatozoa secara *in vitro*.

Secara morfologi, spermatozoa dibagi menjadi 3 bagian yaitu kepala, *mid piece* dan ekor (Tournaye, 1994). Morfologi spermatozoa yang normal menurut WHO (1992) adalah kepala lonjong dengan batas teratur dan topi akrosom yang menutup lebih dari 1/3 permukaan kepala. Panjang kepala antara 3 μm - 5 μm serta lebar berkisar antara 2 dan 3 μm , ukuran lebar harus antara 1/2 dan 2/3 ukuran panjang.

Bagian tengah ramping berukuran kurang dari $\frac{1}{3}$ lebar kepala, lurus dan batasnya teratur. Bagian tengah terletak pada satu sumbu dengan poros panjang kepala dan berukuran kira-kira $7-8 \mu\text{m}$.

Ekor berbentuk ramping, tidak tergulung dan batasnya teratur. Panjang ekor sedikitnya $45 \mu\text{m}$.



Gambar 1 : Morfologi spermatozoa normal pada mamalia
Sumber : Tournaye, 1994.

Kepala spermatozoa yang berbentuk lonjong (bulat telur), terutama dibentuk oleh nukleus. Pada bagian anterior kepala spermatozoa terdapat akrosom yaitu merupakan suatu struktur/masa yang berbentuk topi yang menutupi dua pertiga bagian anterior kepala spermatozoa.

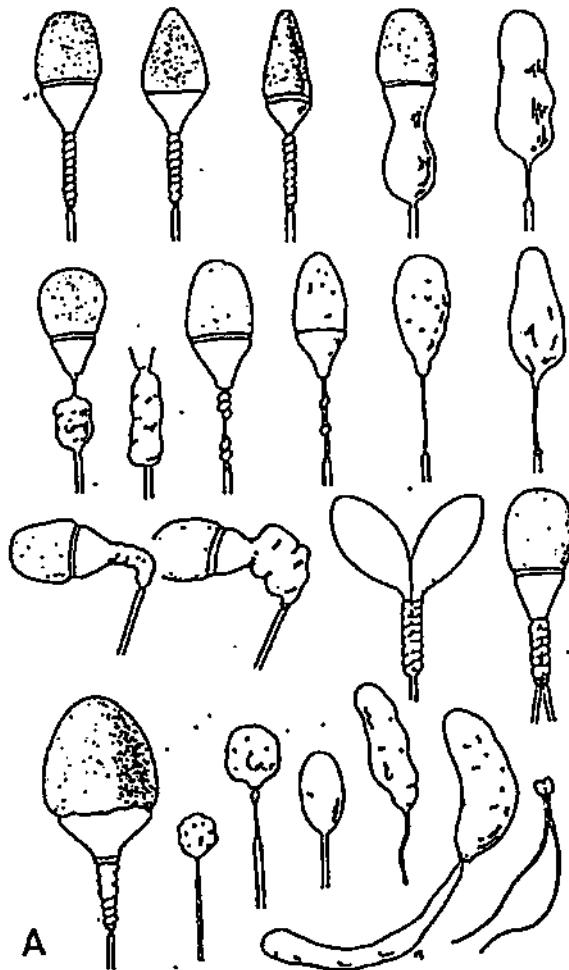
Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik antara lain : *hyaluronidase*, *akrosin*, *corona penetrating enzym (CPE)*, yang semuanya penting untuk penembusan telur pada proses fertilisasi (Hafez, 1980, Pedersen & Fawcet, 1976).

Bahan kandungan dari akrosom adalah setengah padat yang dikelilingi oleh membran akrosom. Membran akrosom terdiri dari 2 lapis yaitu membran akrosom dalam dan membran luar. Secara molekuler susunan kedua membran akrosom ini sangat berbeda, membran akrosom luar bersatu dengan plasma membran (membran spermatozoa) pada waktu terjadinya reaksi akrosom, sedang membran akrosom dalam menghilang (Nagae T et al, 1986).

Mid piece spermatozoa mempunyai panjang lebih 7-8 μ m dipisahkan dari *tail piece* oleh cincin yang disebut annulus, memiliki sebagian sitoplasma yang kaya lipid, berisi beberapa spiral mitokondria dan dikelilingi oleh sumbu filamen yang berbentuk helix. *Mid piece* spermatozoa berhubungan dengan kebutuhan energi untuk motilitas spermatozoa dan juga berperan pada metabolisme oksidatif spermatozoa (Peterson dan Freund, 1976). Beberapa zat yang terdapat pada *mid piece* yang berhubungan dengan fungsinya antara lain : enzim glikolitik, asam amino sulfhidril, kolesterol, Cu, Ca, K, Fe, Sitokrom oksida, lipid dan fosfat (Hafez, 1980).

Ekor spermatozoa terbentuk dari axonema yang merupakan poros dari ekor spermatozoa yang terdiri dari mikrotubulus dan serabut-serabut memanjang yang saling berhubungan.

Ciri-ciri morfologi spermatozoa yang abnormal adalah amorf, adanya sitoplasmik droplet, ekor tergulung, ekor dua, ekor patah, kepala kembar, kepala besar, kepala berbentuk seperti bola lampu (*Pyriform*), kepala kecil, kepala lisong, bagian tengah menggembung tidak teratur/bengkok/tipis.



Gambar 2 : Morfologi spermatozoa abnormal
Sumber : Hafez E.S.E., 1980

2.3.2. Metabolisme Spermatozoa

Metabolisme di dalam spermatozoa bertujuan untuk pembentukan ATP. ATP ini dipergunakan untuk menyokong mekanisme pergerakan spermatozoa dan mempertahankan keseimbangan osmotik (Hafez, 1980). Oleh karena itu kecepatan metabolisme spermatozoa berhubungan secara langsung dengan motilitas. Tempat terjadinya metabolisme ialah di sitoplasma dan mitokondria *mid piece*. Pada spermatozoa manusia glikolisis merupakan cara terbesar untuk membentuk energi dan motilitas sel dapat dipertahankan dengan memanfaatkan energi yang didapat dari metabolisme pernafasan (Hafez, 1980).

ATP yang dibentuk dengan cara glikosis/fruktolisis tersebut bisa dengan cara anaerobik dan aerobik yaitu melalui siklus Krebs (Siklus asam sitrat). Metabolisme aerobik melibatkan pengambilan oksigen (O_2) yaitu dengan cara respirasi dan aktifitas dari sistem sitrokom oksidase yang berhubungan dengan membran mitokondria. Konsumsi oksigen pada spermatozoa manusia umumnya rendah.

Sustrat atau bahan bakar pada umumnya berasal dari bahan-bahan yang ada pada plasma semen (eksogen) antara lain : glukosa, fruktosa, manosa, galaktosa, piruvat, sorbitol, asam oksalat, asam suksinat dan asam lemak jenuh (Zaneveld, 1985) dan bisa juga substrat berasal dari dalam spermatozoa sendiri (endogen) antara lain : fosfolipid terutama pada keadaan mendesak. Bahan bakar eksogen glukosa dan piruvat lebih siap dimetabolisme dibanding eksogen lain. Kecepatan metabolisme spermatozoa sangat tergantung pada tingginya jumlah nukleotida (ATP, AMP, ADP)

dan lebih lagi bila didukung oleh faktor-faktor seperti : mudahnya substrat digunakan; konsentrasi enzim dan transpor ion-ion pada membran (Zaneveld, 1985).

Mekanisme metabolisme spermatozoa adalah sebagai berikut: glukosa secara difusi masuk melalui membran *mid piece* kemudian dalam sitoplasma *mid piece* mengalami glikolisis dan sebagai hasilnya adalah asam piruvat, asam laktat dan ATP. Selanjutnya asam piruvat, dengan bantuan piruvat dehidrogenase di ubah menjadi asetil Ko-A, selanjutnya masuk dalam siklus krebs dengan bantuan oksigen, rantai respirasi dan sistem sitokrom akan terbentuk ATP, yang selanjutnya diserahkan kepada outer dens fiber untuk menimbulkan pergerakan kontraktile (Mitchel, et al, 1976).

2.3.3 Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa merupakan parameter penting untuk menilai kemampuan fertilitas pria dengan spermatozoa immotil adalah steril. Spermatozoa immotil, apakah hidup atau mati, tidak dapat menembus mukus servik. Selanjutnya tipe gerakan juga berpengaruh terhadap kemampuan fertilisasi. Spermatozoa yang berenang dengan gerakan melingkar tidak dapat menembus *isterotubal junction* dan hanya spermatozoa yang berenang dengan gerak lurus yang berhasil memfertilisasi ovum. Pukulan ekor spermatozoa yang hebat diperlukan untuk penembusan kepala spermatozoa menembus corona radiata untuk memfertilisasi ovum (Amelar, 1980). Untuk bisa mengetahui bagaimana mekanisme gerak ekor spermatozoa sehingga

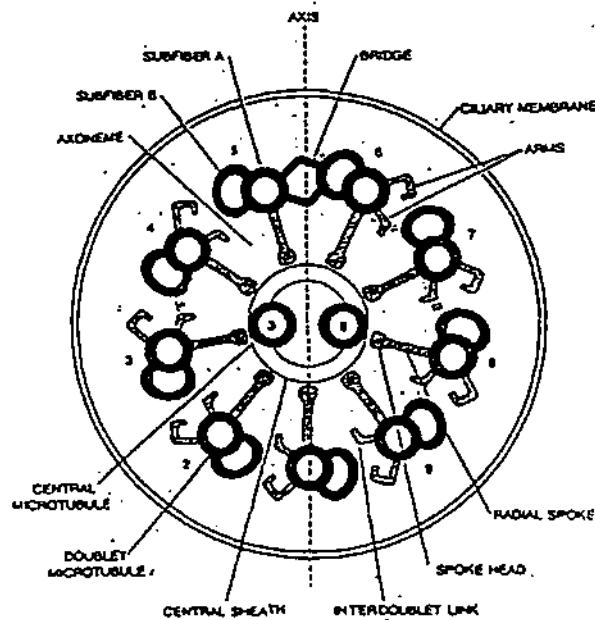
mampu mendorong kepala spermatozoa maju ke depan, maka di butuhkan pengetahuan gambaran mikro struktur ekor spermatozoa.

Ekor spermatozoa terbentuk dari suatu axonema yang merupakan unsur utama dari suatu pergerakan. Axonema merupakan poros dari ekor spermatozoa yang terdiri dari mikrotubulus dan serabut-serabut memanjang yang saling berhubungan. Axonema tersusun dari mikrotubulus dengan pola dasar mikrotubulus 9+2, dimana 2 mikrotubulus berada ditengah yang disebut sentral mikrotubulus dan dikelilingi 9 doublet mikrotubulus yang terdiri dari 2 subfiber A dan subfiber B.

Subfiber A merupakan suatu mikrotubulus yang lengkap dengan 13 protofilamen. Subfiber B lebih pendek terdiri 10 atau 11 protofilamen. Molekul dynein terletak di sepanjang subfiber A membentuk 2 perangkat lengan yaitu *inner dynein arm* dan *outer dynein arm* yang mengarah ke subfiber B.

Terdapat radial spoke antara doublet mikrotubulus dan selubung sentral menyebabkan ekor spermatozoa membelok, melurus menyamping dan menimbulkan gerakan gelombang menyebar ke ujung distal sehingga menghasilkan momentum gerakan yang bisa mendorong kepala maju ke depan (Amelar, 1980).

Mekanisme dari gerakan ekor spermatozoa tersebut disebut *Sliding Microtubule hypothesis* yang pertama kali diperkenalkan oleh Afzelius. Adapun struktur ekor spermatozoa dengan pola dasar axonema 9 + 2 adalah sebagai berikut :



Gambar 2.3 Struktur ekor spermatozoa, dengan pola dasar axonemas 9+2
Sumber : Amelar, et al., 1980

Faktor utama yang mengontrol motilitas spermatozoa adalah ATP yang dihasilkan oleh mitokondria dan ditranspor ke axonema (Tournaye, 1994). ATP tersebut melalui proses hidrolisis enzimatik di ubah menjadai Adenosine Diphospat dan Asam Pospat. Enzim pemecah ATP ini dinamakan dynein. Dynein ini dihambat oleh Cadmium, Zinc, Mercury dan group sulfihydriil (Amelar, 1980). Konsentrasi ATP menentukan frekuensi gerakan ekor. Lingkungan di sekitar axonema berisi ion-ion (Mg,Ca,Zn) mempengaruhi besar dan arah gerak *sliding mikrotubulus* dan dapat menentukan bentuk gelombang ,arah gerak yang efektif dan arah dorongan lengkung yang terjadi sepanjang axonema (Amelar,1980). Ion Kalsium dan ion Magnesium

menjadi perantara aktivitas enzim yang berperan dalam proses kontraksi dan relaksasi ekor spermatozoa. Ion Kalsium bekerja pada tingkat transpor membran dengan mempengaruhi permeabilitas selluler. Ion Magnesium bekerja pada tingkat hidrolisis Adenosin Tri pospart (Mitchel, 1976).

Dengan demikian pola gerak flagel (ekor) spermatozoa dikontrol oleh faktor-faktor aktivitas metabolik intraselluler, integritas membran sperma, efek biomolekul pada elemen-elemen flagel dan faktor-faktor eksternal seperti terdapatnya substrat, ion-ion dan sifat fisik dari lingkungan mikro spermatozoa (Tournaye, 1994).

2.3.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa yaitu faktor endogen dan faktor eksogen (Mitchel et al, 1976). Faktor endogen antara lain : penyimpanan dalam epididimis, waktu antara ejakulasi dan pemeriksaan, maturasi spermatozoa (morfologi, fisiologi dan biokemis), simpanan energi (ATP) , transport membran spermatozoa, transport ion (Battersby dan Chandler, 1977), faktor aglutinasi, reseptor permukaan sperma, integritas membran sperma (Hafesz, 1980).

Faktor eksogen yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah :faktor biofisik dan fisiologi yaitu hidrodinamik, viskositas dan osmolaritas. Faktor biofisik dan fisiologi yang berpengaruh adalah tekanan osmotik, pH, temperatur dan komposisi ion (Battersby dan Chandler, 1977), cairan yang dihasilkan oleh traktus reproduksi pria dan wanita (cairan epididimis, seminal plasma, penimbunan di vagina/vagina pool, lendir servik, cairan uterin, cairan *oviduct*, ruang periviteline)

bahan perangsang dan penghambat antara lain : anorganik ion (Cu, Zn, Cd, Mn, Hg), produk ekskretori, neurofarmakologi, hormon, *cyclic nukleotid*, kinin, prostaglandin, pencemaran lingkungan spermatozoa dan faktor imunokemis (Hafez,1980). Prostaglandin mempunyai pengaruh terhadap kecepatan pergerakan spermatozoa. Asam lemak bebas seperti asam linoleat dan asam oleat menghambat motilitas spermatozoa, karena asam lemak bebas ini merupakan molekul lipid yang sangat toksik (Siegel et al, 1986).

2.4 Anatomi fungsional kelenjar seks aksesori pria

Ejakulat manusia terdiri dari spermatozoa dan plasma seminalis. Plasma seminalis berisi sekresi campuran dari kelenjar kelamin aksesori pria, tetapi sekresinya tidak dikeluarkan secara simultan. Mula-mula sekresi dari kelenjar cowperi dan litre, kemudian sekresi dari prostat dan segera diikuti oleh cairan yang kaya dengan spermatozoa dari ampula dan epididimis, terakhir dan terbanyak berasal dari vesikula seminalis (Moeloeck,1978)

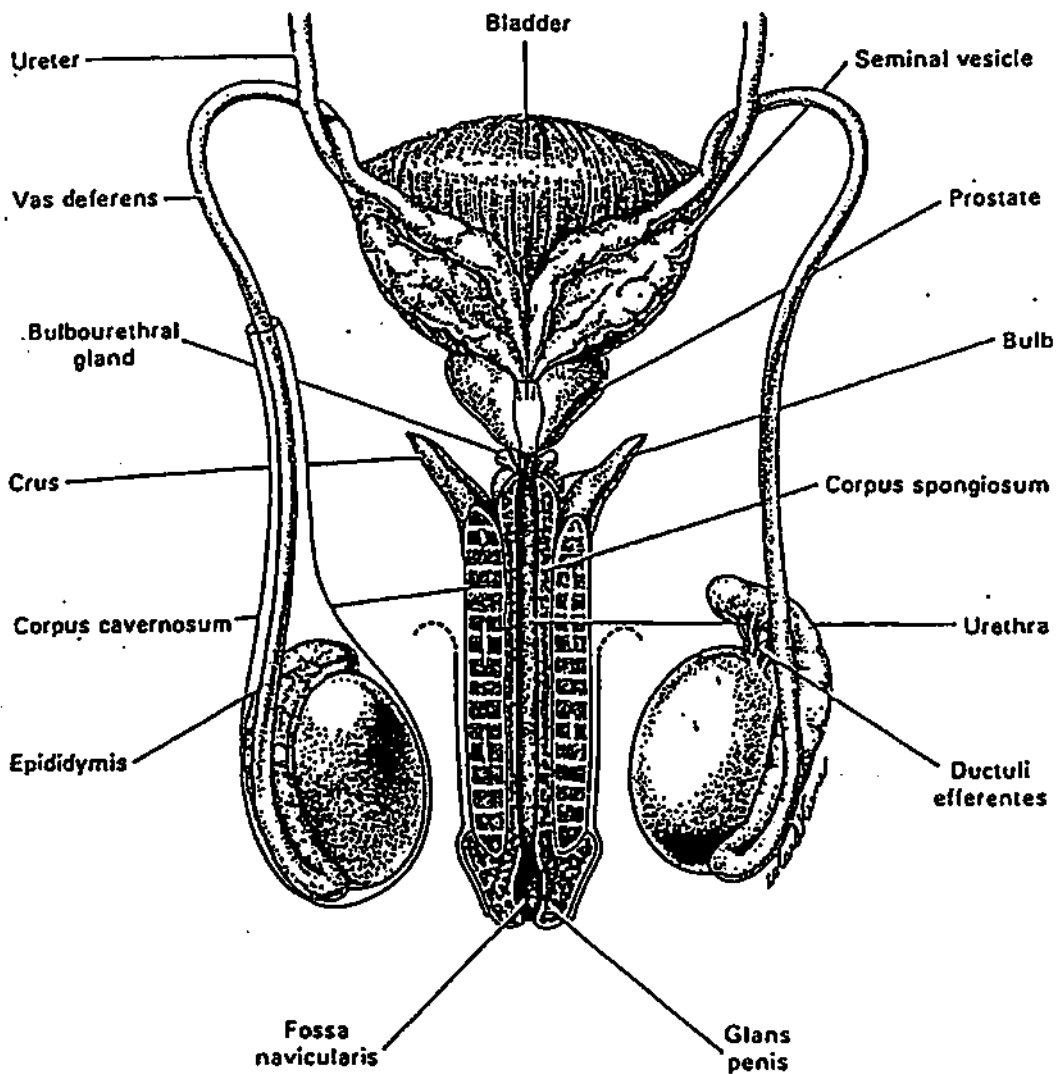
Kelenjar Bulbouretral (Cowperi) terdiri sepasang berbentuk bulat, terletak di bagian dorsal dan lateral dari uretra pars membranosa dan dibagian distal dari prostat. Beberapa kelenjar uretra yang kecil (Litre) terletak pada lapisan membranous uretra. Campuran sekresi kedua macam kelenjar kira-kira 0,1-0,2 ml. Cairan jernih, kaya mukoprotein, untuk pelumasan bagian distal uretra (Moeloeck,1978). Kelenjar Cowper ini berisi sialoprotein dan gula amino (informasi tentang hal ini tidak lengkap (Mills, Hafesz, 1980)

Kelenjar prostat terdiri dari otot polos dan jaringan kelenjar fibrous, terbagi atas 2 lobus lateralis dan 1 lobus medialis. Menempel pada kandung kencing. Prostat ditembus oleh uretra pars prostatika dan duktus ejakulatorius. Sekresi prostat 13-33% dari volume semen, kurang lebih 0,5 ml, warna jernih, sedikit asam (pH 6,5) berisi kadar asam sitrat yang tinggi. Cairan prostat dikenal dengan tidak adanya gula (fruktosa) dan tingginya konsentrasi kalsium, zinc, lysosim, alfa amilase (Zaneveld, 1975). Cairan prostat berisi faktor yang dapat menstimulir motilitas spermatozoa dan melindungi spermatozoa terhadap efek yang merusak dari cairan vesikula seminalis terhadap motilitas dan viabilitas, tetapi identifikasi faktor apa yang bersifat melindungi dan meningkatkan motilitas dan viabilitas masih belum ditemukan (Lindholmer, 1974). Secara lengkap kelenjar prostat ini berisi : asam fosfatase, albumin, alfa amilase, (glukoronidase, cepalin, kolesterol, kolin, asam sitrat, diastase, enzim fibrinolitik, inositol, magnesium, plasminogen aktivator, fosfolipid, enzim proteolitik, seminin, sodium, spermin, + spermidine, zinc. (Mills, Hafesz, 1980)

Epididimis dan vas deferens berfungsi untuk transportasi, maturasi dan penyimpanan spermatozoa. Epididimis berkelok-kelok membentuk struktur yang terletak pada bagian atas posterior dari testis. Vas deferens panjangnya lebih kurang 18 inchi dan bergabung dengan canalis epididimis dan uretra pars prostatika. Pada bagian fundus kandung kencing, vas deferens melebar menjadi berliku dan bagian kelenjar tersebut disebut ampula. Analisis histokimiawi dari cairan epididimis adalah

banyak lipid; glikogen, asam fosfatase yang kuat dan alkaline fosfatase yang lemah pada lumen dari duktus deferens.

Gambar anatomi sistem reproduksi pria adalah sebagai berikut :



Gambar 4 : Sistem reproduksi pria
Sumber : Mills, Hafez, 1980

Vesikula seminalis bagian bawahnya mengarah pada dasar dari prostat. Sekresinya bersifat basa/alkali dan sifat yang khas adalah adanya fruktosa. Cairan ini mengandung potasium yang tinggi, fosforikolin dan protein. Kelenjar ini merupakan sumber utama prostaglandin (Moeloek,1978). Secara lengkap cairan vesikula seminalis ini berisi asam askorbat, asam sitrat, fruktose, fosfat anorganik, inositol, laktoferin, fosforilkolin, prostaglandin, protein, inhibitor proteinase, sodium, sorbitol, asam uric (Mills , Hafesz, 1980).

2.5 Flora Normal Traktus Genitourinarius.

Flora normal adalah sekelompok jasad renik yang mendiami permukaan dalam dan luar dari manusia. Kulit dan selaput lendir selalu mengandung berbagai jasad renik yang dapat di kelompokkan dalam 2 golongan yaitu :

1. Flora yang menetap yang terdiri dari jasad renik yang jenisnya relatif tetap.
2. Flora sementara yang terdiri dari jasad renik tidak patogen atau potensial patogen yang mendiami kulit atau selaput lendir selama beberapa jam, hari, atau minggu. Anggota flora sementara umumnya kurang berarti selama flora penghuni normal tetap utuh , akan tetapi bila flora penghuni terganggu, jasad renik sementara dapat berkoloni, berproliferasi dan menimbulkan penyakit (Jawetz,1986).

Flora normal dapat dikategorikan sebagai pembantu(simbion), tidak membahayakan (komensal) dan berpotensi membahayakan (oportunis)(Volk &Wheeler, 1984). Pada keadaan tertentu simbion mungkin menimbulkan bahaya

dengan demikian menjadi patogen. Flora yang menetap pada daerah-daerah tertentu memegang peranan tertentu dalam mempertahankan kesehatan dan fungsi normal. Dalam keadaan tertentu Flora normal dapat menimbulkan penyakit. Organisme ini menyesuaikan diri dengan kehidupan yang tidak invasif. Bila dengan paksa disingkirkan dari lingkungan yang terbatas dan dimasukkan ke dalam aliran darah atau jaringan, organisme ini dapat menjadi patogen.

Pada saluran kencing, kecuali uretra eksternal pria, biasanya steril. Mikroorganisme dapat ditemukan pada genetalia eksterna, sedang di bagian lain umumnya tidak terdapat mikroorganisme yang menetap. Di orifium pria yang tidak disirkulasi sering dijumpai *Mycobacterium smegmatis*. Dijumpai pula *Difteroid*, *Streptococcus non hemolitik* dan *Staphylococcus epidermidis*.

2.6. *S. epidermidis*, *S. faecalis*, *E. aerogenes*, *E. coli*.

S. epidermidis koloninya berwarna putih atau kuning dan bersifat anaerob fakultatif, bersifat koagulase negatif, meragi glukosa, dalam keadaan anaerob tidak meragi manitol. *S. epidermidis* terdapat sebagai flora normal pada kulit manusia dan pada umumnya tidak menjadi masalah bagi orang normal yang sehat. Organisme ini penyebab infeksi saluran kencing terutama pada pasien anak-anak dan laki-laki lanjut usia yang mengalami gangguan instrumen uretra. (Joklik, et al, 1984)

Streptococcus faecalis umumnya tumbuh sebagai diplococcus atau rantai pendek. Merupakan flora normal usus besar. Sering berhubungan dengan infeksi



saluran kencing. (Joklik, et al, 1984). Sel oval ukuran $0,6-0,2 \times 0,6-2,5 \mu\text{m}$. Tidak membentuk endospora, gram positif, fakultatif anaerob, katalase negatif, suhu optimum 37 derajat Celcius, memfermentasi laktose, terutama hidup di faeces. (Holt, et al.,1994). *Streptococcus faecalis* (Group D Streptococci) jarang motil. *Streptococcus faecalis* adalah beta haemolitik. Struktur antigen Streptococcus Group D (*S. faecalis*, *S faecium*, *S. duran*, *S. bovis*, *S. equinus*) bukan karbohidrat dinding sel , tetapi gliserol asam teikoid yang berisi glukose dan D alanin. Struktur peptidoglikan bervariasi pada group D, terutama bagian peptidanya yaitu *S. faecalis* berisi hanya asam glutamat, lisin dan alanin, sementara *S. faecium* dan *S durans* berisi asam aspartat dan *S bovis* , *S equinus* berisi threonin. Streptococcus group D paling sering terdapat pada organ respiratorius atas, gastrointestinal dan traktus genitourinarius. Infeksi sebagian besar hasil dari invasi flora normal ini. *Streptococcus faecalis* adalah yang paling sering berkaitan dengan infeksi urinarius (Joklik, et al, 1984).

Enterobacter aerogenes adalah batang gram negatif, anaerob fakultatif, melakukan metabolisme dengan respirasi dan fermentasi, temperatur optimal 30-37 derajat Celcius, indol negatif. D glukose dan karbohidrat yang lain dikatabolisme menghasilkan asam dan gas . Reaksi metil red bervariasi, lisin negatif tidak menghasilkan H_2 S. Oportunis patogen , menyebabkan meningitis dan infeksi saluran kemih. (Holt et al., 1994)

E. coli adalah kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi pada jaringan tubuh di luar usus. *E. coli* berbentuk batang pendek, gram negatif, ukuran 0,4-0,7 μm , sebagian besar bergerak. Beberapa strain mempunyai kapsul. *E. coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi. *E. coli* umumnya memfermentasikan laktose, mempunyai lisin decarboksilase, menghasilkan indol.

E. coli mempunyai antigen O, H dan K dan F. Antigen O adalah antigen polisakarida, antigen H adalah flagelar protein, F antigen adalah fimbriae protein. *E. coli* mempunyai 2 tipe fimbriae yaitu tipe manose sensitif (pili) dan tipe manose resisten. Ke dua tipe fimbriae ini penting sebagai faktor kolonisasi yaitu untuk perlekatan sel kuman ke jaringan. Pada beberapa strain, membran *E. coli* ditutup oleh kapsul polisakarida yang disusun dengan sebutan K antigen. Polisakarida yang lain adalah antigen M (asam kolamik yaitu polimer dari glukosa, galaktose, fruktosa dan asam galakturonik) yang disintesis ketika organisme ditempatkan di bawah osmolaritas yang tinggi, temperatur rendah dan kelembaban rendah. Secara normal bahan-bahan ini disintesis untuk merespon kondisi lingkungan yang buruk.

Periplasma dan dinding sel *E. coli* merupakan derivat membran oligosakarida.

Periplasma *E. coli* berisi sekitar 40 protein, termasuk

- a. Protein pengikat asam amino, gula, vitamin dan ion.
- b. Phosphatase, protease dan endonuklease

c. Laktamase, alkil sulfa dehidrase, aminoglicosidase, fosforilating enzim.

Pada banyak bakteri, dinding *E. coli* berisi peptidoglikan yang bertanggung jawab untuk bentuk sel dan *rigidity cell*. Pada *E. coli* peptidoglikan sangat tebal. (Schaechter, 1992).

2.7. Pengaruh Spesies Bakteri Dan Ratio Spermatozoa / Bakteri Terhadap Kualitas Spermatozoa Manusia.

Spesies bakteri yang berbeda dan jumlah bakteri yang berbeda menghasilkan spektrum patologis yang berbeda (Michelmann, 1998). Masing-masing spesies bakteri yang berbeda tersebut mempunyai derajat patogenitas yang berbeda, karena toksigenitas (kemampuan menghasilkan toksin), daya invasi (kemampuan memasuki jaringan, berkembang biak, mengatasi pertahanan tubuh hospes dan kemampuan menyebar) serta adhesivitas (kemampuan melekat) dari setiap spesies bakteri tersebut berbeda-beda. Oleh karena itu apabila masing-masing spesies bakteri yang mempunyai derajat patogenitas yang berbeda tersebut menginfeksi spermatozoa mengakibatkan pengaruh yang berbeda pula terhadap kualitas spermatozoa. Hal ini telah dibuktikan dari hasil penelitian beberapa peneliti.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Huwe (1998) yang menginfeksi spermatozoa secara *in vitro* dengan *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus* (*Streptococcus faecalis*), *Pseudomonas aerogenes*, *E. coli*, dan *Candida albicans* mendapatkan hasil bahwa *Staphylococcus saprophyticus* dan *Enterococcus* tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa, *Pseudomonas aerogenes* dan *Candida*

albicans dapat menurunkan motilitas spermatozoa, sedangkan *E. coli* setelah 6 jam inkubasi dapat menyebabkan spermatozoa menjadi immotil. Hal yang sama juga dinyatakan pada penelitian Diemer (1996) yaitu bahwa *E. coli* dapat menyebabkan spermatozoa immotil pada 6 jam inkubasi pada ratio spermatozoa / bakteri 1: 10 dan 1:100.

Kohn (1998), yang menginfeksi spermatozoa secara *in vitro* dengan *M. hominis* dan *E. coli* mendapatkan hasil bahwa *E. coli* secara bermakna menurunkan motilitas spermatozoa setelah 3 jam inkubasi, dan *M. hominis* secara bermakna menurunkan motilitas spermatozoa setelah 3 dan 6 jam inkubasi pada konsentrasi yang rendah dan tinggi.

Tjandrakirana (1998), yang menginfeksi spermatozoa dengan *Chlamydia trachomatis* berkesimpulan bahwa *Chlamydia trachomatis* dapat melekat dan merusak akrosom serta membran spermatozoa hingga merusak morfologis spermatozoa, menurunkan motilitas, mempengaruhi reaksi akrosom, mengaglutinasi spermatozoa, menurunkan pH dan meningkatkan viskositas plasma semen.

Neisseria gonorrhoe dan *Chlamydia trachomatis* dapat melekat ke spermatozoa yang menyebabkan *Coiled tail* (Batoov et al., 1991).

Pada penelitian Wolff (1993) yang menggunakan 8 mikroorganisma yang menginfeksi traktus genitalis yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas agalactiae*, *Pseudomonas aerogenes*, *Enterococci*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *E. coli* di dapat hasil bahwa hanya *Klebsiella pneumoniae* dan *E. coli* yang mampu berinteraksi dengan spermatozoa. Dengan transmisi elektron

mikroskop telah ditunjukkan bahwa *E. coli* melekat pada kepala dan ekor spermatozoa. Dari hasil penelitiannya juga di dapatkan bahwa *E. coli* dapat menyebabkan aglutinasi spermatozoa. Kecepatan aglutinasi spermatozoa/ *E. coli* menunjukkan kuatnya kekuatan adhesive. Dimanakah ligandnya? . Dengan elektron mikrograf, Wolff (1993) telah menunjukkan bahwa ligand untuk *E. coli* pada spermatozoa ada pada kepala dan ekor yaitu pada membran plasma spermatozoa. Ligand *E. coli* mungkin juga bagian dari membran plasma. Apakah ligandnya ? . Telah diketahui bahwa perlekatan *E. coli* ke sel mukosa usus manusia diperantarai oleh manose yaitu gula yang ada pada permukaan sel beberapa mamalia (Beachey, 1981).

Bartoov et al (1991) juga telah menunjukkan bahwa manose memainkan peranan dalam perlekatan *E. coli* ke spermatozoa. Perlekatan itu diperantarai oleh manose yang ada pada permukaan spermatozoa dan struktur ikatan manose yang ada pada *E. coli*. Dan telah diketahui bahwa manose terikat ke Fimbriae tipe 1 pada *E. coli* (Beachey, 1988). Struktur ini berinteraksi dengan manose pada spermatozoa. Hal ini telah di dukung oleh kenyataan bahwa tidak ada perlekatan spermatozoa ke strain *E. coli faeces*.

Wolff (1993) dalam Diemer (1996) akhirnya telah menunjukkan bahwa perlekatan *E. coli* ke spermatozoa disebabkan oleh ke dua struktur ikatan manose pada membran spermatozoa dan kapsul pada *E. coli*.

Selain spesies bakteri jumlah atau ratio spermatozoa/ bakteri juga berpengaruh terhadap terhadap motilitas spermatozoa. Pengaruh ratio

spermatozoa/bakteri terhadap motilitas spermatozoa tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut : bahwa pada prinsipnya bakteri berpengaruh terhadap spermatozoa hanya ketika bakteri tersebut mengadakan kontak dengan spermatozoa. Penurunan motilitas terjadi jika jumlah bakteri banyak dan jumlah spermatozoa sedikit (Auroux, 1991). Hal ini bisa dijelaskan bahwa semakin banyak bakteri (semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri) maka kesempatan kontak bakteri dengan spermatozoa semakin besar, bila jumlah bakteri sedikit (ratio spermatozoa/bakteri besar) maka bakteri jarang mempunyai kesempatan kontak dengan spermatozoa. Dengan demikian semakin tinggi ratio spermatozoa/ bakteri, maka semakin besar kemungkinan terjadinya penurunan motilitas, dan semakin rendah ratio spermatozoa /bakteri maka semakin kecil untuk terjadinya penurunan motilitas.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual

Infeksi traktus genitalis telah di akui sebagai penyebab infertilitas. Hal ini di sebabkan infeksi traktus genitalis menyebabkan tercemarnya lingkungan hidup spermatozoa. Bila lingkungan hidup spermatozoa tercemar menyebabkan kualitas spermatozoa menurun. Menurunnya kualitas spermatozoa ini mungkin disebabkan karena efek langsung mikroorganisme pada spermatozoa, misalnya perlekatan bakteri ke spermatozoa (Wolff, 1993), atau karena adanya sitotoksin yang di keluarkan oleh mikroorganisme (Paulson dan Polakoski, 1977) atau secara tidak langsung bakteri dapat menyebabkan prostatitis, epididimitis, vesikula seminalitis dan orchitis (Ulstein, et al, 1976) atau oleh efek yang merugikan dari rangsangan proses inflamasi, misalnya tingginya polymorphonuclear lekosit (Wolff et al, 1990), makrofage dan toksin yang di hasilkan oleh makrofage (Hill et al, 1987).

Bakteri yang terbukti mencemari spermatozoa adalah bakteri patogen dan non patogen. Bakteri patogen dan non patogen mempunyai kemampuan yang berbeda. Bakteri patogen dapat menghindari, mengganggu dan menghambat fagositosis oleh karena adanya *antiphagocytic capsules*. Bakteri ini sukar di fagosit, di samping itu juga memproduksi metabolit berupa enzim-enzim ekstra sel.

E. coli tergolong bakteri patogen yang paling sering menyebabkan prostatitis dan epididimitis (Comhaire et al,1980, Purvis dan Christiansen, 1993,

Weidner et al, 1991). Pada penelitian tentang infeksi traktus genitalis secara *in vitro* sering menggunakan *E. coli* sebagai mikroorganisme standar penginfeksi spermatozoa dengan hasil bahwa *E. coli* dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Sedangkan dari hasil survey yang peneliti lakukan di Klinik Infertilitas Rumah Sakit Budi Mulya Surabaya, di dapat bahwa dari 1727 sampel semen yang dikultur mulai tahun 1990 sampai dengan tahun 1997 sebagian besar semen terinfeksi *Staphylococcus epidermidis* (65,84%), *Enterobacter aerogenes* (20,9%) *Streptococcus faecalis* (9,4%), *Staphylococcus aureus* (2,4%), *Streptococcus viridans* (0,52%), *Pseudomonas* (0,46%), *E.coli* (0,35%), *S. Pyogenik* (0,13%). *S. epidermidis*, *S. faecalis*, *E. aerogenes* tersebut belum diketahui apakah berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa, serta pada penelitian tentang infeksi traktus genitalis secara *in vitro* belum banyak diteliti.

Toksigenitas (kemampuan menghasilkan toksin), daya invasi (kemampuan memasuki jaringan , berkembang biak, mengatasi pertahanan tubuh hospes dan kemampuan menyebar) serta adhesivitas (kemampuan melekat) dari setiap spesies bakteri tersebut di atas berbeda-beda. Toksigenitas, daya invasi dan adhesivitas ini menentukan derajat patogenitas, sehingga setiap spesies bakteri mempunyai derajat patogenitas yang berbeda. Oleh karena itu bila masing-masing spesies bakteri yang mempunyai derajat patogenitas yang berbeda tersebut menginfeksi traktus genitalis maka mengakibatkan pengaruh yang berbeda pula terhadap kualitas spermatozoa. Jadi spesies bakteri yang menginfeksi traktus genitalis berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa.

Di samping spesies bakteri, jumlah bakteri penginfetir juga berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa, karena jumlah bakteri juga menentukan derajat patogenitas. . Pengaruh jumlah bakteri atau ratio spermatozoa /bakteri terhadap kualitas spermatozoa dapat dijelaskan sebagai berikut : Pada prinsipnya bakteri berpengaruh terhadap spermatozoa hanya ketika bakteri tersebut mengadakan kontak dengan spermatozoa . Penurunan motilitas terjadi jika jumlah bakteri banyak dan jumlah spermatozoa sedikit (Auroux, 1991). Hal ini bisa di jelaskan bahwa semakin banyak bakteri (semakin tinggi ratio spermatozoa/ bakteri) , maka kesempatan kontak bakteri dengan spermatozoa semakin besar, bila jumlah bakteri sedikit (ratio spermatozoa/ bakteri besar) maka bakteri jarang mempunyai kesempatan kontak dengan spermatozoa. Dengan demikian semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri maka semakin besar kemungkinan terjadinya penurunan kualitas spermatozoa, dan semakin rendah ratio spermatozoa/bakteri maka semakin kecil untuk terjadinya penurunan kualitas spermatozoa.

Menurut Michelmann, (1998) spesies bakteri yang berbeda dan jumlah bakteri yang berbeda, menghasilkan spektrum patologis yang berbeda . Dengan demikian apabila spesies bakteri yang berbeda dan jumlah bakteri yang berbeda tersebut menginfeksi spermatozoa, maka mengakibatkan pengaruh yang berbeda pula terhadap kualitas spermatozoa.

3.2. Hipotesis.

1. Ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap kualitas spermatozoa manusia yang diinkubasi selama 0 jam, 3 jam dan 6 jam secara *in vitro*.
2. Spesies bakteri yang paling menurunkan kualitas spermatozoa manusia adalah *E. coli*. Ratio spermatozoa /bakteri yang paling menurunkan motilitas spermatozoa adalah 1:10.
3. Penambahan antibiotik pada inkubasi spermatozoa-bakteri mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

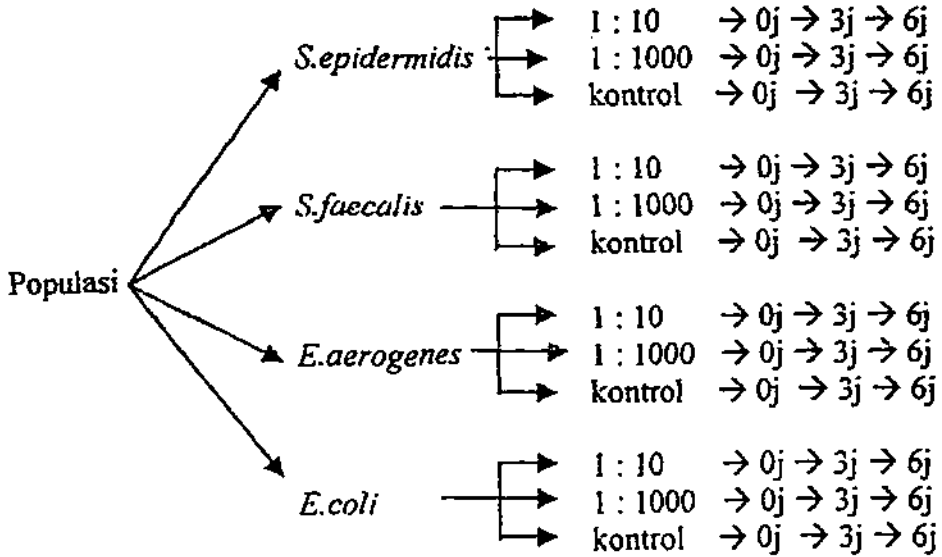
Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik, yang terdiri atas 2 macam eksperimen yaitu :

Eksperimen pertama, untuk mengetahui pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap kualitas spermatozoa manusia yang di inkubasi selama 0 jam, 3 jam dan 6 jam secara *in vitro*. Kualitas spermatozoa yang dimaksud pada penelitian ini adalah motilitas spermatozoa dan aglutinasi spermatozoa. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Control Group Extended Post Test Only Design*.

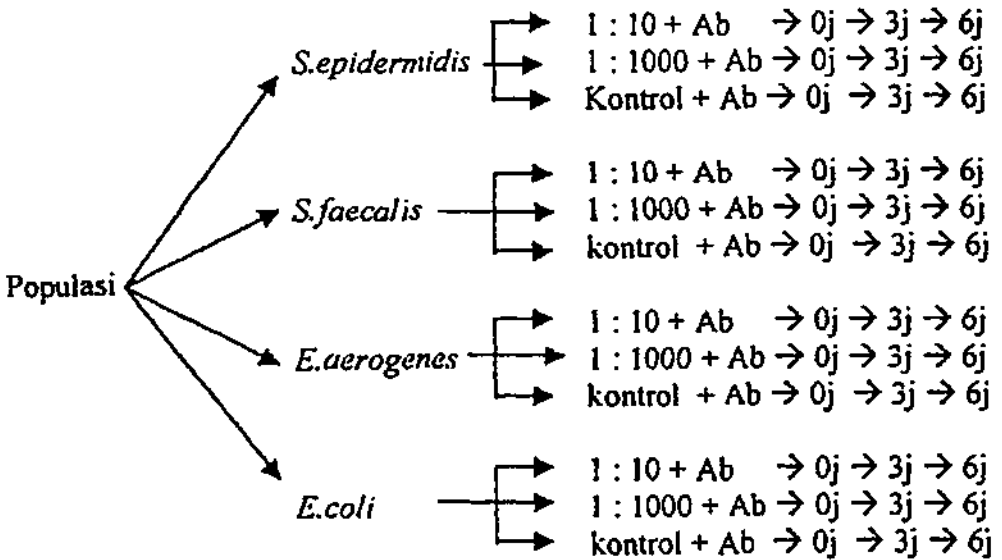
Eksperimen kedua, untuk membuktikan kemampuan antibiotik mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa. Spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri serta lama inkubasi yang digunakan sama pada eksperimen 1. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Control Group Extended Post Test Only Design*.

Diagram rancangan penelitian tersebut adalah sebagai berikut :

Pada eksperimen 1



Pada eksperimen 2



Pada penelitian ini eksperimen 1 dan 2 dikerjakan pada waktu yang sama dan pada sampel yang sama. Sehingga hasilnya nanti bisa dibandingkan antara yang diberi antibiotik (eksperimen 2) dan tanpa anti biotik (eksperimen 1)

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pria yang mempunyai spermatozoa normal menurut kriteria WHO, 1992.

4.2.2. Sampel

Untuk menentukan besar sampel digunakan rumus sebagai berikut :

$(t - 1)(r - 1) \geq 20$, dimana $t = \text{treatment}$

$r = \text{replikasi (Steel and Torrie, 1991)}$

Pada eksperimen 1, terdiri dari 2 faktor yaitu faktor spesies bakteri dan faktor ratio spermatozoa/bakteri.

Faktor spesies bakteri terdiri dari :

- I. *Staphylococcus epidermidis*
- II. *Streptococcus faecalis*
- III. *Enterobacter aerogenes*
- IV. *Escherichia coli*

Faktor ratio spermatozoa/bakteri terdiri dari :

- A. 1 : 10
- B. 1 : 1000
- C. Kontrol

Dari faktor 1 dan 2 didapat 12 kombinasi perlakuan. Dengan menggunakan rumus diatas didapatkan 2,8 (dibulatkan 3) pengulangan. Adapun kombinasi perlakuan tersebut adalah :

IA	IIA	IIIA	IVA
IB	IIB	IIIB	IVB
C	C	C	C

Pada eksperimen 2, juga didapatkan 12 kombinasi perlakuan, sehingga juga dilakukan 3 pengulangan. Kombinasi perlakuan tersebut adalah :

IA + Ab	IIA + Ab	IIIA + Ab	IVA+Ab
IB + Ab	IIB + Ab	IIIB + Ab	IVB+Ab
C + Ab	C + Ab	C + Ab	C + Ab

Jadi pada penelitian ini, pada eksperimen 1 diperlukan 3 sampel dan eksperimen 2 diperlukan 3 sampel, sehingga digunakan 6 sampel.

Dalam pelaksanaan eksperimen, karena eksperimen 1 dan 2 dikerjakan pada sampel yang sama (sehingga hasilnya bisa dibandingkan), maka pada eksperimen 1 dan 2 dilakukan 6 pengulangan.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

4.3.1. Variabel penelitian

Variabel bebas : spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri, penambahan antibiotik, lama inkubasi

Variabel tergantung : motilitas spermatozoa, aglutinasi spermatozoa

Variabel kendali : spermatozoa normal menurut kriteria WHO, 1992, spermatozoa dicuci dengan metode kolom bertingkat Percoll.

4.3.2. Definisi operasional variabel

- a. Spesies bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*. *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* di peroleh dengan mengkultur semen, sedangkan *Escherichia coli* diperoleh dengan mengkultur cairan prostat.
- b. Ratio spermatozoa / bakteri yang digunakan adalah 1 : 10, 1 : 1000, 1 : 10 + Ab, 1 : 1000 + Ab, Kontrol, Kontrol + Ab.
Ratio spermatozoa/bakteri 1:10 artinya 10 spermatozoa dengan 1 bakteri.
Ratio spermatozoa/bakteri 1:1000 artinya 1000 spermatozoa dengan 1 bakteri.
- c. Antibiotik yang digunakan adalah penisilin dengan dosis 8 µgr/ml

d. Kualitas spermatozoa yang dimaksud pada penelitian ini adalah motilitas dan aglutinasi spermatozoa. Motilitas spermatozoa dihitung banyaknya spermatozoa yang termasuk di dalam setiap kategori yang telah ditentukan WHO, 1992 yang terdiri dari kategori (a), (b), (c), (d), disebut :

- (a) apabila spermatozoa bergerak cepat ke depan
- (b) apabila spermatozoa bergerak lambat ke depan
- (c) apabila spermatozoa hanya bergetar di tempat
- (d) apabila spermatozoa tidak bergerak dan tidak bergetar

Pada penelitian ini motilitas spermatozoa yang dianalisis datanya adalah motilitas kategori a dan a + b. Aglutinasi spermatozoa yang dimaksud adalah sperma motil saling melekat kepala dengan kepala, bagian tengah dengan bagian tengah, ekor dengan ekor atau kombinasinya, misalnya kepala dengan ekor. Melekatnya spermatozoa motil atau tidak motil pada sel bukan sperma tidak dianggap aglutinasi dan tidak dicatat sebagai aglutinasi.

e. Lama inkubasi yang digunakan adalah 0 jam, 3 jam dan 6 jam.

4.4. Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1. Bahan penelitian

Spermatozoa normal menurut kriteria WHO, 1992, bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia*

coli. Media biakan bakteri : *blood agar*, agar coklat, nutrient agar, EMB agar, Mc Conkey agar.

Bahan identifikasi bakteri : ammonium kristal violet, larutan yodium lugol, larutan aseton alkohol, larutan safranin, TSIA, urease base agar, Media MR-VP, laktose, maltose, sukrose, mannose, Media uji indol, H₂O₂, serum, media uji lisin, pereaksi MR, pereaksi VP, agar citrat.

Bahan pencucian spermatozoa : larutan Percoll 90% dan 45%, media Earle's antibiotik penisilin, kertas pH.

4.4.2. Alat penelitian

Makler Counting Chamber, Hemositometer Neubauer, Spektroskop, Mikroplate, Mikropipet, Mikrosyringe, Timbangan elektrik, Autoclave, Inkubator, Centrifuge, Ose, Ependoff, Cawan Petri, Tabung Reaksi, Mikroskop Inverted, Mikroskop fase kontras, lampu Spiritus, Alat Homogenisasi (vortexing).

4.5. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bayi Tabung RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan Laboratorium Biologi Medisinal FMIPA Universitas Airlangga. Waktu penelitian di mulai bulan Juli 1998 sampai dengan Desember 1998.



Gambar 1 :Gambar mikroskop inverted

4.6. Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data

Untuk mendapatkan data pada penelitian ini dilakukan 3 tahap. Tahap pertama dilakukan persiapan bakteri. Tahap kedua dilakukan persiapan spermatozoa dan tahap ketiga dilakukan pencampuran/perlakuan spermatozoa dengan bakteri.

4.6.1. Persiapan bakteri

Untuk memperoleh bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli* dilakukan kultur semen pria

UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

infertil dan cairan prostat pria penderita prostat dan gangguan instrumen saluran kencing. Pada penelitian ini ke-3 spesies bakteri pertama diperoleh dari mengkultur semen pria pasangan infertil yang berkunjung ke laboratorium infertilitas RS. Budi Mulya Surabaya, sedangkan *Escherichia coli* diperoleh dari mengkultur cairan prostat pria penderita prostat dan gangguan instrumen saluran kencing yang berkunjung ke Poli Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pada tahap ini langkah pertama yang dilakukan adalah sampel/semén ditanam pada *Blood agar*, Mc Conkey dan EMB dengan metode Pour Plate. Semen ditanam pada *Blood agar* untuk menangkap *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus faecalis*, sedang pada media Mc. Conkey dan EMB digunakan untuk menangkap *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli*. Biakan tersebut setelah 24 jam diamati pertumbuhan koloninya meliputi warna, diameter koloni, bentuk koloni, disamping itu untuk pertumbuhan bakteri di *Blood agar* diamati juga hemolisis atau non hemolisis. Koloni bakteri yang dicurigai ditanam di media baru dan diinkubasi 24 jam. Setelah dilakukan pengamatan secara makroskopis, kemudian dilakukan pengamatan morfologi secara mikroskopis pada biakan yang berumur 24 jam. Hal ini dilakukan dengan pewarnaan gram. Dari hasil pewarnaan gram :

- Apabila bakteri berbentuk coccus gram (+), kemudian biakan kita tanam pada Nutrient agar miring 24 jam 37°C lalu ditanam lagi pada MH Broth 24 jam 37°C untuk uji katalase dan koagulase.
- Apabila basil gram (-), maka kita tanam pada Nutrient agar miring 24 jam 37°C, lalu dilakukan uji fisiologi/biokimia, dimana sifat-sifat yang dimiliki *E. coli* dan *Enterobacter aerogenes* adalah sebagai berikut :

	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Gram 24 jam	-	-
Indol	+	-
MR	+	-
VP	-	+
Citrat	-	+
H ₂ S	-	-
Urea	-	-
Lysin	+	+
Motilitas	+	+
Glucose, Asam	+	+
Glucose, Gas	+	+
Produk Asam+Gas		
-Laktose	+	+
-Maltose	+	+
-Mannose	+	+

Setelah dilakukan identifikasi dengan hasil sesuai dengan sifat-sifat bakteri yang dikehendaki, berarti telah diperoleh isolat bakteri sesuai dengan yang kita inginkan. Kemudian membuat suspensi masing-masing spesies bakteri dengan konsentrasi 10 kali lebih rendah dan 1000 kali lebih rendah dari konsentrasi spermatozoa hasil Percoll. Misal bila konsentrasi spermatozoa hasil Percoll 4 jt/ml, maka dibutuhkan bakteri sejumlah 400.000/ml untuk ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 4000 bakteri/ml untuk ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000.

Untuk memperoleh bakteri sejumlah 400.000 tersebut dengan cara :

- Kita ambil biakan bakteri dari masing-masing spesies yang berumur 24 jam dengan menggunakan ose lalu ditanam pada 4 ml media Earle's. Kemudian dihomogenisasi, lalu dibandingkan kekeruhannya dengan standar Mc Farland. Standar Mc Farland ini dibuat dengan cara mencampur larutan $BaCl_2$ 1,175% sebanyak 0,05 ml dengan 9,95 ml larutan H_2SO_4 1% kemudian dikocok (dihomogenisasi) lalu standar Mc Farland ini diukur kekeruhannya dengan spektronik. Standar Mc Farland ini setara dengan sejumlah bakteri $1,5 \cdot 10^8$ /ml.

Media earle's yang ditanami bakteri tadi diukur kekeruhannya dengan spektronik. Kekeruhannya harus sama dengan kekeruhan standar Mc Farland. Apabila kekeruhannya lebih rendah dari standar Mc Farland maka ditambah bakteri lagi, bila kekeruhannya melebihi standar Mc Farland maka diencerkan dengan media Earle's. Apabila media Earle's

yang ditanami bakteri tadi sudah sesuai kekeruhannya dengan standar Mc Farland berarti berisi bakteri $1,5 \cdot 10^8/\text{ml}$. untuk memperoleh bakteri sejumlah 400.000/ml dengan cara pengenceran. Untuk memperoleh bakteri sejumlah 4000/ml dengan cara diambil dari biakan 400.000/ml kemudian diencerkan 100 kali.

4.6.2. Persiapan spermatozoa

Spermatozoa berasal dari ejakulat yang diperoleh dengan cara masturbasi dan ditampung kedalam botol kaca atau plastik steril yang bermulut lebar. Ejakulat diambil setelah abstinensia sedikitnya 48 jam dan tidak lebih lama dari 7 hari. Donor sebelum mengeluarkan ejakulat, diminta untuk mengeluarkan air seninya terlebih dahulu kemudian mencuci tangan dan penisnya sebelum ejakulat ditampung dalam botol steril.

Kemudian dilakukan analisis sperma sesuai dengan kriteria WHO, 1992.

Adapun kriteria sperma normal tersebut adalah sebagai berikut :

Volume	: 2 ml atau lebih
pH	: 7,2 – 7,8
Jumlah Sperma/ml	: 20 juta/ml atau lebih
Motilitas	: a > 25% atau a + b \geq 50%
Morfologi normal	: >30%
Sel Leukosit	: Kurang dari 1 juta/ml

Dari hasil analisis sperma, hanya sperma yang memenuhi kriteria WHO, 1992 yang digunakan sebagai sampel. Kemudian semen dicuci dengan metode kolom bertingkat Percoll. Pencucian spermatozoa dengan metode kolom bertingkat Percoll ini bertujuan untuk membuang mikroorganisme, sel-sel lekosit, teratozoopermia sehingga diperoleh spermatozoa yang benar-benar steril dengan kualitas spermatozoa yang sangat baik (hampir semua spermatozoa mempunyai motilitas kategori a). Untuk memastikan bahwa spermatozoa hasil Percoll benar-benar steril dilakukan pewarnaan gram. Kemungkinan adanya virus pada penelitian adalah diabaikan. Prosedur pencucian spermatozoa dengan metode kolom bertingkat Percoll tersebut adalah sebagai berikut :

Sebanyak 1,5 ml spermatozoa diletakkan diatas lapisan Percoll 2 lapis (Percoll 45% dibagian atas dan 90% dibagian bawah) dalam tabung sentrifus. Dilakukan pemusingan selama 20 menit pada 350 – 450 g kemudian supernatan dibuang sampai dekat dengan endapan. Ditambahkan 2 ml media Earle's dan dilakukan pencampuran kemudian dilakukan pemusingan selama 5 – 10 menit pada 300 – 400 g. Kemudian supernatan dibuang. Diatas endapan secara hati-hati ditambahkan 0,5 ml media Earle's.

Spermatozoa hasil pencucian dengan metode kolom bertingkat Percoll ini kemudian dianalisis motilitasnya dan dihitung konsentrasinya dengan haemositometer Neubaur. Adapun caranya adalah sebagai berikut :

Siapan spermatozoa hasil Percoll ditetaskan pada kamar haemositometer. Segi empat utama kisi-kisi haemositometer terdiri atas 25 segi empat besar yang masing-masing terdiri 16 segiempat yang lebih kecil. Jika siapan mengandung kurang dari 10 spermatozoa setiap segiempat besar, maka seluruh 25 segiempat besar harus dicacah, jika siapan mengandung 10 sampai 40 spermatozoa setiap segi empat besar maka dicacah 10 segi empat besar. Untuk siapan yang mengandung 40 spermatozoa setiap segi empat besar, maka 5 segi empat besar dicacah.

Untuk menentukan jumlah spermatozoa dalam siapan asal dalam juta/ml dengan membagi jumlah spermatozoa dengan faktor konversi sesuai pada tabel dibawah ini :

Pengenceran	Jumlah Segi Empat Besar Yang Dicacah		
	25	10	5
1 + 9	10	4	2
1 + 19	5	2	1
1 + 49	2	0,8	0,4

4.6.3. Pencampuran/ Perlakuan spermatozoa dengan bakteri

Setelah dilakukan persiapan spermatozoa dan bakteri lalu dilakukan eksperimen 1 dan 2. Eksperimen 1 dan 2 ini dikerjakan bersamaan dan pada sampel yang sama. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

- Spermatozoa hasil Percoll dibagi 2 yaitu untuk eksperimen 1 dan 2. Pada eksperimen 1 spermatozoa hasil Percoll dibagi 4 kelompok (A, B, C dan D), tiap kelompok dibagi 3 bagian. Pada setiap kelompok, masing-masing bagian diberi perlakuan sebagai berikut :
 - A. Spermatozoa dicampur *Staphylococcus epidermidis* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10, 1 : 1000, kontrol.
 - B. Spermatozoa dicampur *Streptococcus faecalis* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10, 1 : 1000, kontrol.
 - C. Spermatozoa dicampur *Enterobacter aerogenes* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10, 1 : 1000, kontrol.
 - D. Spermatozoa dicampur *E. coli* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10, 1 : 1000, kontrol.

Pada eksperimen 2

Spermatozoa hasil Percoll dibagi 4 kelompok (A, B, C dan D). Tiap kelompok dibagi 3 bagian. Pada tiap kelompok masing-masing bagian diberi perlakuan sebagai berikut :

- A. Spermatozoa dicampur *Staphylococcus epidermidis* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 + Ab, 1 : 1000 + Ab, kontrol + Ab.
- B. Spermatozoa dicampur *Streptococcus faecalis* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 + Ab, 1 : 1000 + Ab, kontrol + Ab.
- C. Spermatozoa dicampur *Enterobacter aerogenes* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 + Ab, 1 : 1000 + Ab, kontrol Ab.

D. Spermatozoa dicampur *E. coli* dengan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 + Ab, 1 : 1000 + Ab, kontrol + Ab,

Kemudian dilakukan pengamatan terhadap motilitas -dan aglutinasi spermatozoa pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam dengan mikroskop inverted. Selama inkubasi, mikropate yang berisi spermatozoa-bakteri ditutup aluminium foil lalu diletakkan pada suatu kotak kaca tertutup yang alasnya sudah diberi kapas dan kasa yang telah dibasahi untuk menjaga kelembabannya.

4.7. Pengamatan

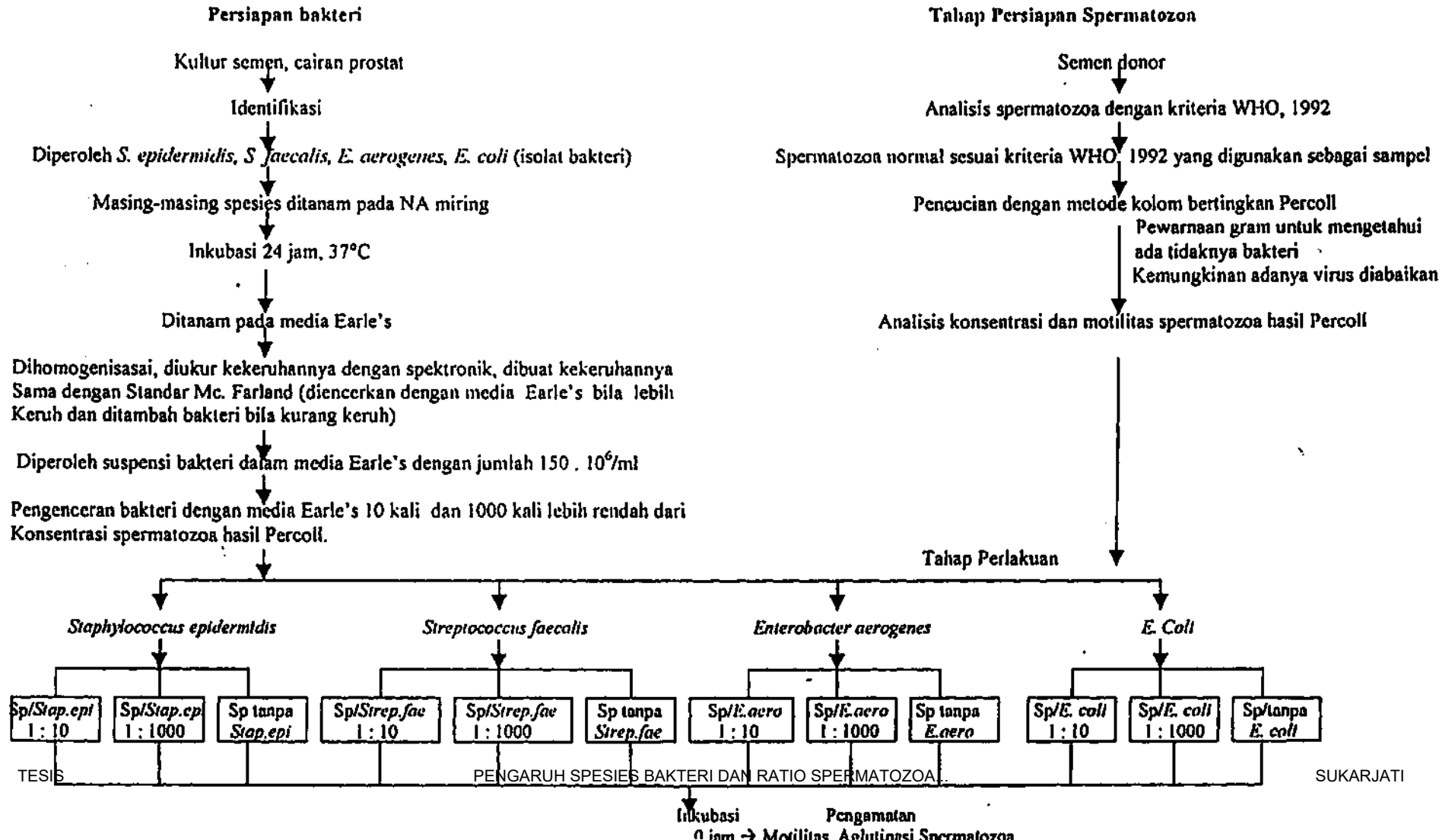
4.7.1 Pengamatan motilitas

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dibawah mikroskop inverted dengan pembesaran 400 kali. Pemeriksaan dilakukan terhadap 100 spermatozoa pada 4 lapangan pandang. Motilitas spermatozoa ditentukan dengan kategori menurut WHO, 1992 yaitu kategori a, b, c dan d.

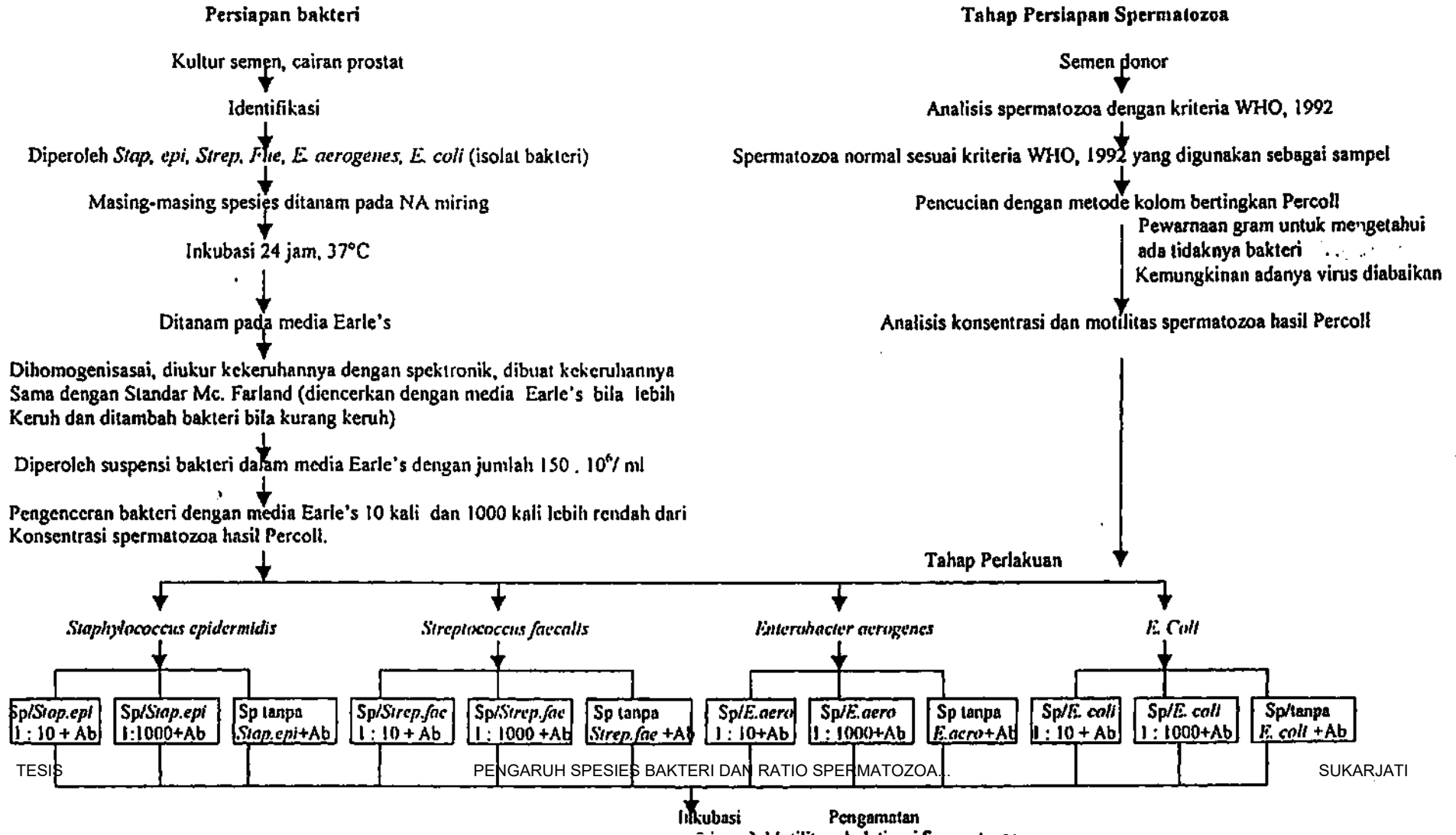
4.7.2 Pengamatan aglutinasi

Pengamatan aglutinasi dilakukan setelah pengamatan motilitas. Dihitung prosentase aglutinasi spermatozoa yaitu spermatozoa motil saling melekat kepala dengan kepala, bagian tengah dengan bagian tengah, ekor dengan ekor atau campuran seperti bagian tengah dengan ekor. Melekatnya spermatozoa tidak motil atau motil pada sel bukan spermatozoa tidak dianggap aglutinasi

Bagan langkah kerja eksperimen 1



Bagan langkah kerja eksperimen 2



4.8. Analisis Data

Untuk menguji hipotesis yang berbunyi ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap kualitas spermatozoa yang diinkubasi selama 0 jam, 3 jam, 6 jam secara *in vitro*, data dianalisis dengan analisis Anova faktorial sama subyek.

Adapun langkah-langkah analisis tersebut adalah sebagai berikut :

1. Uji pengaruh utama (*main effect*) yaitu
 - a. Uji antar spesies (faktor 1) tanpa memperhatikan ratio spermatozoa/bakteri (faktor 2).
 - b. Uji antar ratio spermatozoa/bakteri (faktor 2) tanpa memperhatikan pengaruh spesies bakteri (faktor 1)
2. Uji interaksi antara spesies bakteri (faktor 1) dan ratio spermatozoa/bakteri (faktor 2). Jika interaksi bermakna, berarti faktor 1 dipengaruhi faktor 2 dan dilanjutkan dengan uji *simple effect*/efek lugas.
3. Uji *simple effect*/efek lugas
 - a. Membandingkan kategori pada faktor 1 (spesies bakteri) pada salah satu kategori faktor 2 (ratio spermatozoa/bakteri) yaitu membandingkan :
 - Antar spesies bakteri pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10
 - Antar spesies bakteri pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000
 - Antar spesies bakteri pada kontrol.
 - b. Membandingkan kategori pada faktor 2 (ratio spermatozoa/bakteri) pada salah satu faktor 1 (spesies bakteri) yaitu membandingkan :

- Antar ratio spermatozoa/bakteri pada *Staphylococcus epidermidis*.
- Antar ratio spermatozoa/bakteri pada *Streptococcus aerogenes*
- Antar ratio spermatozoa/bakteri pada *Enterobacter aerogenes*
- Antar ratio spermatozoa/bakteri pada *E. coli*

Untuk menguji hipotesis yang berbunyi penambahan antibiotik pada spermatozoa yang dicampur dengan spesies bakteri pada ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa dilakukan uji anava satu arah. Dimana pada uji tersebut akan diuji ada tidaknya perbedaan motilitas spermatozoa antara :

- Ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab pada *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* pada lama inkubasi 0 jam, 3 jam, 6 jam.
- Ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab pada *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* pada lamainkubasi 0 jam, 3 jam, 6 jam.
- Kontrol dan kontrol + Ab.

Untuk mengetahui prosentase penurunan motilitas dari 0 jam ke 3 jam, dari 3 jam ke 6 jam dan dari 0 jam ke 6 jam dihitung dengan cara sebagai berikut:

misal prosentase penurunan motilitas dari 0 jam ke 3 jam :

$$\% \text{ penurunan motilitas} = \frac{\% \text{ motilitas 0 jam} - \% \text{ motilitas 3 jam}}{\% \text{ motilitas 0 jam}} \times 100\%$$

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini telah diidentifikasi spesies bakteri yang dikehendaki yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli* (*E. coli*).

Staphylococcus epidermidis, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* diperoleh dengan mengkultur semen pria pasangan infertil yang berkunjung ke Laboratorium Infertil Rumah Sakit Budi Mulya Surabaya. Sedangkan *E. coli* diperoleh dengan mengkultur cairan prostat pria penderita prostat dan gangguan instrumen saluran kencing yang berkunjung di Poli Urologi RSUD Dr. Sutomo Surabaya.

I. Data analisis sperma sebelum dan sesudah di cuci dengan metode kolom bertingkat Percoll

Hasil analisis sperma sebelum dan sesudah pencucian sperma dengan metoda kolom bertingkat Percoll yang digunakan pada penelitian ini adalah :

Tabel 1. Hasil analisis sperma sebelum dan sesudah pencucian sperma dengan metode kolom bertingkat Percoll .

No Sampel	Sebelum Percoll									Sesudah Percoll				
	Kons J/ml	Motilitas				Vol Ml	pH	Leuk lp	Mor %	Kons J/ml	Motilitas			
		a	b	C	d						a	b	c	d
1	34	6	50	13	31	6	7.2	5-6	28	2	97	0	1	3
2	21	16	67	7	10	3.5	7.2	1-2	26	4	96	3	0	1
3	21.2	20	36	16	28	3	7.2	0-2	26	2.05	94	4	0	2
4	87	13	51	15	21	2.5	7.2	0-2	26	12.5	98	0	0	2
5	48	8	71	5	16	3	7.2	0-1	28	4.25	98	1	0	1
6	153	10	53	10	27	2	7.2	2-3	26	7	96	1	2	1

Dari data tersebut diatas terlihat bahwa pada penelitian ini sampel yaitu sperma yang digunakan sangat bervariasi baik konsentrasi maupun motilitasnya. Demikian juga hasil pencucian spermatozoa dengan Percoll menunjukkan konsentrasi yang berlainan sehingga pada penelitian ini jumlah bakteri yang digunakan juga bervariasi menyesuaikan dengan konsentrasi spermatozoa yang di dapat dari hasil Percoll.

Hasil pewarnaan Gram terhadap spermatozoa hasil Percoll didapat bahwa spermatozoa hasil Percoll tidak terdapat mikroorganisme.

II. Data dan analisis data motilitas spermatozoa.

Pada penelitian ini data tentang motilitas spermatozoa dihitung untuk kategori a, dan a + b.

A. Motilitas spermatozoa kategori a

Tabel 2. Data rerata prosentase motilitas spermatozoa kategori a pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam.

Spesies Bakteri	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
<i>S.epidermidis</i>	1 : 10	87.500	49.833	25.833
	1 : 1000	83.333	59.333	33.167
	Kontrol	92.500	66.333	46.167
<i>S.faecalis</i>	1 : 10	88.167	45.833	22.500
	1 : 1000	90.000	61.333	33.667
	Kontrol	90.500	63.000	44.500
<i>E.aerogenes</i>	1 : 10	89.667	51.333	25.000
	1 : 1000	91.500	53.667	20.500
	Kontrol	91.500	63.167	39.000
<i>E.coli</i>	1 : 10	90.000	25.000	8.833
	1 : 1000	86.667	31.833	15.000
	Kontrol	92.000	62.833	45.500

Dari analisis data (lampiran 1) dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh yang bermakna ($p = 0,018 < 0,05$) spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a. tetapi tidak ada pengaruh interaksi spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri serta lama inkubasi terhadap motilitas spermatozoa kategori a ($p = 0,204 > 0,05$).

Pada perbandingan antar spesies (lampiran 2) dapat disimpulkan bahwa pada 0 jam antar spesies tidak ada perbedaan motilitas, perbedaan motilitas kategori a pada antar spesies terjadi pada 3 jam dan 6 jam.

Tabel 3. Hasil uji beda rerata pengaruh antar spesies bakteri terhadap % motilitas spermatozoa kategori a pada 0 jam, 3 jam, 6 jam

Waktu/Spesies	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.faecalis</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>E.coli</i>
0 jam	89.444	89.556	96.889	89.556
3 jam	58.500 ^b	56.722	56.056 ^f	39.889 ^{bf}
6 jam	35.056 ^{ac}	33.556 ^{de}	25.556 ^{ad}	23.111 ^{cc}

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Hasil analisis data (lampiran 3) dapat disimpulkan bahwa pada 0 jam tidak terjadi perbedaan motilitas kategori a antar spesies. Pada 3 jam terjadi perbedaan motilitas kategori a antara *Staphylococcus epidermidis* dan *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli*. Pada 6 jam terjadi perbedaan motilitas antara *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter aerogenes* dan *E.coli*, *Streptococcus faecalis* dengan *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli*.

Pada perbandingan antar ratio spermatozoa/bakteri (lampiran 4) didapat bahwa antar ratio spermatozoa/bakteri tidak berbeda pada 0 jam, tetapi ratio spermatozoa/bakteri berpengaruh pada 3 jam dan 6 jam.

Tabel 4. Hasil uji beda rerata pengaruh antar ratio spermatozoa / bakteri terhadap %motilitas spermatozoa kategori a pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam

Waktu/Ratio Sperma/bakteri	Kontrol	1 : 1000	1 : 10
0 jam	91.625	89.125	88.833
3 jam	63.833 ^{ce}	51.542 ^{ac}	43.000 ^{ac}
6 jam	43.792 ^{df}	25.583 ^{bf}	19.333 ^{bd}

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Hasil uji beda rerata (lampiran 5) dapat disimpulkan bahwa antar ratio spermatozoa/bakteri tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a pada 0 jam. Antar ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan 1 : 1000 dan kontrol berbeda pada 3 jam dan 6 jam.

Hasil analisis data tentang interaksi spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a didapat bahwa interaksi spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri tidak berpengaruh pada 0 jam ($p = 0,218 > 0,05$) tetapi berpengaruh pada 3 jam dan 6 jam ($p = 0,000$) (lampiran 6).

Karena ada interaksi spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas maka dilanjutkan dengan uji *simple effect* (efek lugas). Dimana

pada uji ini akan diuji tentang beda rerata pengaruh faktor 1 terhadap salah satu faktor 2 dan pengaruh faktor 2 terhadap salah satu faktor 1.

Tabel 5. Uji beda rerata pengaruh faktor 1 (spesies bakteri) terhadap faktor 2 (ratio spermatozoa/bakteri)

Ratio Sp/bakteri	Lama Inkubasi	Spesies Bakteri			
		<i>Stap.epi</i>	<i>Strep.fae</i>	<i>E.aero</i>	<i>E.coli</i>
Kontrol	0	92,500	90,500	91,500	92,000
	3	66,333	63,000	63,167	62,833
	6	46,167	44,500	39,000	45,500
1 : 1000	0	83,333	90,000	91,500	86,667
	3	59,333 ^b	61,333 ^c	5,667 ^e	31,833 ^{beg}
	6	33,167 ^{ac}	33,667 ^{df}	20,500 ^{ad}	15,000 ^{cf}
1 : 10	0	87,500	88,167	89,667	90,000
	3	49,833 ^h	45,833 ^j	51,333 ^l	25,000 ^{hjl}
	6	25,833 ⁱ	22,500 ^k	25,000 ^m	8,833 ^{ikm}

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Pada ratio 1 : 1000, pada 3 jam terjadi perbedaan motilitas antara *Staphylococcus epidermidis* dengan *E. coli*, *Streptococcus faecalis* dengan *E. coli*; *Enterobacter aerogenes* dengan *E. coli*. Pada 6 jam terjadi perbedaan motilitas antara *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter aerogenes* dan *E.coili*; *Streptococcus faecalis* dengan *Enterococcus aerogenes* dan *E. coli*. Pada ratio 1 : 10, pada 3 jam terjadi perbedaan motilitas antara *Staphylococcus epidermidis* dengan *E. coli*, *Streptococcus faecalis* dengan *E. coli*; *Enterobacter aerogenes* dengan *E. coli*. Demikian juga pada lama inkubasi 6 jam.

Tabel 6. Uji beda rerata pengaruh faktor 2 (ratio spermatozoa/bakteri) terhadap faktor 1 (spesies bakteri)

Spesies Bakteri	Lama Inkubasi	Ratio Sp/Bakteri		
		Kontrol	1 : 1000	1 : 10
<i>S. epidermidis</i>	0	92,500	83,333	87,500
	3	66,333	59,333	49,833
	6	46,167 ^{ab}	33,167 ^b	25,833 ^a
<i>S. faecalis</i>	0	90,500	90,000	88,167
	3	63,000 ^c	61,333 ^d	45,833 ^{cd}
	6	44,500 ^e	33,667	22,500 ^e
<i>E. aerogenes</i>	0	91,500	91,500	89,667
	3	60,167	53,667	51,333
	6	39,000 ^{fg}	20,500 ^g	25,000 ^f
<i>E. coli</i>	0	92,000	86,667	90,000
	3	62,833 ^{hi}	31,833 ⁱ	25,000 ^h
	6	45,500 ^{jk}	15,000 ^k	8,833 ^j

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Pada *Staphylococcus epidermidis* tidak ada perbedaan motilitas spermatozoa kategori a pada lama inkubasi 0 jam dan 3 jam. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi 6 jam yaitu antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 1000 dibanding kontrol. Pada *Streptococcus faecalis* pada lama inkubasi 3 jam terjadi perbedaan antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan 1 : 1000, 1 : 1000 dengan kontrol. Pada 6 jam inkubasi terjadi perbedaan motilitas antara 1 : 10 dengan kontrol. Pada *Enterobacter aerogenes* pada 0 jam dan 3 jam tidak terjadi perbedaan. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi 6 jam antara ratio 1 : 10 dengan kontrol 1 : 1000 dengan kontrol. Pada *E. coli* pada 0 jam tidak terjadi perbedaan motilitas pada 3 jam dan 6 jam terjadi perbedaan motilitas antara 1 : 10 dengan kontrol ; 1 : 1000 dengan kontrol. (lampiran 8)

B.Motilitas spermatozoa kategori a + b

Tabel 7 . Data rerata % motilitas spermatozoa kategori a + b pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam.

Spesies Bakteri	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
<i>S.epidermidis</i>	1 : 10	93.500	74.167	62.167
	1 : 1000	95.333	80.000	66.833
	Kontrol	96.167	81.167	70.833
<i>S.faecalis</i>	1 : 10	94.333	74.000	59.667
	1 : 1000	94.833	80.000	65.667
	Kontrol	93.333	78.667	74.167
<i>E.aerogenes</i>	1 : 10	94.667	73.500	51.833
	1 : 1000	95.000	78.167	58.667
	Kontrol	94.333	79.333	65.833
<i>E.coli</i>	1 : 10	93.833	51.000	27.667
	1 : 1000	95.000	61.500	36.167
	Kontrol	94.167	78.667	68.333

Dari hasil analisis data (lampiran 9) didapat bahwa ada perbedaan antar spesies bakteri ($p = 0,000$), ada perbedaan yang bermakna antar ratio spermatozoa/bakteri ($p = 0,000$), ada perbedaan lama inkubasi ($p = 0,000$) serta ada interaksi yang bermakna spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri dan lama inkubasi ($p = 0,000$) terhadap motilitas spermatozoa kategori a + b.

Pada perbandingan antar bakteri (lampiran 10) hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa antar spesies bakteri tidak berpengaruh pada 0 jam tetapi antar spesies bakteri berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a + b pada 3 jam dan 6 jam.

Tabel 8. Hasil uji beda rerata pengaruh antar spesies bakteri terhadap % motilitas spermatozoa kategori a + b pada 0 jam, 3 jam, 6 jam

Waktu/Spesies	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.faecalis</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>E.coli</i>
0 jam	95.000	94.167	94.667	94.667
3 jam	78.444 ^b	77.556 ^e	77.000 ^g	63.722 ^{beg}
6 jam	66.611 ^{ac}	66.500 ^{df}	58.778 ^{adh}	44.056 ^{cfh}

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Dari data diatas dapat disimpulkan antar *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus faecalis* tidak berbeda pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam. Antar *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter aerogenes* terjadi perbedaan pada 6 jam, antar *Staphylococcus epidermidis* dan *E. coli* terjadi perbedaan pada 3 jam dan 6 jam. Antar *Streptococcus faecalis* dan *Enterobacter aerogenes* berbeda pada 6 jam, antar *Streptococcus faecalis* dan *E. coli* berbeda pada 3 jam dan 6 jam. Antara *Enterobacter aerogenes* dan *E.coli* berbeda pada 3 jam dan 6 jam (lampiran 11)

Hasil analisis perbandingan antar ratio spermatozoa/bakteri (lampiran 12) didapat bahwa antar ratio spermatozoa/bakteri berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a + b pada lama inkubasi 3 jam dan 6 jam, sedang pada 0 jam tidak berpengaruh.

Tabel 9. Hasil uji beda rerata pengaruh ratio spermatozoa/bakteri terhadap % motilitas spermatozoa kategori a + b pada 0, 3 dan 6 jam

Waktu/Ratio Sperma/bakteri	Kontrol	1 : 1000	1 : 10
0 jam	94.750	95.042	94.083
3 jam	79.458 ^c	74.917 ^a	68.167 ^{ac}
6 jam	69.792 ^{dc}	56.833 ^{be}	50.333 ^{bd}

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Hasil analisis data diatas dapat disimpulkan bahwa antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 1000 berbeda pada 3 jam dan 6 jam, antara ratio 1 : 10 dan kontrol berbeda pada 3 jam dan 6 jam, sedang antar ratio 1 : 1000 dan kontrol berbeda pada 6 jam. (lampiran 13)

Hasil analisis data tentang interaksi spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri (lampiran 14) disimpulkan bahwa ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a + b pada lama inkubasi 3 jam dan 6 jam, sedangkan pada 0 jam tidak berpengaruh.

Tabel 10. Uji beda rerata pengaruh faktor 1 (spesies bakteri) terhadap salah Satu faktor 2 (ratio spermatozoa/bakteri)

Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi	Spesies Bakteri			
		<i>S.epidermidis</i>	<i>S.faecalis</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>E. coli</i>
Kontrol	0	96.167	93.333	94.333	95.167
	3	81.167	78.667	79.333	78.667
	6	70.833	74.167	65.83	68.333
1 : 1000	0	95.333	94.833	95.000	95.000
	3	80.000 ^a	80.000 ^c	78.167 ^e	61.500 ^{ace}
	6	66.833 ^b	65.667 ^d	58.667 ^f	36.167 ^{bdf}
1 : 10	0	93.500	94.333	94.667	93.833
	3	74.167 ^g	74.000 ⁱ	73.500 ^k	51.000 ^{gik}
	6	62.167 ^h	59.667 ^j	51.833 ^l	27.667 ^{hjl}

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dan 1 ; 10 pada 0 jam tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Pada ratio 1 : 1000 antara *Staphylococcus epidermidis* dan *E. coli* berbeda pada 3 jam dan 6 jam. Demikian juga antar *Streptococcus faecalis* dan *E. coli* serta *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli*.

Pada ratio 1 : 10 antara *Staphylococcus epidermidis* dan *E. coli* *Streptococcus faecalis* dan *E. Coli*, *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli* berbeda bermakna pada 3 jam dan 6 jam. Yang paling menurunkan motilitas spermatozoa kategori a + b adalah spesies *E. coli* pada ratio 1 : 10 dengan lama inkubasi 6 jam (rerata = 27,677) (lampiran 15).

Tabel 11. Data uji beda rerata pengaruh faktor 2 (ratio spermatozoa/bakteri) Terhadap salah satu faktor 1 (spesies bakteri)

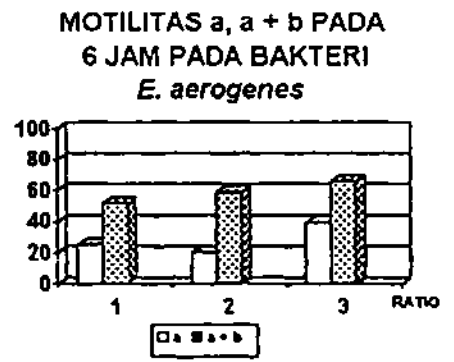
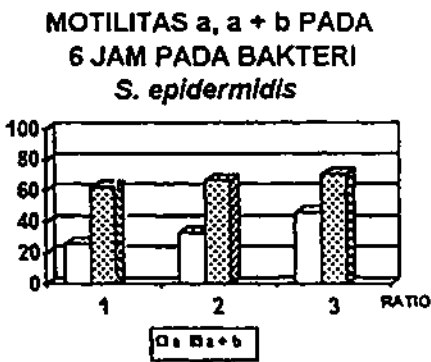
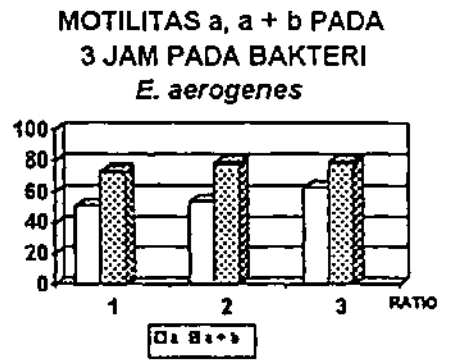
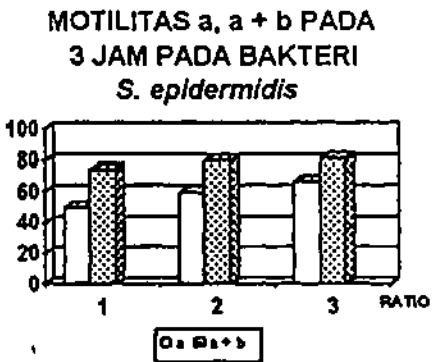
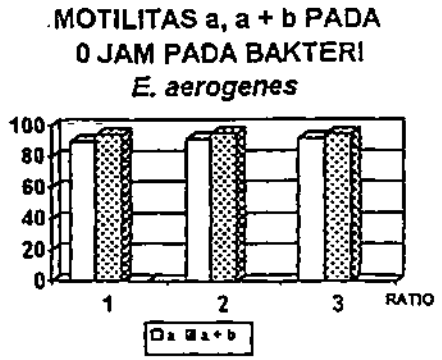
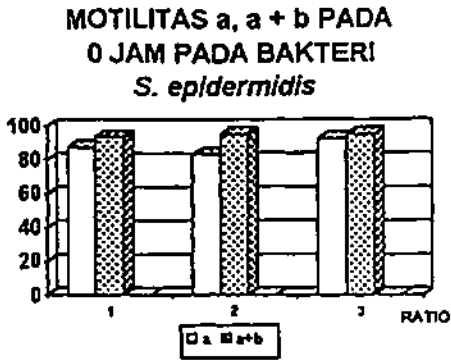
Spesies Bakteri	Lama Inkubasi	Ratio sp/bakteri		
		Kontrol	1 : 1000	1 : 10
<i>S.epidermidis</i>	0	96,167	95,333	93,500
	3	81,167	80,000	74,167
	6	70,833 ^a	66,833	62,167 ^a
<i>S.faecalis</i>	0	93,333	94,833	94,333
	3	78,667	80,000	74,000
	6	74,167 ^{ab}	65,667 ^a	59,667 ^b
<i>E.aerogenes</i>	0	94,333	95,000	94,667
	3	79,333	78,167	73,500
	6	65,833 ^c	58,667	51,833 ^c
<i>E.coli</i>	0	95,167	95,000	93,833
	3	78,667 ^{df}	61,500 ^{dc}	51,000 ^{ef}
	6	68,333 ^{gh}	36,167 ^g	27,667 ^h

Huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

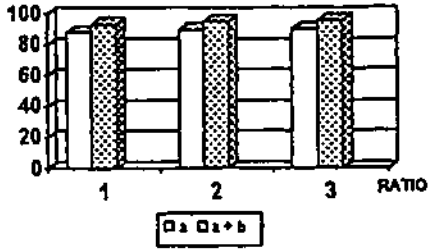
Dari hasil analisis data (lampiran 16) didapat bahwa pada *Staphylococcus epidermidis* ada perbedaan motilitas pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 pada lama inkubasi 6 jam. Pada *Streptococcus faecalis* ada perbedaan motilitas antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan kontrol dan 1 : 1000 dengan kontrol pada lama inkubasi 6 jam. Pada *Enterobacter aerogenes* ada perbedaan motilitas antara kontrol dan ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 pada lama inkubasi 6 jam.

Pada *E. coli* terjadi perbedaan motilitas antara ratio spermatozoa/ bakteri 1 : 1000 dengan kontrol, 1 : 10 dengan kontrol dan 1 : 1000 dan 1 : 10 pada lama inkubasi 3 jam. Sedang pada lama inkubasi 6 jam terjadi perbedaan antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan kontrol, 1 : 1000 dengan kontrol.

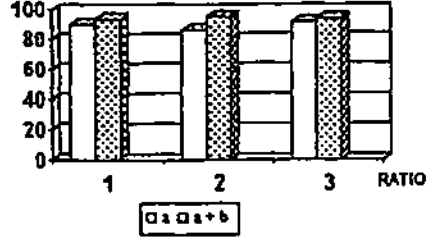
Perbandingan motilitas kategori a, dan a + b pada setiap spesies dan lama inkubasi disajikan dalam diagram batang sebagai berikut :



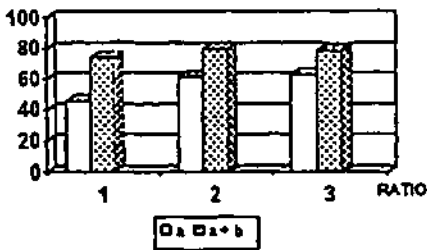
MOTILITAS a, a + b PADA
0 JAM PADA BAKTERI
S. faecalis



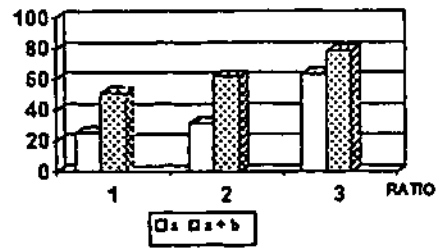
MOTILITAS a, a + b PADA
0 JAM PADA BAKTERI
E. coli



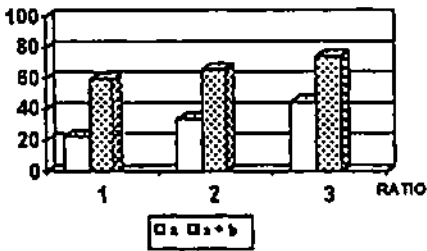
MOTILITAS a, a + b PADA
3 JAM PADA BAKTERI
S. faecalis



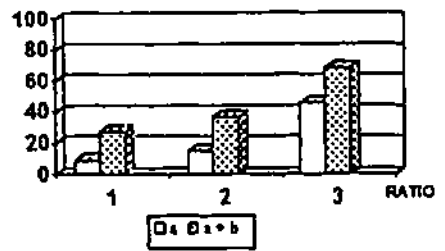
MOTILITAS a, a + b PADA
3 JAM PADA BAKTERI
E. coli



MOTILITAS a, a + b PADA
6 JAM PADA BAKTERI
S. faecalis



MOTILITAS a, a + b PADA
6 JAM PADA BAKTERI
E. coli



III. Data dan analisis data tentang perbandingan motilitas spermatozoa pada spesies dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda antara yang diberi antibiotika dan tanpa antibiotik

Tabel 12 . Data perbandingan rerata % motilitas spermatozoa kategori a dan a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab pada spesies *Staphylococcus epidermidis*

Motilitas Kategori	Ratio sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 10	87.500	49.833	25.833
	1 : 10 + Ab	87.500	64.167	28.833
a + b	1 : 10	93.500	74.167	62.167
	1 : 10 + Ab	94.333	79.833	71.167

Dari hasil analisis data (lampiran 17) dapat disimpulkan bahwa : pada motilitas kategori a, antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab tidak berbeda baik pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam. Sedangkan lama inkubasi berpengaruh terhadap motilitas. Pada motilitas kategori a + b ada perbedaan motilitas antara ratio 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab, perbedaan itu terjadi pada lama inkubasi 6 jam.

Tabel 13. Data rerata % motilitas kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa/ bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab pada spesies *Streptococcus faecalis*.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 10	88	45.833	22.500
	1 : 10 + Ab	91.167	57.833	27.500
a + b	1 : 10	94.33	74.000	59.667
	1 : 10 + Ab	95.833	75.667	65.667

Dari hasil analisis data (lampiran 18) dapat disimpulkan bahwa : pada motilitas kategori a dan a + b antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab tidak ada perbedaan motilitas baik pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi baik pada motilitas a dan a + b. Tidak ada perbedaan motilitas antara interaksi lama inkubasi dan ratio spermatozoa/bakteri baik pada motilitas adan a + b.

Tabel 14. Data rerata %motilitas kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab pada spesies *Enterobacter aerogenes*.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 10	89.667	51.333	20.167
	1 : 10 + Ab	85.167	57.833	32.167
a + b	1 : 10	94.667	73.500	51.833
	1 : 10 + Ab	91.667	81.333	58.667

Dari hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa motilitas a dan a + b antara ratio 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab tidak berbeda baik pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam

Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi dan tidak ada perbedaan motilitas pada interaksi ratio spermatozoa/bakteri dan waktu (lama inkubasi) (lampiran 19).

Tabel 15. Data rerata % motilitas kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa bakteri 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab pada *E. coli*.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 10	90.000	25.000	8.833
	1 : 10 + Ab	85.667	33.833	15.667
a + b	1 : 10	93.833	51.000	27.667
	1 : 10 + Ab	94.500	58.167	34.167

Dari hasil analisis data (lampiran 20) dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan motilitas antara ratio spermatozoa 1 : 10 dan 1 : 10 + Ab pada motilitas kategori a, b, a + b baik pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam. Perbedaan motilitas ada pada lama inkubasi.

Tabel 16. Perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab pada spesies bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 1000	88.333	59.333	33.167
	1 : 1000 + Ab	89.000	66.167	35.333
a + b	1 : 1000	95.333	80.000	66.833
	1 : 1000 + Ab	94.833	82.000	73.500

Dari hasil analisis data (lampiran 21) dapat disimpulkan bahwa pada *Staphylococcus epidermidis*, tidak ada perbedaan motilitas kategori a pada 0 jam, 3

jam dan 6 jam antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi. Pada motilitas kategori a + b terjadi perbedaan motilitas pada 6 jam. Lama inkubasi juga berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa.

Tabel 17. Perbandingan rerata % motilitas spermatozoa kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab pada spesies bakteri *Streptococcus faecalis*.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 1000	90.000	61.333	33.667
	1 : 1000 + Ab	90.667	65.333	35.167
a + b	1 : 1000	94.833	80.000	65.667
	1 : 1000 + Ab	96.000	78.500	69.667

Dari hasil analisis data (lampiran 22) pada *Streptococcus faecalis*, baik pada motilitas kategori a dan a + b tidak ada perbedaan motilitas antara ratio 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi.

Tabel 18. Perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab pada spesies bakteri *Enterobacter aerogenes*.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 1000	91.500	53.667	20.500
	1 : 1000 + Ab	88.167	60.167	30.833
a + b	1 : 1000	95.000	78.167	58.667
	1 : 1000 + Ab	94.333	81.667	66.000

Dari hasil analisis data (lampiran 23) didapat pada motilitas kategori a terdapat perbedaan motilitas antara ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab pada 6 jam. Pada kategori a + b tidak ada perbedaan motilitas. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi.

Tabel 19. Perbandingan rerata motilitas spermatozoa kategori a dan a + b pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab pada spesies bakteri *E. coli*.

Motilitas Kategori	Ratio sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	1 : 1000	86.667	31.833	15.000
	1 : 1000 + Ab	86.167	39.333	14.000
a + b	1 : 1000	95.000	61.500	36.167
	1 : 1000 + Ab	96.000	61.167	39.000

Dari hasil analisis data (lampiran 24) didapat, baik pada motilitas kategori a, dan a + b tidak ada perbedaan motilitas antara ratio 1 : 1000 dan 1 : 1000 + Ab. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi.

Tabel 20. Perbandingan rerata motilitas spermatozoa/kategori a dan a + b antara kontrol dan kontrol + Ab.

Motilitas Kategori	Ratio Sp/bak	Lama Inkubasi		
		0	3	6
a	K	91.625	63.833	43.792
	K + Ab	90.456	59.583	37.083
a + b	K	94.750	79.456	69.792
	K + Ab	94.417	79.292	68.042

Dari hasil analisis data (lampiran 25) dapat disimpulkan bahwa pada motilitas kategori a, perbedaan motilitas terjadi perbedaan antara K dan K + Ab pada 6 jam. Juga terjadi perbedaan motilitas pada lama inkubasi. Perbedaan motilitas terjadi pada lama inkubasi. Pada motilitas kategori a + b tidak ada perbedaan motilitas antara K dan K + ab baik pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam. Perbedaan terjadi pada lama inkubasi.

IV. Data dan analisis data tentang prosentase penurunan motilitas spermatozoa kategori a dan a+b pada masing-masing spesies bakteri.

Tabel 21. Data prosentase penurunan motilitas spermatozoa kategori a pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam

Spesies Bakteri	Ratio Sp/Bakteri	% Penurunan Motilitas dari		
		0 jam – 3 jam	3 jam – 6 jam	0 jam – 6 jam
<i>S.epidermidis</i>	1 : 10	43,04	48,16	70,47
	1 : 1000	32,83	44,10	62,45
	Kontrol	28,28	30,40	49,00
<i>S.faecalis</i>	1 : 10	48,01	50,90	74,48
	1 : 1000	31,85	45,10	62,59
	Kontrol	30,38	29,36	50,82
<i>E.aerogenes</i>	1 : 10	42,75	60,71	77,50
	1 : 1000	41,34	61,80	77,59
	Kontrol	30,96	38,26	57,37
<i>E.coli</i>	1 : 10	72,22	64,66	90,18
	1 : 1000	63,26	52,87	82,69
	Kontrol	31,17	27,58	50,54

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa pada setiap spesies bakteri semakin lama waktu inkubasi semakin besar terjadinya penurunan motilitas. Semakin tinggi

ratio spermatozoa/bakteri semakin besar pula terjadinya penurunan motilitas spermatozoa. Pada kontrol, semakin lama waktu inkubasi semakin besar terjadinya penurunan motilitas spermatozoa.

Tabel 22. Data % penurunan motilitas spermatozoa kategori a+b pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda pada 0 jam, 3 jam dan 6 jam

Spesies Bakteri	Ratio Sp/Bakteri	% Penurunan Motilitas dari		
		0 jam – 3 jam	3 jam – 6 jam	0 jam – 6 jam
<i>S.epidermidis</i>	1 : 10	20,67	16,17	33,51
	1 : 1000	16,08	16,45	29,89
	Kontrol	15,59	12,73	26,34
<i>S.faecalis</i>	1 : 10	21,55	19,36	36,74
	1 : 1000	15,64	17,91	30,75
	Kontrol	15,71	5,72	20,53
<i>E.aerogenes</i>	1 : 10	22,35	29,47	45,24
	1 : 1000	17,71	24,94	38,24
	Kontrol	15,90	17,07	30,21
<i>E.coli</i>	1 : 10	45,64	45,75	70,51
	1 : 1000	35,26	41,19	58,83
	Kontrol	17,33	13,13	28,19

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu inkubasi semakin besar terjadinya % penurunan motilitas. Semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri semakin tinggi pula terjadinya penurunan motilitas spermatozoa. Pada kontrol demikian juga bahwa semakin lama waktu inkubasi semakin besar % penurunan motilitas spermatozoa.

Tabel 23. Data % penurunan motilitas spermatozoa kategori a pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda dengan penambahan antibiotik

Spesies Bakteri	Ratio Sp/Bakteri	% Penurunan Motilitas dari		
		0 jam – 3 jam	3 jam – 6 jam	0 jam – 6 jam
<i>S.epidermidis</i>	1 : 10+Ab	26,66	55,06	67,04
	1:1000+Ab	25,65	46,60	60,30
	Kontrol+Ab	37,54	38,70	61,72
<i>S.faecalis</i>	1 : 10+Ab	36,56	52,44	69,83
	1 : 1000+Ab	27,94	46,17	61,21
	Kontrol+Ab	30,49	42,23	59,84
<i>E.aerogenes</i>	1 : 10+Ab	32,09	44,37	62,23
	1 : 1000+Ab	31,75	48,75	65,02
	Kontrol+Ab	26,88	40,05	56,17
<i>E.coli</i>	1 : 10+Ab	60,50	53,69	81,71
	1 : 1000+Ab	54,35	64,40	83,75
	Kontrol+Ab	41,33	28,92	58,30

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa walaupun inkubasi spermatozoa-bakteri ditambah dengan antibiotika ternyata terjadi penurunan motilitas spermatozoa dengan bertambahnya waktu inkubasi. Semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri semakin besar % penurunan motilitas spermatozoa, kecuali pada *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli* penurunan motilitas spermatozoa pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 lebih besar dibanding 1 : 10.

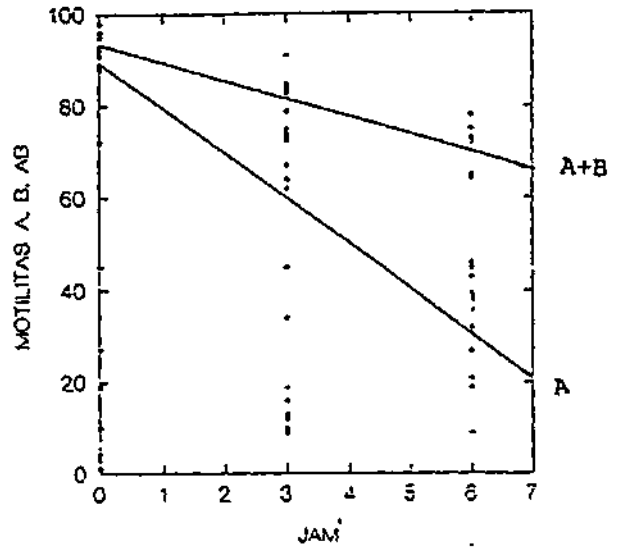
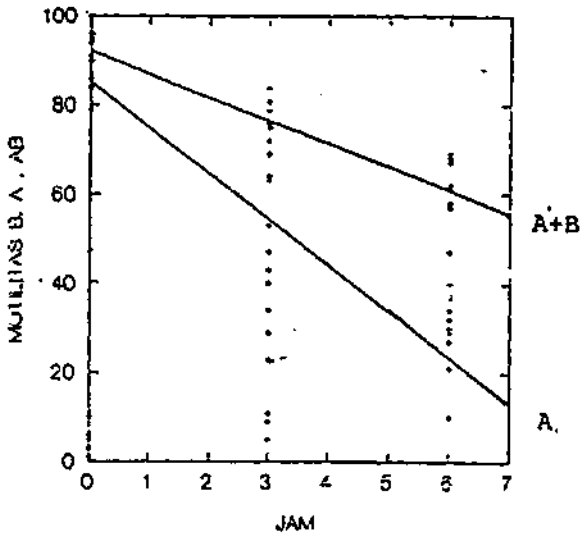
Tabel 24. Data % penurunan motilitas spermatozoa kategori a+b pada inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda dengan penambahan antibiotik

Spesies Bakteri	Ratio Sp/Bakteri	% Penurunan Motilitas dari		
		0 jam – 3 jam	3 jam – 6 jam	0 jam – 6 jam
<i>S.epidermidis</i>	1 : 10+Ab	15,37	10,85	24,55
	1:1000+Ab	13,53	10,36	22,49
	Kontrol+Ab	18,62	9,71	26,53
<i>S.faecalis</i>	1 : 10+Ab	21,04	13,21	31,47
	1 : 1000+Ab	18,22	11,25	27,43
	Kontrol+Ab	15,55	15,54	28,34
<i>E.aerogenes</i>	1 : 10+Ab	11,27	27,86	35,99
	1 : 1000+Ab	13,42	19,18	30,03
	Kontrol+Ab	15,42	18,64	31,19
<i>E.coli</i>	1 : 10+Ab	38,44	41,26	63,84
	1 : 1000+Ab	36,28	36,24	59,37
	Kontrol+Ab	16,34	12,60	26,88

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu inkubasi semakin besar % penurunan motilitas spermatozoa, semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri semakin besar % penurunan motilitas spermatozoa. Pada kontrol semakin lama waktu inkubasi semakin besar % penurunan motilitas.

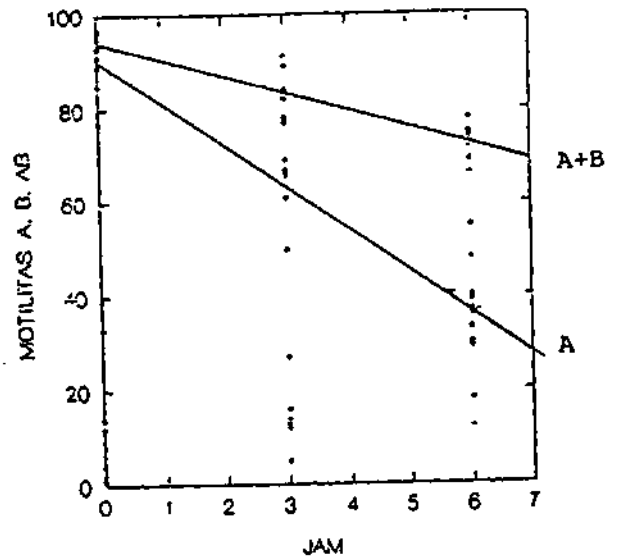
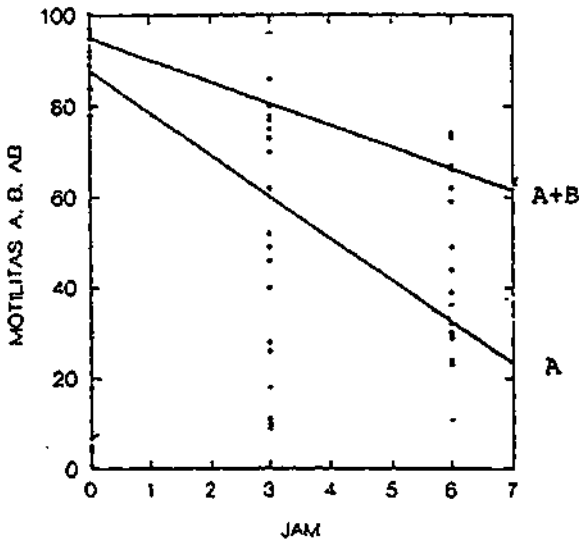
V. Perbandingan hasil regresi sebagai fungsi waktu pada motilitas katregori a dan a + b pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dibanding 1 : 10 + Ab, 1 : 1000 dibanding 1 ; 1000 + Ab, kontrol dibanding kontrol + Ab

Perbandingan hasil regresi sebagai fungsi waktu pada motilitas spermatozoa kategori a dan a+b, pada ratio 1:10 dibanding 1:10+ab, 1:1000 dibanding 1:1000+ab, Kontrol dibanding Kontrol+Ab pada masing-masing spesies bakteri adalah sebagai berikut :



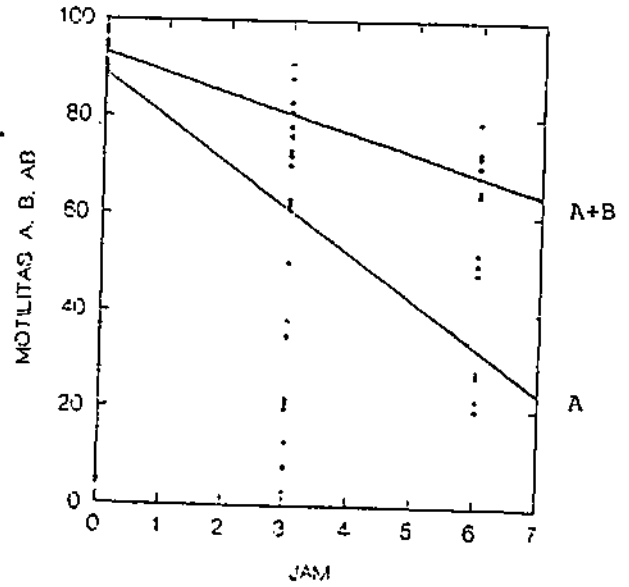
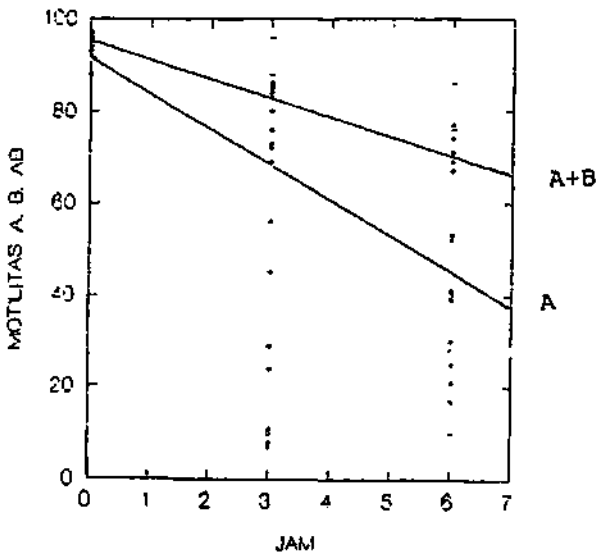
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *S. epidermidis*, ratio 1:10

Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *S. epidermidis*, ratio 1:10 +Ab



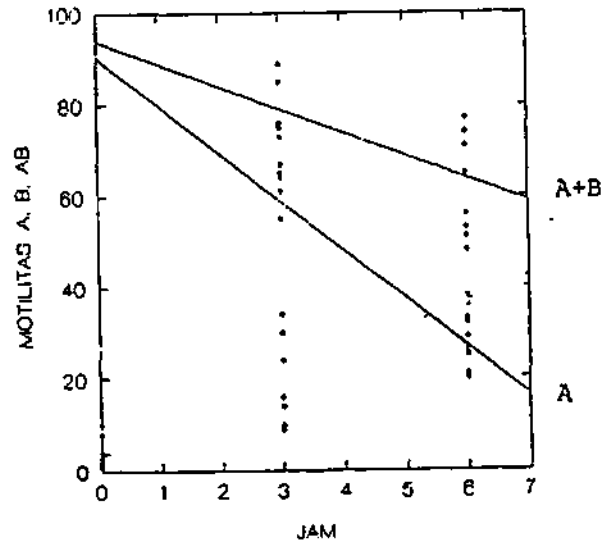
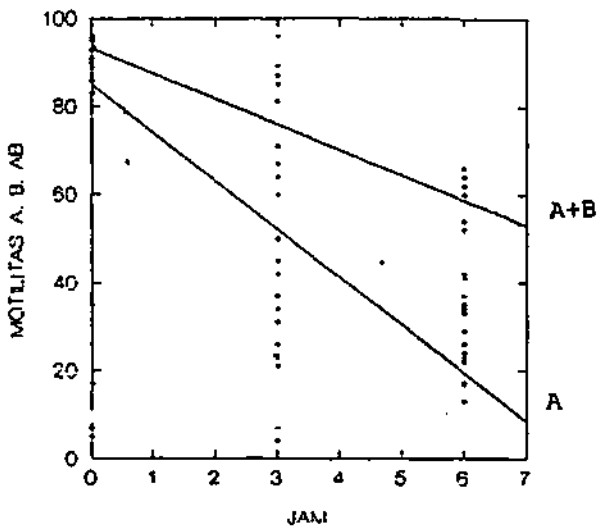
Hubungan motilitas a, a+b, dan waktu Pada *S. epidermidis*, ratio 1:1000

Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *S. epidermidis*, ratio 1:1000 +Ab



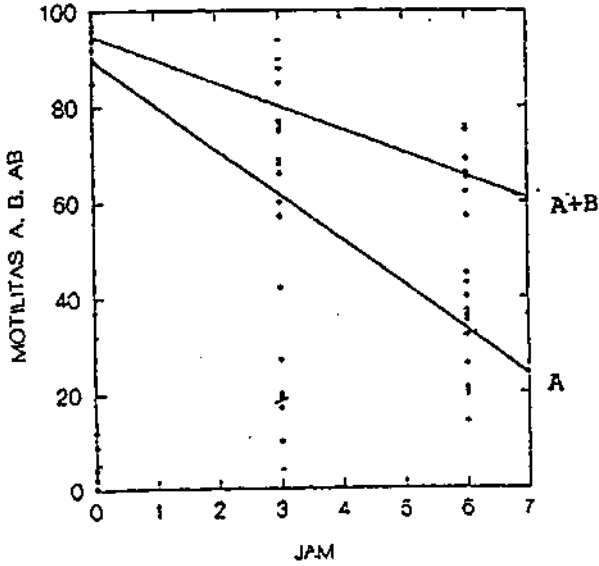
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada spermatozoa tanpa *S. epidermidis*

Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada spermatozoa tanpa *S. epidermidis* + Ab

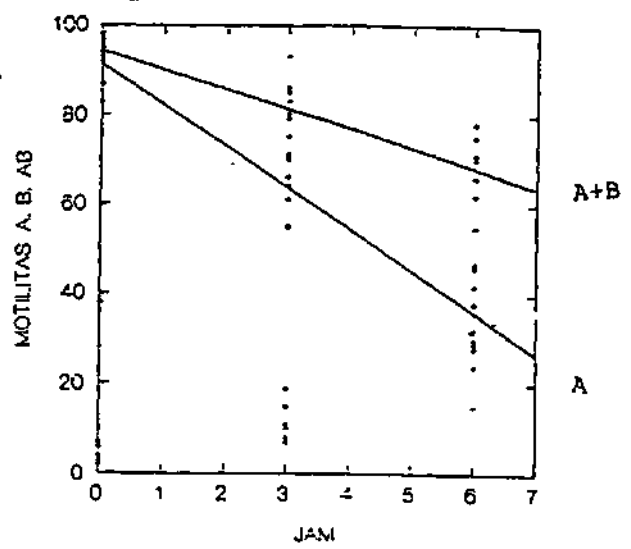


Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *S. faecalis*, ratio 1:10

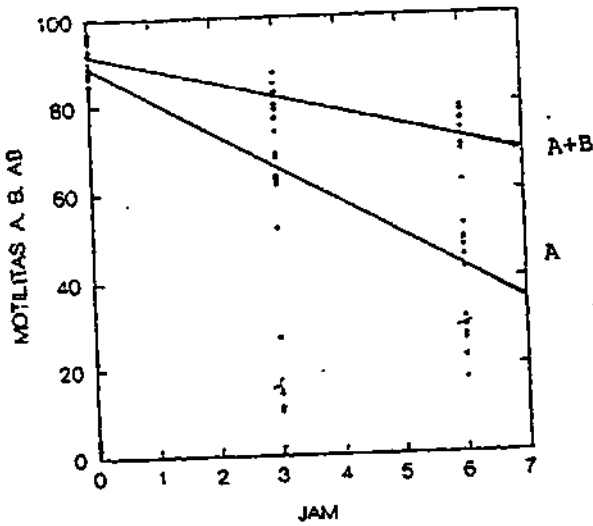
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *S. faecalis* ratio 1:10 + Ab



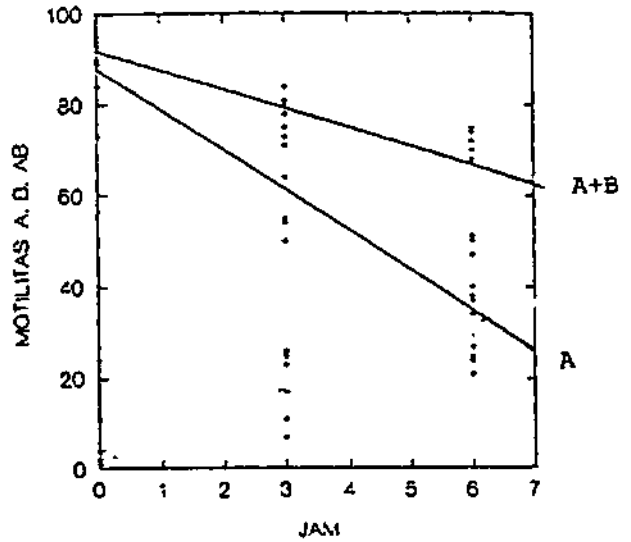
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *S. faecalis*, ratio 1:1000



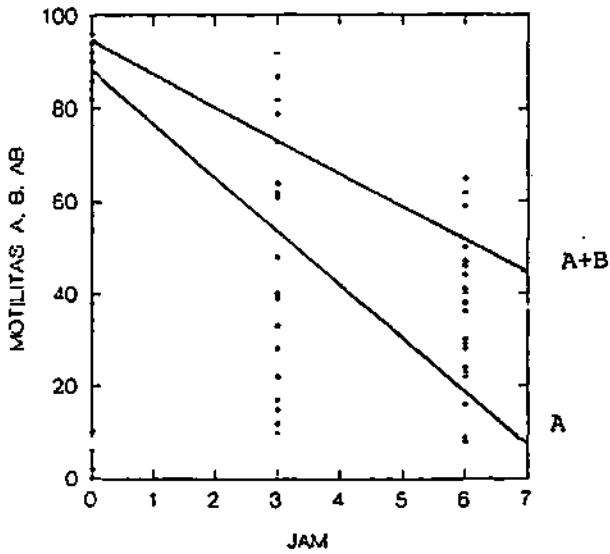
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *S. faecalis*, ratio 1:1000+ Ab



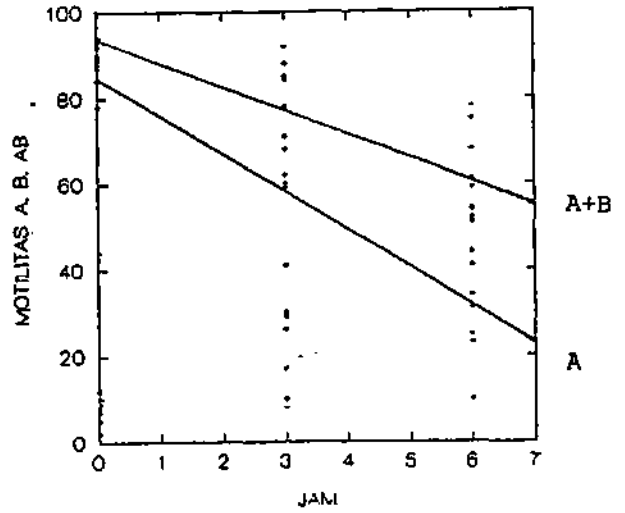
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada spermatozoa tanpa *S. faecalis*



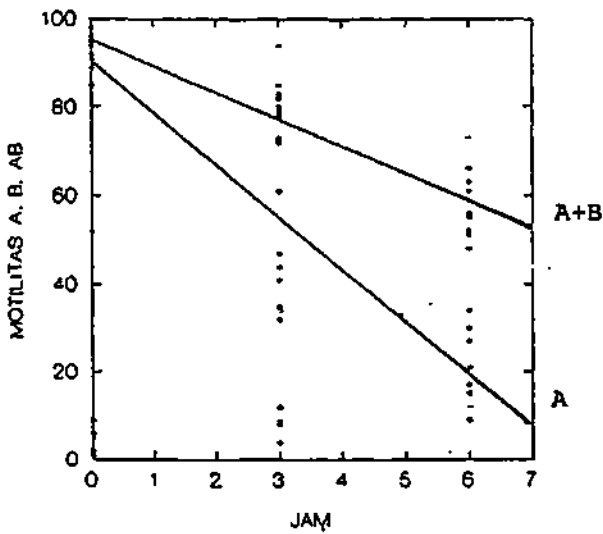
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada spermatozoa tanpa *S. faecalis* + Ab



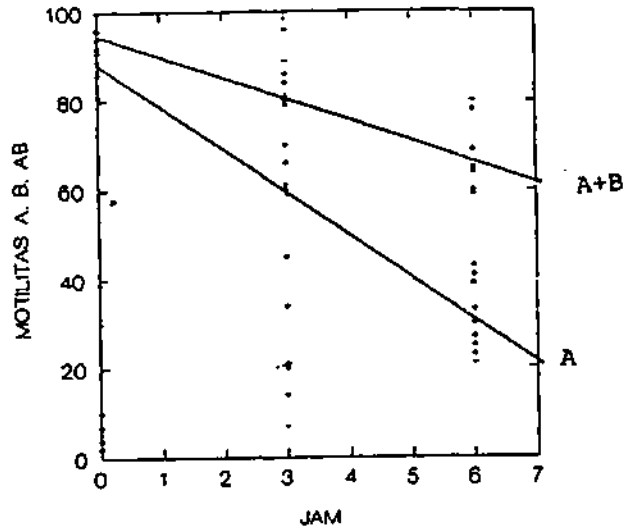
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *E. aerogenes*, Ratio 1:10



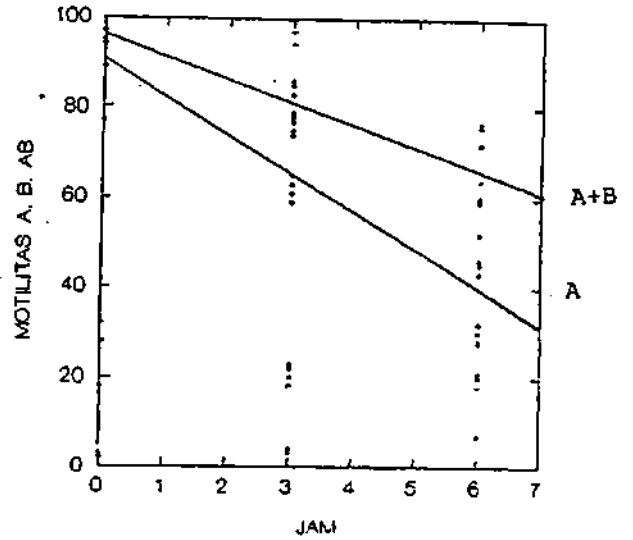
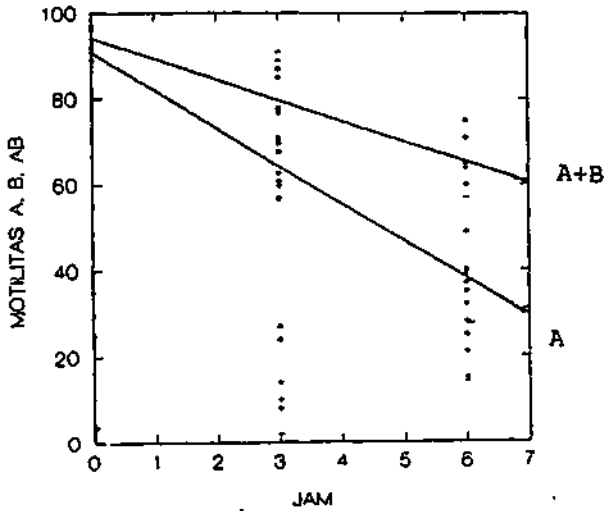
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *E. aerogenes*, ratio 1:10 + Ab



Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *E. aerogenes*, ratio 1:1000

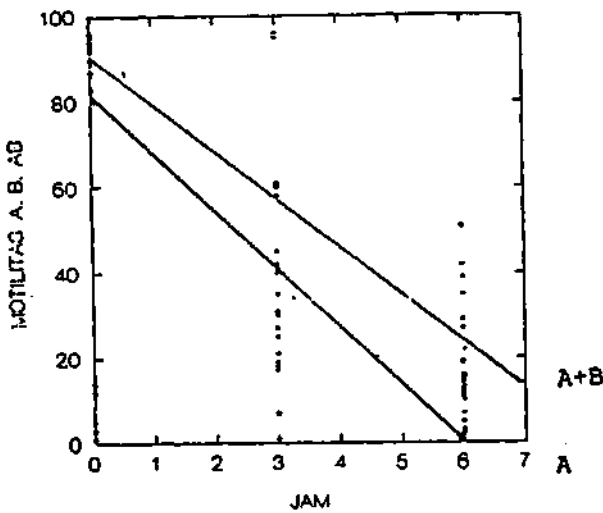


Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *E. aerogenes*, ratio 1:1000 + Ab

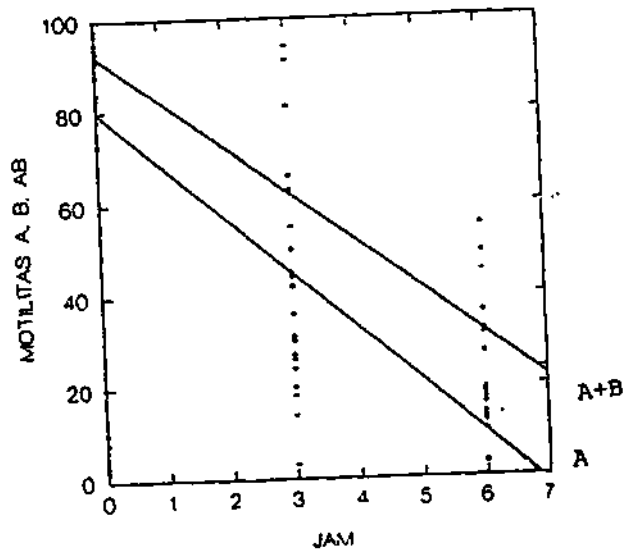


Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada spermatozoa tanpa *E. aerogenes*

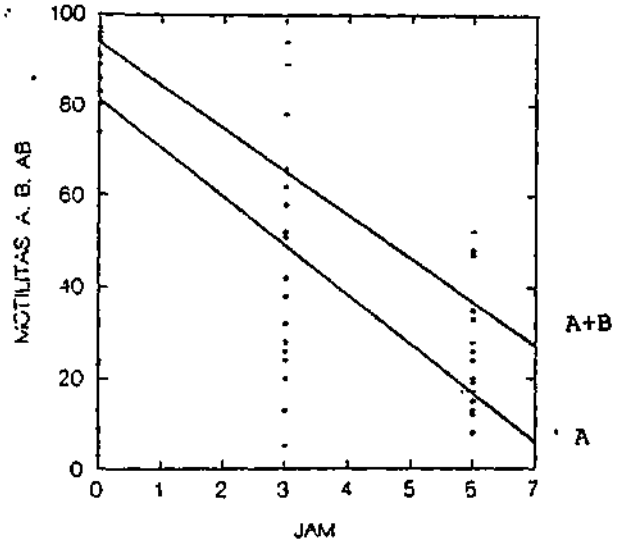
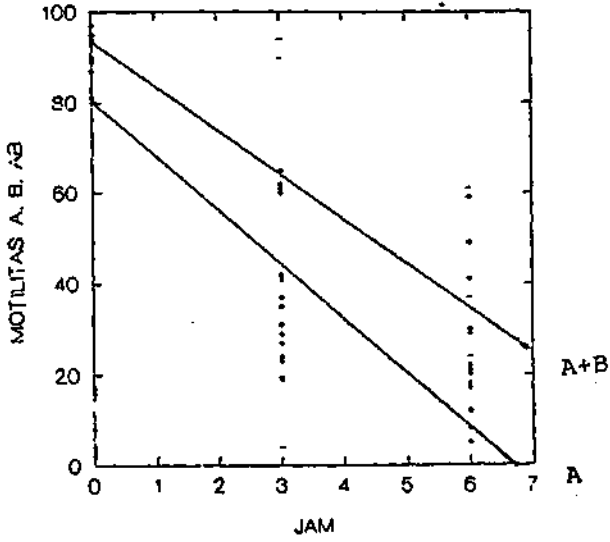
Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada spermatozoa tanpa *E. aerogenes* +Ab



Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *E. coli*, ratio 1:10

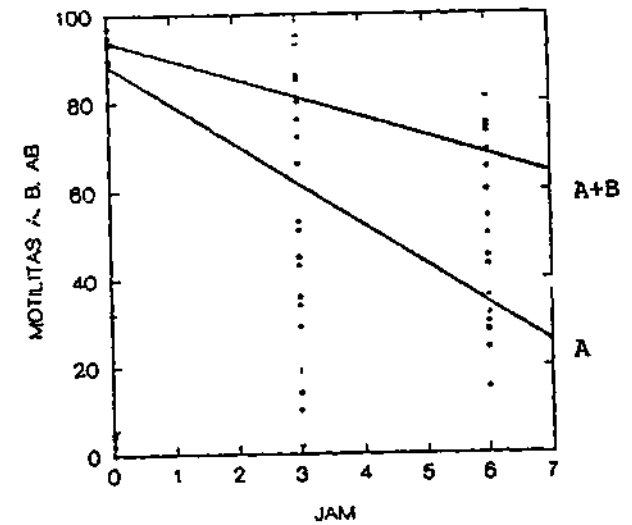
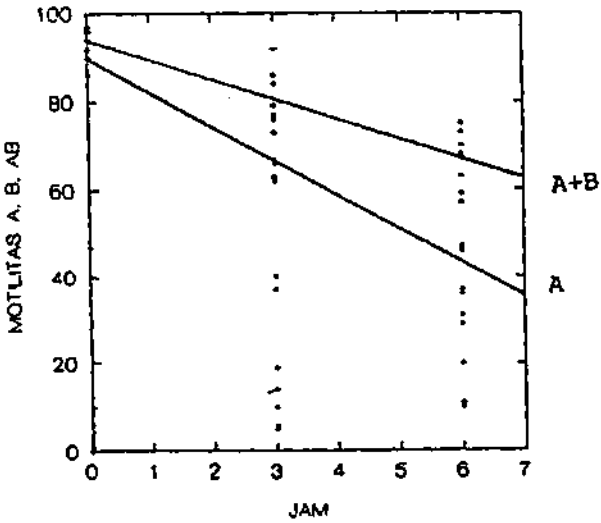


Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *E. coli*, ratio 1:10 +Ab



Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada *E. coli* ratio 1:1000

Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada *E. coli* ratio 1:1000 + Ab



Hubungan motilitas a, a+b dan waktu Pada spermatozoa tanpa *E. coli*

Hubungan motilitas a, a+b dan waktu pada spermatozoa tanpa *E. coli* +Ab

Dari hasil analisis regresi dapat diketahui bahwa pada setiap spesies bakteri baik pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10, 1:1000 dan kontrol antara yang diberi antibiotik dan tanpa antibiotik motilitas spermatozoa kategori a dan a+b semakin turun dengan bertambahnya waktu.

VI. Data dan analisis data tentang aglutinasi spermatozoa.

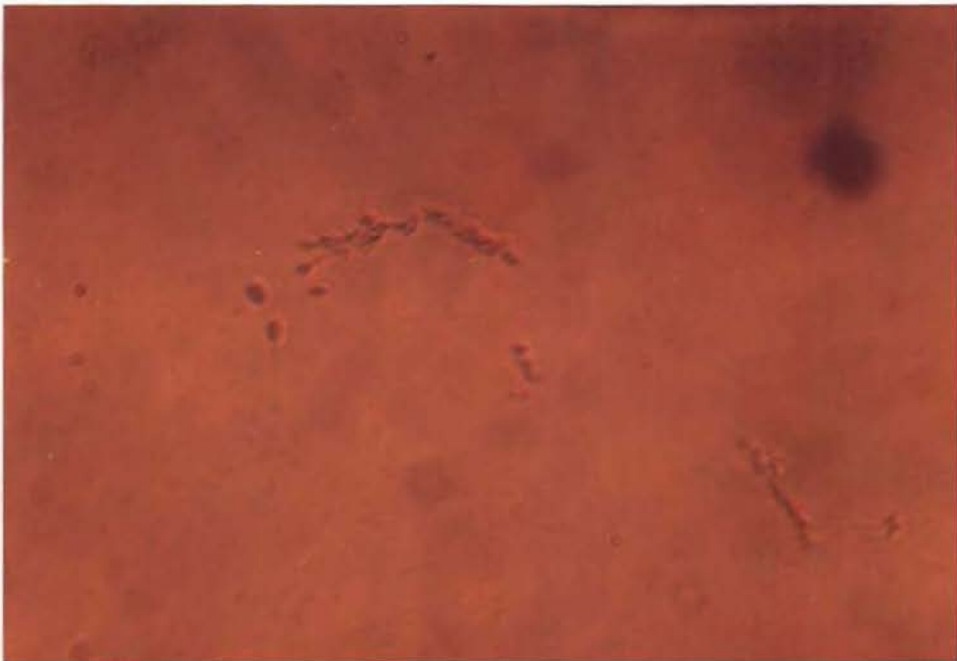
Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan aglutinasi yaitu prosentase spermatozoa yang berglutinasi setelah inkubasi spermatozoa dengan spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri yang berbeda.

Hasilnya adalah *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus faecalis* tidak menyebabkan aglutinasi, *Enterobacter aerogenes* dapat menyebabkan aglutinasi spermatozoa setelah lama inkubasi 6 jam dan aglutinasi tersebut terjadi pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan rerata 16,6%.

E.coli menyebabkan aglutinasi pada lama inkubasi 3 jam dan 6 jam pada ratio spermatozoa /bakteri 1 : 10 dan 1 : 1000. Pada lama inkubasi 3 jam ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan rerata 24,4% ,pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dengan rerata 8,5%, 1 : 10 + Ab dengan rerata 21%, 1 : 1000 + Ab dengan rerata 7%. Pada lama inkubasi 6 jam, ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 rerata aglutinasinya adalah 50,3%, 1 : 1000 dengan rerata 32,66%, sedang 1 : 10 + Ab dengan rerata 50%, 1 : 1000 + Ab dengan rerata 26,83%.

Dari hasil analisis data di dapatkan (lampiran 26) bahwa pada *E. coli* dengan lama inkubasi 3 jam dan 6 jam antara diberi antibiotik dan tanpa antibiotik tidak ada perbedaan yang bermakna terjadinya aglutinasi.

Gambar aglutinasi spermatozoa pada inkubasi spermatozoa – *E. coli* adalah sebagai berikut :



Gambar 5.1 Aglutinasi spermatozoa pada inkubasi spermatozoa – *E. coli* pada ratio spermatozoa/ *E. coli* 1:10 setelah 6 jam inkubasi



BAB 6

PEMBAHASAN

Dari hasil analisis data yang telah dibahas pada bab 5 dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a dan a + b, pengaruh tersebut terjadi pada lama inkubasi 3 jam dan 6 jam, sedangkan pada 0 jam tidak ada pengaruh.

Pada motilitas spermatozoa kategori a interaksi spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri serta lama inkubasi tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Pada motilitas spermatozoa kategori a + b, ada pengaruh interaksi spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri serta lama inkubasi.

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Pengaruh spesies bakteri terhadap motilitas spermatozoa tersebut dapat di jelaskan sebagai berikut :

Pada penelitian ini spesies bakteri yang digunakan sebagai bakteri penginfeksi spermatozoa secara *in vitro* terdiri dari bakteri patogen dan non patogen. Yang tergolong patogen adalah *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli* (*E. coli*). Sedang yang non patogen adalah *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri patogen dan non patogen mempunyai kemampuan yang berbeda, diantara spesies bakteri patogen, derajat patogenisitasnya juga berbeda. Hal ini disebabkan toksigenitas (kemampuan menghasilkan toksin), daya invasi (kemampuan memasuki jaringan, berkembang biak, mengatasi pertahanan tubuh hospes dan

kemampuan menyebar) serta adhesivitas (kemampuan melekat) dari setiap bakteri tersebut diatas berbeda-beda. Spesies bakteri yang mempunyai derajat patogenitas yang berbeda ini apabila menginfeksi spermatozoa maka menyebabkan pengaruh yang berbeda pula terhadap motilitas spermatozoa.

Bila dibandingkan dengan kontrol, *Staphylococcus epidermidis* tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa pada ratio 1 : 1000 pada lama inkubasi 6 jam. *Staphylococcus epidermidis* berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a + b pada ratio 1 : 10 pada lama inkubasi 6 jam. Hal ini menunjukkan bahwa *Staphylococcus epidermidis* memerlukan jumlah bakteri yang sangat banyak untuk dapat berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Hasil penelitian yang dilakukan Huwe et al., (1998) yang menginfeksi spermatozoa dengan *Staphylococcus saprophyticus* dengan konsentrasi yang sangat tinggi (200 – 400 juta/ml) yang diinkubasi 6 jam, ternyata *Staphylococcus saprophyticus* tidak berpengaruh terhadap parameter motilitas dan juga didapatkan *Staphylococcus saprophyticus* tidak menyebabkan adhesi atau aglutinasi.

Pada penelitian ini *Streptococcus faecalis* bila dibanding kontrol tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa pada 3 jam, sedang pada 6 jam berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa.

Strain *Enterococcus (Streptococcus faecalis)* adalah bakteri penting yang menyebabkan bakteriospermia asymptomatic dan epididimitis (Weidner, 1995 dalam Huwe, 1998). Jacques et al (1990) telah mengamati bahwa tidak terjadi penurunan motilitas spermatozoa dalam studi *in vivo* pada semen yang terkontaminasi dengan

Streptococcus faecalis. Makler (1981) dalam Huwe (1998) menyatakan bahwa *Streptococcus faecalis* dengan konsentrasi yang tinggi tidak mengubah motilitas dan viabilitas spermatozoa. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Huwe (1998) di dapatkan bahwa strain *Enterococcus (Streptococcus faecalis)* tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Bisson & Czyglick (1974) dalam Huwe (1998) yang menyatakan bahwa *Streptococcus faecalis* dengan kuat menghambat motilitas spermatozoa secara *in vitro*, walaupun prosentase penurunan motilitasnya tidak dicantumkan. Hal ini di dukung Michelmann (1998) yang menyatakan bahwa *E. faecalis* adalah bakteri yang sangat berbahaya selama prosedur *In Vitro Fertilisation*

Pada penelitian ini walaupun *Streptococcus faecalis* berpengaruh terhadap spermatozoa bila di bandingkan kontrol, tetapi rerata motilitasnya masih cukup tinggi yaitu pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 pada lamainkubasi 6 jam rerata motilitas spermatozoa kategori a+b adalah 59,667 %. Sedang pada penelitian Huwe (1998) yang menginfeksi spermatozoa dengan *Enterococcus* secara *in vitro* di dapat bahwa pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 pada lama inkubasi 6 jam rerata motilitas spermatozoa kategori a+b sekitar 60 %.

Enterobacter aerogenes bila dibandingkan kontrol berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa spermatozoa kategori a+b pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 setelah 6 jam inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa *Enterobacter aerogenes* untuk dapat berpengaruh terhadap spermatozoa diperlukan dalam jumlah tinggi. Dari

penelusuran kepustakaan yang ada penelitian dengan menggunakan *Enterobacter aerogenes* sebagai bakteri penginfeksi spermatozoa jarang dilakukan sehingga tidak diketahui peran *Enterobacter aerogenes* terhadap motilitas spermatozoa.

E. coli bila dibanding dengan kontrol berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa kategori a+b pada ratio 1:10 dan 1:1000 setelah lama inkubasi 3 jam dan 6 jam . Berarti dengan lama inkubasi 3 jam , *E. coli* sudah mampu menurunkan motilitas spermatozoa . Dengan demikian dibanding dengan ke 3 spesies bakteri yang lain , maka *E. coli* mempunyai derajat patogenitas yang lebih tinggi, karena hanya dengan pertumbuhan bakteri selama 3 jam sudah mampu menurunkan motilitas. Sedangkan *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis* , *Enterobacter aerogenes* dapat berpengaruh terhadap spermatozoa setelah 6 jam inkubasi.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Kohn et al (1998) yang mengkontaminasi spermatozoa dengan 2.10^6 *E. coli* / ml di dapat hasil terjadi penurunan motilitas secara bermakna setelah 3 jam inkubasi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Diemer (1996), Huwe (1998) di dapat bahwa *E. coli* pada ratio spermatozoa/bakteri 1:10 dan 1:100 pada lama inkubasi 6 jam menyebabkan spermatozoa semuanya immotil.

Faktor-faktor dari *E. coli* yang dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa telah banyak di teliti. Dari hasil penelitian yang dilakukan Auroux et al (1991) didapat bahwa endotoksin *E. coli* tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Telah dipercaya bahwa adanya perlekatan bakteri ke spermatozoa yang menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa (Wolff, 1993). Adanya perlekatan ini

mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi spermatozoa karena disintegrasi dari bakteri (Gopalkrishnan , et al, 1989), mengakibatkan terjadinya aglutinasi (Wolff, 1993) dan mengakibatkan kerusakan membran plasma spermatozoa yaitu membran plasma spermatozoa menjadi robek dan mengalami lisis terutama pada *mid piece* dan *tail* mengalami invaginasi (Diemer , 1996).

Dengan demikian interaksi spermatozoa-*E. coli* terjadi 2 tahap yaitu adhesi lalu destruksi membran spermatozoa. Adanya perubahan morfologi, aglutinasi dan kerusakan membran berkaitan dengan pergerakan spermatozoa.

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

tidak mampu menghantarkan gelombang pergerakan sehingga terjadi gangguan pergerakan spermatozoa.

Selain spesies bakteri, ratio spermatozoa/bakteri juga berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Pengaruh ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas dapat dijelaskan sebagai berikut :

Pada prinsipnya bakteri berpengaruh terhadap spermatozoa hanya ketika bakteri tersebut mengadakan kontak dengan spermatozoa (Auroux, 1991). Penurunan motilitas terjadi jika jumlah bakteri banyak dan jumlah spermatozoa sedikit (Auroux, 1991). Hal ini bisa dijelaskan bahwa semakin banyak bakteri (semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri), maka kesempatan kontak dengan spermatozoa semakin besar, bila jumlah bakteri sedikit (ratio spermatozoa/bakteri besar) maka bakteri jarang mempunyai kesempatan kontak dengan spermatozoa. Dengan demikian semakin tinggi 'ratio spermatozoa/bakteri, maka semakin besar kemungkinan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa, dan semakin rendah ratio spermatozoa/bakteri maka semakin kecil untuk terjadinya penurunan motilitas spermatozoa.

Hasil penelitian ini didapat bahwa *Staphylococcus epidermidis* pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 1000 dengan lama inkubasi 6 jam tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dengan lama inkubasi 6 jam berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Pada *Streptococcus faecalis* pada ratio spermatozoa/bakteri 1 ; 10 dan 1 : 1000 dengan lama inkubasi 6 jam berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa bila dibanding kontrol. Demikian juga pada *Enterobacter aerogenes*. Sedangkan *E. coli* pada ratio spermatozoa/bakteri

1 : 10 dan 1 : 1000 dengan lama inkubasi 3 jam sudah berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa.

Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa spesies bakteri tertentu memerlukan ratio spermatozoa/ bakteri tertentu untuk dapat berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Selama inkubasi bakteri akan tumbuh. Tetapi karena pada penelitian ini pertumbuhan bakteri selama inkubasi tidak di ukur sehingga tidak diketahui berapa pertambahan jumlah bakteri selama inkubasi dan menjadi berapa ratio spermatozoa/bakteri pada 3 jam dan 6 jam inkubasi pada masing-masing spesies, untuk itu perlu di adakan penelitian lebih lanjut dengan memperhitungkan jumlah bakteri selama inkubasi.

Pada penelitian ini karena dalam masa inkubasi 3 jam *E. coli* sudah mampu berpengaruh terhadap motilitas berarti untuk dapat berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa, diperlukan jumlah *E. coli* yang lebih sedikit dibanding dengan ke 3 spesies bakteri yang lain.

Pengaruh jumlah *E. coli* terhadap motilitas spermatozoa telah banyak diteliti. Menurut Derrick, Dahlberg (1976) bahwa penurunan motilitas dan *clumping* spermatozoa terjadi ketika ejakulat segar dicampur dengan suspensi *E. coli* sejumlah 10^{13} mikroorganisme/ml. Dan *E. coli* dengan jumlah 500 – 100.000 tidak mampu mengubah motilitas spermatozoa setelah inkubasi 1 jam. Selanjutnya juga dinyatakan bahwa konsentrasi 10^6 mikroorganisme/ml telah terjadi penurunan motilitas sekitar 40%, *clumping* terjadi pada konsentrasi 10^7 dan 10^8 .

Menurut Comhaire (1980) konsentrasi *E. coli* $> 10^8$ organisme/ml yang dapat menurunkan motilitas dan menyebabkan aglutinasi secara *in vitro* tidak dapat diterapkan secara realistik dalam *in vivo* yang mana konsentrasi bakteri jarang mencapai 10^6 /ml. Dan Comhaire (1980) memberikan batasan bahwa bakteri patogen berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa bila berjumlah $> 10^3$ mikroorganisme/ml, sedang non patogen $> 10^4$ mikroorganisme/ml.

Fari et al (1977) dalam Comhaire (1980) menyatakan bahwa batas yang signifikan untuk bakteriospermia adalah $3 \cdot 10^3$ bakteri/ml. Sedang Auroux (1991) berpendapat bahwa konsentrasi *E. coli* 10^4 /ml tidak menurunkan motilitas spermatozoa. Dari hasil penelitiannya didapat bahwa motilitas populasi 10^7 spermatozoa/ml berkurang secara signifikan dengan adanya 10^6 /ml *E. coli* bila dibanding spermatozoa yang berjumlah $4 \cdot 10^7$ /ml.

Hasil studi yang dilakukan oleh Diemer (1996) menyatakan bahwa pengaruh *E. coli* terhadap motilitas spermatozoa tergantung pada konsentrasi bakteri. Dari hasil penelitiannya didapat bahwa motilitas spermatozoa dihambat pada ratio spermatozoa/*E. coli* sekitar 1 yang dicapai oleh pertumbuhan *E. coli* setelah 3 – 5 jam inkubasi dan tergantung awal konsentrasi *E. coli*. Menurut Comhaire (1980) ratio spermatozoa/bakteri = 1 merupakan kasus yang jarang terjadi pada *in vivo*.

Hasil penelitian yang dilakukan Diemer (1996) dan Huwe (1998) didapat bahwa ratio spermatozoa/*E. coli* = 1 : 10 dan 1:100 menyebabkan spermatozoa tidak bergerak/immotil semua setelah 6 jam inkubasi. Pada penelitian ini didapat bahwa ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 masih terdapat spermatozoa motil kategori a + b

dengan rerata 27,667. Perbedaan hasil ini mungkin karena metode persiapan spermatozoa yang digunakan berbeda. Pada penelitian Diemer (1996) spermatozoa hanya dipersiapkan dengan *washing swim up*, sedang pada penelitian ini spermatozoa dipersiapkan dengan metode kolom bertingkat Percoll. Metode pencucian spermatozoa dengan kolom bertingkat Percoll bertujuan untuk menghilangkan bakteri yang mencemari spermatozoa (kemungkinan adanya virus diabaikan) disamping itu juga dituai spermatozoa dengan motilitas yang sangat tinggi walaupun dengan konsentrasi rendah. Sedang metode *washing swim up*, dituai spermatozoa dengan konsentrasi tinggi tetapi kualitas motilitas tidak sebagus Percoll. Kemungkinan lain terjadinya perbedaan hasil adalah adanya perbedaan teknik pengukuran motilitas. Pada penelitian Diemer (1996) menggunakan Computer Assisted Sperm Analisis (CASA), sedang pada penelitian ini digunakan analisis visual. Telah dipercaya bahwa analisis motilitas dengan CASA adalah lebih akurat, paling reliabel dan metode paling mudah untuk membedakan motilitas spermatozoa, terutama pada sampel dengan jumlah spermatozoa rendah (Wetzels, 1993 dalam Diemer, et al, 1996). Sedangkan mengevaluasi motilitas spermatozoa dengan metode konvensional seperti yang dilakukan pada penelitian ini adalah sangat subyektif dan tergantung atas pengalaman dan ketrampilan (*Skill*) dari teknisi (Glezerman, Bartoov, 1993). Kemungkinan juga adalah strain *E. coli* yang digunakan berbeda. Penelitian Diemer (1996) dan Huwe (1998) menggunakan *E. coli* serovar O₆, haemaglutinasi (manose sensitive), *encapsulated*, haemolitik, sedang yang digunakan pada penelitian ini identifikasi yang dilakukan tidak sampai pada tingkat serovar. Dan jumlah

(konsentrasi) *E. coli* yang digunakan tidak pernah mencapai 2.000.000 pada penelitian ini juga mungkin yang menyebabkan terjadinya perbedaan hasil.

Pada penelitian ini dari data penurunan prosentase motilitas dan hasil regresi diketahui bahwa semakin lama waktu inkubasi spermatozoa-bakteri dan semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri, maka semakin besar terjadinya penurunan prosentase motilitas spermatozoa. Pada kontrol, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* dan *E. coli* di dapat bahwa motilitas spermatozoa kategori a dan a + b semakin turun dengan bertambahnya waktu.

Pada kontrol, semakin lama inkubasi prosentase penurunan motilitas semakin besar, hal ini mungkin disebabkan pada 0 jam motilitas spermatozoa hampir semuanya berkategori a. Dengan bertambahnya waktu mungkin energinya berkurang sehingga gerakannya semakin lambat. Pada kontrol prosentase penurunan motilitas spermatozoa kategori a+b pada penelitian ini adalah 26,31% setelah 6 jam inkubasi. Menurut Makler dalam Amelar (1980), dengan menggunakan metode *objective multiple exposure photography* dinyatakan bahwa secara *in vitro* prosentase *progresif motility* menurun kira-kira 5% sampai 10 % per jam. Sedang menurut Glezerman , Bartoov , (1993) dinyatakan bahwa hilangnya motilitas sebesar 10 % sampai 20 % dalam waktu 3 jam di anggap dalam batas normal.

Pada *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, dan *E. coli*, prosentase penurunan motilitas lebih besar di banding % penurunan motilitas pada kontrol. Hal ini sangat berkaitan dengan pertumbuhan bakteri selama inkubasi. Peneliti berasumsi bahwa tidak hanya jumlah bakteri yang

banyak yang berpengaruh terhadap motilitas, tetapi juga karena adanya faktor-faktor yang terlarut (metabolit) dari bakteri yang terlarut dalam medium akan mengganggu pergerakan spermatozoa. Untuk itu perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang analisis faktor-faktor yang terlarut dalam medium inkubasi spermatozoa-bakteri.

Pada penelitian ini diteliti juga pengaruh penambahan antibiotik yang bertujuan mencegah/menghambat pertumbuhan bakteri. Dengan hasil tidak ada perbedaan motilitas baik kategori a dan a + b antara yang diberi antibiotik dan tanpa antibiotik. Kecuali pada *Staphylococcus epidermidis* pada ratio 1 : 1000 dibanding 1 : 1000 + Ab serta 1 : 10 dibanding 1 : 10 + Ab pada lama inkubasi 6 jam terjadi perbedaan motilitas kategori a + b, terdapat perbedaan motilitas kategori a pada *Enterobacter aerogenes* pada ratio spermatozoa/bakteri 1:1000 dibanding 1:1000+Ab setelah 6 jam inkubasi, motilitas kategori a pada Kontrol dibanding Kontrol + Ab pada lama inkubasi 6 jam.

Dengan demikian penisilin yang digunakan pada penelitian ini tidak mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa. Hal ini mungkin disebabkan dosis yang digunakan kurang tepat. Pada penelitian ini dosis yang digunakan 8 µg/ml. Pada penggunaannya antibiotik ini ditambahkan ke suspensi spermatozoa-bakteri dengan perbandingan Antibiotik : suspensi bakteri- spermatozoa = 1 : 1. Dengan demikian telah terjadi pengenceran antibiotik sehingga dosisnya berkurang. Atau mungkin dalam waktu 6 jam antibiotik dengan dosis tersebut belum bekerja, atau bakteri tersebut resisten terhadap penisilin.

Pada penelitian ini *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus faecalis* tidak menyebabkan aglutinasi spermatozoa. Hal ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan Huwe (1998) yang menyatakan bahwa *Staphylococcus saprophytik* dan *Enterococcus (Stretococcus faecalis)* pada konsentrasi yang tinggi tidak terdeteksi adanya adhesi dan aglutinasi.

Pada *Enterobacter aerogenes* didapatkan aglutinasi setelah 6 jam inkubasi pada ratio 1 : 10 dengan rerata 16,6 %. Tidak diketahui mengapa *Enterobacter aerogenes* dapat mengaglutinasi spermatozoa. Dari penelusuran kepustakaan yang ada, penelitian dengan menggunakan *Enterobacter aerogenes* sebagai penginfeksi spermatozoa jarang diteliti.

E coli pada ratio spermatozoa/bakteri 1 : 10 dan 1 : 1000 dalam waktu 3 jam sudah mampu mengaglutinasi spermatozoa. Hasil penelitian ini adalah dalam 3 jam pada ratio 1 : 10 ada aglutinasi dengan rerata 24,3% dan pada 6 jam ada 50,2% aglutinasi spermatozoa. Sedangkan pada penelitian Wolff, et al (1993) di dapat pada ratio 1 : 10 telah terjadi 56,75% aglutinasi spermatozoa setelah inkubasi 1 jam. Dan dari hasil penelitiannya di dapatkan bahwa *E. coli* dapat mengaglutinasi spermatozoa pada ratio 1 : 20 dan aglutinasi paling banyak (90%) terjadi pada ratio 1 : 5 atau pada ratio yang lebih tinggi, sedang sisanya 10% spermatozoa yang tidak beraglutinasi adalah immotil.

Pada penelitian Diemer (1996) dan Huwe (1998) juga telah menemukan adanya adhesi *E. coli* ke spermatozoa dan *E. coli* menyebabkan aglutinasi, walaupun data berapa % spermatozoa yang beraglutinasi tidak dicantumkan.

Sebenarnya spesies bakteri lain juga menyebabkan kerusakan secara langsung ke spermatozoa dengan perlekatan bakteri ke spermatozoa. Hal ini telah ditunjukkan oleh *Ureaplasma urealiticum* (Bartoov, 1991), *Chlamydia trachomatis* (Friebert, 1987). Tetapi perlekatan bakteri yang cukup kuat untuk menginduksi heteroaglutinasi dari mikroorganisme dan spermatozoa motil hanya pada *E. coli* (Bartoov, 1991).

Pada penelitian Wolff (1993) dengan menggunakan 8 mikroorganisma yang menginfeksi traktus genitalis yaitu: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Enterococci*, *Klebsiella pneumoniae* dan *E. coli* telah didapat bahwa hanya *Klebsiella pneumoniae* dan *E. coli* yang mampu berinteraksi dengan spermatozoa manusia. Dengan transmisi elektron mikroskop telah ditunjukkan bahwa *E. coli* melekat ke kepala dan ekor spermatozoa. Kecepatan aglutinasi spermatozoa-*E. coli* menunjukkan kuatnya kekuatan perlekatan / adhesivitas.

Perlekatan spermatozoa- *E. coli* ini disebabkan adanya ligand *E. coli* pada spermatozoa . Dengan elektron mikrograf, Wolff (1993) telah menunjukkan bahwa ligand untuk *E. coli* pada spermatozoa ada pada kepala dan ekor yaitu pada membran plasma spermatozoa. Ligand *E. coli* juga bagian dari membran plasma.

Telah diketahui bahwa perlekatan *E. coli* ke sel mukosa usus manusia diperantarai oleh manose yaitu gula yang ada pada permukaan sel beberapa mamalia (Beachey, 1981). Bartoov et al (1991) juga telah menunjukkan bahwa manose memainkan peranan dalam perlekatan *E. coli* ke spermatozoa. Perlekatan itu perantarai oleh manose yang ada pada permukaan spermatozoa dan struktur ikatan

mannose yang ada pada *E. coli*. Dan telah diketahui juga bahwa mannose terikat ke Fimbriae tipe 1 pada *E. coli* (Beachey, 1981). Struktur ini bereaksi dengan manose pada spermatozoa. Hal ini telah didukung oleh kenyataan bahwa tidak ada perlekatan spermatozoa ke strain *E. coli faeces*.

Wolff (1993) dalam Diemer (1996) akhirnya telah menunjukkan bahwa perlekatan *E. coli* ke spermatozoa disebabkan oleh kedua struktur ikatan manose pada membran spermatozoa dan kapsul *E. coli*.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

1. Ada pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/bakteri terhadap motilitas spermatozoa kategori a dan a+b pada 3 jam dan 6 jam inkubasi, sedang pada 0 jam tidak ada pengaruh.
2. *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes* pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 dan *Streptococcus faecalis* pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 dan 1:1000 bila dibanding kontrol berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa setelah 6 jam inkubasi. Pada *E. coli*, baik pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 dan 1:1000 berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa setelah 3 jam dan 6 jam inkubasi.
3. Spesies bakteri yang paling menurunkan motilitas spermatozoa adalah *E. coli* yang terjadi pada ratio spermatozoa/ bakteri 1:10 pada lama inkubasi 6 jam.
4. Pada penelitian ini penambahan antibiotik pada inkubasi spermatozoa-bakteri tidak mampu mencegah pengaruh buruk bakteri terhadap spermatozoa.
5. Semakin lama inkubasi dan semakin tinggi ratio spermatozoa/bakteri prosentase penurunan motilitas spermatozoa semakin besar.
6. *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis* tidak menyebabkan aglutinasi spermatozoa. *Enterobacter aerogenes* menyebabkan aglutinasi spermatozoa pada

ratio spermatozoa / bakteri 1:10 setelah 6 jam inkubasi. *E. coli* menyebabkan aglutinasi spermatozoa setelah 3 jam dan 6 jam inkubasi.

7.2. Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang :

1. Pengukuran pertumbuhan bakteri selama inkubasi spermatozoa-bakteri.
2. Analisis faktor-faktor yang terlarut dalam medium inkubasi spermatozoa-bakteri (toksin, metabolit) yang menurut asumsi peneliti berpengaruh terhadap spermatozoa.
3. Pengaruh spesies bakteri dan ratio spermatozoa/ bakteri terhadap morfologi spermatozoa, viabilitas spermatozoa, uji kerusakan membran spermatozoa dengan HOS, pengamatan ultra struktur membran spermatozoa dengan mikroskop elektron.
4. Pengaruh flora urogenital yang lain terhadap kualitas spermatozoa.
5. Penggunaan antibiotik jenis lain dengan dosis yang tepat.
6. Secara praktis, karena pada penelitian ini ternyata bakteri non patogen yaitu *Staphylococcus epidermidis* pada ratio 1:10 secara statistik berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa setelah 6 jam inkubasi , maka kita harus berhati-hati dalam melakukan persiapan spermatozoa untuk Teknologi Bantu Reproduksi.

DAFTAR PUSTAKA

Alexander, N.J., Anderson, D.J., (1987) : *Immunology of semen*, Fertility Sterility 47 : 192-205.

Allen ,WWR., Tuttle, JP., Eldrige, JC., (1979) : *The Effect of Escherichia coli on human spermatozoa cyclic adenosine 3',5' monophosphate*, Fertility Sterility 31 : 451-452.

Amelar RD., Dubin, L., Schoenfeld, CY., (1980), *Sperm Motility*, Fertility Sterility, 34 (3) : 197- 215

Appell, RA., Evans, PE., (1978), *The Effect of temperatur on Sperm Motility II. Is Bacterial Gwoth a factor ?* Fertility Sterility, 30 : 436-438

Arsyad, Pieter S O, Soehadi, K., (1984), *Leucospermia and male fertility*, Medika, 7 : 515-518

Auroux MR., Jacques,L., Mathieu D., and auer J., (1991) : *Is the Sperm Bacterial Ratio a Determinating Factor in Impairmant of Sperm Motility : An In vitro Study in Man With Escherichia coli*, Int. of Andrology, 14 : 264-270.

Bartoov BD., Ozbontil MC., Maayan E., Ohad and Y. nitzan, (1991): *Virulence Characteristics of male genital tract Escherichia coli isolated from semen of suspected infertil men*, Andrologia : 23 : 387-394

Battersby, S., and Chandler, J.A.,(1977) : *Corelation between Elemental composition and Motility of Human Spermatozoa*, Fertility Sterility 28: 557-561

Beachey ,EH.,(1981) : *Bacterial adherence : Adhesin receptor interaction mediating the attachment of bacteria to mucosal surface*, J. Infec Dis ; 143: 325-345

Berger RE., Alexander RE., Monda GD, Ansell J., Mc Cormick G., and Holmes KK., (1978) : *Chlamydia Trachomatis as a cause of acute "Idiopathic" epididymitis*, The New England Journal of Medicine, Vol.298 (6) : 301 – 304.

Berger RE., Korp LE., Williamson RA., Kochler J., Moore DE., Holmes KK., (1982): *The Relationship of Pyospermia and seminal fluid bacteriology to Sperm function as reflected in the Sperm penetration assay*, Fertility Sterility 37 : 557-564.

Comhaire F., Verschraegen, G., & Vermeulen, L., (1980): *Diagnosis of Accessory gland infection its possible role in male infertility*, Int J. of Andrology, 3 : 32-45.

- Comhaire, FH., Vermeulen, L., Pieters Onny,(1989): *Study of Accuracy of Physical and Biochemical Markers in Semen to Detect Infecious Dysfunction of The Accessory Sex Glands*, J. of Andrology 10: 50-53
- Dahlberg B., (1976), *Symptomatic bacteriospermia : Cause of infertility in men*, Urology, 8 : 563-566.
- Derrick, F.C., Dahlberg B., (1976): *Male Genital Tract Infections and Sperm Viability*,In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*, Hafez ESE., (Ed), C.V. Mosby Co , Saint Louis, 389-395.
- Diemer T, Weidner W., Michelmann HW., Schiefer HG., Rován E., and Mayer F., (1996): *Influence of Echerichia coli on motility parameters of human spermatozoa in vitro*, Int J of Andrology, 19 : 271-277
- Fowler, JE. JR., & Michele Mariano (1983) : *Bacterial Infection and Male in fertility : Absence of Immunoglobulin A With Specificity for Common Escherichia O - Serotypes in seminal fluid of infertil men*, J., of Urology, 130 : 171-174
- Fujita K., Yamamoto T., and Kitagawa R.,(1991) : *Binding Sites for P and/or Type 1-Piliated Escherichia coli in Human Ureter*, J. of Urology 146: 217-222
- Glezerman M., Bartoov B., (1993) : *Semen analysis*,In ; *Infertility : Male and female*, Insler V, Lunenfeld B (Ed), Churchill Livingstone , 285-315
- Gopalkrishnan K., Hinduja, IN., Phutane, L., Mehta, AP., (1988): *Role of Microbial Study in Selection of Subjects for in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET)*, Ind J. Med Res 88 : 141-145
- Gopalkrishnan, K., Joseph, R., Sheth ,AR., (1994) : *Alteration of Semen Characteristics and Regulatory factor in Human Semen With Bacterial Infection*, Arch. of Andrology 32: 213-218
- Gopalkrishnan, K., Hinduja, IN., Anand Kumar, TC., (1989) : *Ultrastruktur of Spermatozoa and non Spermatozoal Cells in Human Semen in Genital Tract Infection*, Int. J. Med Res 88 ; 175-185.
- Grizard, G., Janny, L., Hermabessiere, J., Sorot and Boucher, D., (1985) : *Seminal Biochemistry and Sperm Characteristics infertil men with Bacteria in ejaculate*, 181-186.

- Hafez ESE., (1980) : *The Semen, In : Human Reproduction, Conception and Contraception*, Second edition, Hafez ESE., (Ed), Harper & Row publishers, 99-103
- Hafez ESE., Prasad MRN., (1976) ; *Fungsional aspect of the epididymis, in : Human semen and Fertility Regulation in men*, First ed, Saint Louis, Hafez ESE., (Ed) The CV. Mosby Co, 31-42.
- Hill JA., Haimovici ,F., Politch ,JA., Anderson, DJ., (1987): *Effects of Soluble Products of Activated Lymphocytes and Macrophages (Lymphokines and Monokines) on human sperm motion parameter*, *Fertility Sterility* 47 : 460-465
- Holt, J.G., NR., Krieg, J.I., Stanley and S.T., Williams, (1994) : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 4 th ed., Williams and Wikins, Baltimore.
- Huwe P., Diemer T., Ludwig M, Lui J., Schiefer HG, Weidner W., (1998) : *Influence of Different Urophatogenic microorganism on human Sperm motility parameters in an vitro experiment*, *Andrologia*, 30 Supp 1 :55-59
- Jacques L, Mathieu D., Auer J., & Auroux M., (1990) : *Effect of Urogenital infection on Sperm parameters and hypofertility in men*, *Biomedicine and Pharmaco Therapy*, 44 : 225-228
- Jawetz, E., Melnick, JL., Adelberg E.A., (1986): *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* Edisi, 16, Alih bahasa : Tonang, Editor: Bonang G., EGC
- Joklik, WK., Willett, HP., Amos DB.,(1984), *Zinsser Microbiology*, 18th ed., Appleton, Century-Crofts.
- Kirby, DRS., Lowe, D., Bultitude, ML., and Shuttle Worth KED., (1982): *Intra-prostatic Urinary Reflux : an Aetiological Factor in Abacterial Prostatitis*, *Britis J of Urology*, 54 : 729-731
- Kohn, FM., Erdmann, I., Oeda T., Mulla, KF., Schiefer, HG., and Schill WB.,(1998) : *Influence of Urogenital inferction on Sperm Function* , *Andrologia*,30 Supp 1 : 73-80
- Krieger, JN., (1984) : *Epididymitis, Orchitis, and Related Condition*, *Reviw Sexually Transmitted Diseass*
- Kruger T.F., Menkveld,R., Stander,FSH., Lombard,C.J, Vander merwe, JP., Vanzyl, JA, (1996) : *Sperm Morphologic features as aprognostic factot In Vitro Fertilization*, *Fertility Sterility*, 46 : 1118-1123

- Lindholmer CH.,(1974) : *The Importance of Seminal Plasma For Human Sperm Motility*, *Biology of reproduction* 10 : 533-542
- Liu De Yi and Baker Gordon, HnW., (1992): *Tests of Human Sperm Functional and Fertilization In Vitro*, *Fertility and Sterility*, 58 : 465-482
- Maruyama, DK., Jr. Hale RW., Rogers BJ., (1985) : *Effect of White Blood Cells on the In Vitro Penetration of Zona-Free Eggs by Human Spermatozoa*, *J. Andrology*, 6 : 127-135
- Mashiach,R., Fisch,B, Eltes F., Tadir Y, Ovadia J., Bartoov, B., (1992) : *The Relationship between Sperm Ultra structural Features and Fertilizing Capacity In Vitro*, *Fertility Sterility*, 57: 1052-1057.
- Megory E., Zuckermann, H., Shoham, Z., Lunenfeld, B., (1987) : *Infection and Male Fertility USA : Obstetrical and Gynecological Survey*, Vol 42, No : 5, 283-290.
- Metz, C.B., M.E. O'Rand, C.T., Cardle, (1976) : *Agglutination and Immobilization of Human Spermatozoa*, In : *Human Semen and Fertility Regulation In Men*, Hafez ESE(Ed), The CV Mosby Co, Saint Louis : 276.
- Michelmann HW., (1998) : *Influence of bacteria and leucocyte on the out come of in vitro fertilization (IVF) or intracytoplasmic Sperm injection (ICSI)*, *Andrologia*, 30 Supp 1 : 99-101
- Mills, ES., Hafez, ESE., (1980), *Male accessory Sexual Organs*, In: *Human Reproduction , Conception and Contraception*, second ed., Hafez ESE(Ed)., Harper & Row Publisher,60-90
- Mitchel, JA., Nelson, L., Hafez ESE., (1976) : *Motility of Spermatozoa*, In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*, Hafez ESE.,(Ed), The CV Mosby Co, 83-99
- Mobley, DF.,(1975) : *Semen Cultures in The Diagnosis of Bacterial Prostatitis*, *J. of Urology*, 114 : 53-58.
- Moeloek N., (1978) : *Sperma Manusia dalam Spermatologi*, Suhadi K.,(Ed), *Prosiding Simposium Spermatologi*, Surabaya, 118-125.
- Mostafavi, M., Stein ,P.C., Parson CL., (1995) : *Production of Soluble Virulence Factor by Esherichia coli*, *J. of Andrology* 153:1441-1443.
- Nagae, T., Yanagimachi R., Srivastava PN., Yanagimachi H., (1986): *Acrosome reaction in Human Spermatozoa*, *Fertility Sterility*, 45 : 701-707

- Paulson, JP., and Polakoski NL., (1977): *Isolation of Spermatozoa Immobilization factor from Escherichia coli filtrates*, *Fertility Sterility*, 28 : 182-185
- Pedersen, H., Fawcet, D.D., (1976 0) : *Functional Anatomy of Human Spermatozoa*, In : *Human Semen and Fertility Regulation in men* , Hafez ESE ., (Ed),The CV., Mosby Co Saint Louis , 133-143
- Peterson ,RN., and Freund, M., (1976) : *Metabolism of Human Spermatozoa*, In: *Human Semen and Fertility Regulation in men*, Hafez ESE (Ed),The CV Mosby Co Saint Louis: 176-181.
- Purvis K., Christiansen E., (1993) : *Infection in The Male Reproductive Tract, Impact, Diagnosis and Treatment in Relation to Male Infertility*, *Int. J. Andrology*, 16: 1-5.
- Riedel ,HH., (1980): *Special Types of Phugocytes in Human Semen*, *Andrologia*, 12 : 232-244
- Riedel ,HH., and K. Semm (1980): *Leucospermia and Male Fertility*, *Arch, Androl*, 4 : 51-56
- Robledo, J.A., Serrano Alix and Domingue, GJ., (1990) : *Outer Membran Protein of E.coli in The Host-Pathogen interaction in Urinary Tract infection*, *J. Urology*, 143: 386-391.
- Schaechter, M, (1992): *Esherichia coli, General Biology*, In: *Encyclopedia of Microbiology*, Vol2: 115-124
- Schaeffer A.J., (1998) : *Aetiopathology and pathogenesis of urogenital infection* , *Andrologia* 30 Supp 1 ; 3-6
- Shulman ,ST., Phair, JP., Sommers, HM., (1994) : *Dasar Biologis & Klinis. Penyakit Infeksi*, Edisi ke 4, Penerjemah; Wahab SA., Gajah Mada University Press.
- Siegel ,T., Dudhilwicz, A.B., Friberg. J, Soares ,M., and Glucer, M.,(1986): *Inhibition of Sperm Motility and aglutination of Sperm Cell by free fatty acid in Whole Semen* , *Fertility Sterility* 45: 273-279
- Sikka, Suresh ,C., (1996): *Oxidative Stress and Role of Antioxidants in Nornal and Abnormal Sperm Function*, *Frontiers in Bioscience* 1 e 78-86 , 1 August 1996 : 1-13
- Sobel ,JD., (1991) : *Bacterial Etiologic Agents in the Pathogenesis of Urinary Tract Infection*, *Medical Clinics of North America*, Vol 75 No.2 : 253-272
- Soehadi K., (1996) : *Spesies Oksigen Reaktif dan kualitas spermatozoa* , *Medika* no 10 Th: XXII

Stell RGD., James HT., (1991) : *Prinsip dan prosedur Statistika (Suatu Pendekatan Biometrik)*, Alih bahasa oleh Bambang Sumantri, edisi ke 2, Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.

Straube ,E., Schmidt, G., Marre,R., and Hacker, J., (1993): *Adhesion and Internalization of E. coli Strain expressing Various Pathogenicity Determinants*, Zbl.Bakt, 278 :218-228

Svanborg, Catharina, (1997) : *Esherichia coli Colonization, Persistence and Virulence in The Urinary Tract*, Departement of Medical Microbiology, Divisi of Clinical Immunology, Lund University, Faculty of Medicine, Automatically generated at 1997-11-05.

Swenson, A, Toth Cl., Toth L., Wolf Gruber and O'leary WM, (1980): *Asymptomatic Bacteriospermia in Infertil Men*, *Andrologia* 12 (1) : 7-11

Tanojo, TD., (1991) : *The Result of Aerobic Bacterial Culture on Semen of Male Partners of Infertil Couple*, Post Graduate Trane at The Andrology Unit, Lab., of Biomedicine , School of Medicine, Airlangga University

Tauber, PF., Zaneveld, LJD., (1976); *Coagulation and Liquefaction of Human Semen*. In *Human Semen and Fertility Regulation in Men*, Hafez ESE (Ed),The C.V. Mosby Co. Saint Louis, 153-166.

Tjandrakirana, MSN., (1998) : *Pengaruh Infeksi Chlamydia trachomatis di uretra terhadap Kualitas semen (Studi eksperimental in vitro)*, ringkasan disertasi, Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Tournaye, H., (1994) : *The Effects of Pentoxifyline on Sperm Function And Embryonic Development and Its Use in Treatment of Male-Factor Infertility*, Thesis, Vrije Universiteit Brussel.

Ulstein, M., Capell, P., Holmes, KK., Paulsen, CA., (1976) : *Non Symtomatic Genital Tract Infection and Male Infertility*. In : *Human Semen and Fertility Regulation In Men*, Hafez ESE., (Ed),The CV Mosby Co ., 355-361

Volk, WA., Wheeler MF., (1989) : *Mikrobiologi Dasar II*, Edisi 5, Jakarta: Erlangga.

Weidner, W., Jantos, C., Schiefer, HG., Haidl, G., & Friedrich. HJ., (1991): *Semen Parameters in Men with and Without Proven Chronic Prostatics*, *Archives of Andrology*, 26 : 173-183

Weidner W., (1992) : *Prostatitis- Diagnostic Criteria, Classification of Patiens and Recommendation for Therapeutic Trials*, Infec Supp 1 3 : 227-131

Wibowo S., (1989), *Studi tentang Sperma yang tercemar oleh Mikroorganisma pada Pasangan Infertil* (Disertasi), Pascasarjana, Universitas Airlangga.

Wibowo S., (1997) : *Infeksi dan Kelainan Immunologis Pada Pria*, Disampaikan pada Pelatihan Standarisasi Penatalaksanaan Infertilitas Wanita dan Pria di Surabaya.

Wolff H, Politch JA, Martinez A, Haimovie F, Hill JA, Anderson DJ (1990), *Leucocytospermia is associated with poor semen quality*, Fertility Sterility 53 : 529-536

Wolff, H., Bezold, G., Zebhanser, M., and Meurer , (1991) : *Impact of Clinically Silent Inflammation on Male Genital Trant Organs as Reflected by Biochemical Markers in Semen* , J. of Andrology, 12: 331-334.

Wolff,H, Panhans, A., Stolz,W., Maurer, M., (1993) : *Adherence of Escherichia coli to Sperm : A manose mediated phenomenon leading to agglutination of Sperm and Escherichia coli* , Fertility Sterility 60 :154-158.

World Healdth Organization (1992) : *WHO Laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction*, 3rd ed., Cambridge University press, Cambridge.

Zaneveld LJD., (1985) : *The Biology of Spermatozoa*, Presented In : Konggres National III PANDI, Jakarta : 15-39.

Zaneveld, LJD., and Polakoski KL.,(1976) : *Biochemistry of Human Spermatozoa*, In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*, All Rights Reserved, Hafez ESE.,(Ed) , The CV Mosby Co , Saint Louis : 167-175

Lampiran 1.

UNIVARIATE AND MULTIVARIATE REPEATED MEASURES ANALYSIS
BETWEEN SUBJECTS

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
BAC	3375.000	3	1125.000	9.143	0.000
RATIO	9676.037	2	4838.019	39.319	0.000
BAC*RATIO	2072.333	6	345.389	2.807	0.018
ERROR	7382.778	60	123.046		

WITHIN SUBJECTS

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
Jam	133164.009	2	66582.005	1076.814	0.000
Jam*BAC	2445.583	6	407.597	6.592	0.000
Jam*RATIO	3452.102	4	863.025	13.957	0.000
Jam*BAC *RATIO	996.417	12	83.035	1.343	0.204
ERROR	7419.889	120	61.832		

Lampiran 2.

PERBANDINGAN ANTAR BAKTERI

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	25.500	3	8.500	0.446	0.721
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	4053.042	3	1351.014	8.856	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	1742.042	3	580.681	7.730	0.000
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.737				
F-STATISTIC =	4.637	DF =	9, 170	PROB =	0.00



Lampiran 3

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN BAKTERI 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	18.778	1	18.778	0.986	0.325
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	53.778	1	53.778	0.353	0.555
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	650.250	1	650.250	8.656	0.005
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.212
 F-STATISTIC = 4.107 DF = 3, 58 PROB = 0.010

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN BAKTERI 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	0.111	1	0.111	0.006	0.939
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	3117.361	1	3117.361	20.435	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	1284.028	1	1284.028	17.092	0.000
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.460
 F-STATISTIC = 8.900 DF = 3, 58 PROB = 0.000

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN BAKTERI 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	16.000	1	16.000	0.840	0.363
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	4.000	1	4.000	0.026	0.872
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	441.000	1	441.000	5.870	0.018
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.160
 F-STATISTIC = 3.089 DF = 3, 58 PROB = 0.034

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN BAKTERI 2

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	0.111	1	0.111	0.006	0.939
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	28.444	1	28.444	0.186	0.667
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	20.250	1	20.250	0.270	0.606
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.006
 F-STATISTIC = 0.119 DF = 3, 58 PROB = 0.948

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN BAKTERI 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	0.000	1	0.000	0.000	1.000
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	2550.250	1	2550.250	16.718	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	981.778	1	981.778	13.069	0.001
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.363
 F-STATISTIC = 7.024 DF = 3, 58 PROB = 0.000

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 3 DAN BAKTERI 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	16.000	1	16.000	0.840	0.363
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	2352.250	1	2352.250	15.420	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	106.778	1	106.778	1.421	0.238
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.271
 F-STATISTIC = 5.240 DF = 3, 58 PROB = 0.003

Lampiran 4.**PERBADINGAN ANTAR RATIO****UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	113.028	2	56.514	2.968	0.059
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	5264.583	2	2632.292	17.256	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	7750.528	2	3875.264	51.584	0.000
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	1.784				
F-STATISTIC =	16.951	DF =	6, 114	PROB =	0.000

Lampiran 5**PERBADINGAN ANTAR RATIO 1 DAN RATIO 2****UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	1.021	1	1.021	0.054	0.818
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	875.521	1	875.521	5.739	0.020
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	468.750	1	468.750	6.240	0.015
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.142				
F-STATISTIC =	2.755	DF =	3, 58	PROB =	0.051

PERBADINGAN ANTAR RATIO 1 DAN RATIO 3**UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	93.521	1	93.521	4.912	0.030
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	5208.333	1	5208.333	34.142	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	7178.521	1	7178.521	95.554	0.000
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	1.649				
F-STATISTIC =	31.889	DF =	3, 58	PROB =	0.000

PERBANDINGAN ANTAR RATIO 2 DAN RATIO 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	75.000	1	75.000	3.939	0.052
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	1813.021	1	1813.021	11.885	0.001
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	3978.521	1	3978.521	52.959	0.000
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.885				
F-STATISTIC =	17.103	DF = 3,	58	PROB =	0.000

lampiran 6

INTERAKSI ANTARA BAKTERI DAN RATIO

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	138.528	5	27.706	1.455	0.218
ERROR	1142.333	60	19.039		
A3	9317.625	5	1863.525	12.216	0.000
ERROR	9152.833	60	152.547		
A6	9492.569	5	1898.514	25.271	0.000
ERROR	4507.500	60	75.125		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	2.521				
F-STATISTIC =	9.523	DF = 15,	170	PROB =	0.000

Lampiran 7 Uji Efek Iugas pengaruh faktor Ratio Terhadap Faktor Spesies

Bakteri.

PADA RATIO 1:10

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 2

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	1.333	1	1.333	0.063	0.805
ERROR	425.667	20	21.283		
A3	48.000	1	48.000	0.266	0.611
ERROR	3603.000	20	180.150		
A6	33.333	1	33.333	0.421	0.524
ERROR	1582.000	20	79.100		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.042				
F-STATISTIC =	0.254	DF = 3,	18	PROB =	0.857
TESIS	PENGARUH SPESIES BAKTERI DAN RATIO SPERMATOZOA...			SUKARJATI	

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	14.083	1	14.083	0.662	0.426
ERROR	425.667	20	21.283		
A3	6.750	1	6.750	0.037	0.848
ERROR	3603.000	20	180.150		
A6	96.333	1	96.333	1.218	0.283
ERROR	1582.000	20	79.100		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.243
 F-STATISTIC = 1.457 DF = 3, 18 PROB = 0.260

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	18.750	1	18.750	0.881	0.359
ERROR	425.667	20	21.283		
A3	1850.083	1	1850.083	10.270	0.004
ERROR	3603.000	20	180.150		
A6	867.000	1	867.000	10.961	0.003
ERROR	1582.000	20	79.100		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.073
 F-STATISTIC = 6.436 DF = 3, 18 PROB = 0.004

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	6.750	1	6.750	0.317	0.580
ERROR	425.667	20	21.283		
A3	90.750	1	90.750	0.504	0.486
ERROR	3603.000	20	180.150		
A6	16.333	1	16.333	0.206	0.654
ERROR	1582.000	20	79.100		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.136
 F-STATISTIC = 0.815 DF = 3, 18 PROB = 0.502

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	10.083	1	10.083	0.474	0.499
ERROR	425.667	20	21.283		
A3	1302.083	1	1302.083	7.228	0.014
ERROR	3603.000	20	180.150		
A6	560.333	1	560.333	7.084	0.015
ERROR	1582.000	20	79.100		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.696				
F-STATISTIC =	4.174	DF =	3, 18	PROB =	0.021

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 3 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	0.333	1	0.333	0.016	0.902
ERROR	425.667	20	21.283		
A3	2080.333	1	2080.333	11.548	0.003
ERROR	3603.000	20	180.150		
A6	385.333	1	385.333	4.871	0.039
ERROR	1582.000	20	79.100		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.692				
F-STATISTIC =	4.190	DF =	3, 18	PROB =	0.021

PADA RATIO 1: 1000

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 2

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	8.333	1	8.333	0.335	0.569
ERROR	498.167	20	24.908		
A3	12.000	1	12.000	0.067	0.799
ERROR	3606.833	20	180.342		
A6	0.750	1	0.750	0.008	0.931
ERROR	1949.667	20	97.483		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.027				
F-STATISTIC =	0.163	DF =	3, 18	PROB =	0.920

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	30.083	1	30.083	1.208	0.285
ERROR	498.167	20	24.908		
A3	96.333	1	96.333	0.534	0.473
ERROR	3606.833	20	180.342		
A6	481.333	1	481.333	4.938	0.038
ERROR	1949.667	20	97.463		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.452
 F-STATISTIC = 2.714 DF = 3, 18 PROB = 0.07

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	8.333	1	8.333	0.335	0.569
ERROR	498.167	20	24.908		
A3	2268.750	1	2268.750	12.580	0.002
ERROR	3606.833	20	180.342		
A6	990.083	1	990.083	10.156	0.005
ERROR	1949.667	20	97.463		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.799
 F-STATISTIC = 4.795 DF = 3, 18 PROB = 0.01

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	6.750	1	6.750	0.271	0.608
ERROR	498.167	20	24.908		
A3	176.333	1	176.333	0.978	0.335
ERROR	3606.833	20	180.342		
A6	520.083	1	520.083	5.335	0.032
ERROR	1949.667	20	97.463		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.353
 F-STATISTIC = 2.120 DF = 3, 18 PROB = 0.13

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	33.333	1	33.333	1.338	0.261
ERROR	498.167	20	24.908		
A3	2610.750	1	2610.750	14.477	0.001
ERROR	3606.833	20	180.342		
A6	1045.333	1	1045.333	10.723	0.004
ERROR	1949.667	20	97.483		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.942
 F-STATISTIC = 5.653 DF = 3, 18 PROB = 0.007

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 3 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	70.083	1	70.083	2.814	0.109
ERROR	498.167	20	24.908		
A3	1430.083	1	1430.083	7.930	0.011
ERROR	3606.833	20	180.342		
A6	90.750	1	90.750	0.931	0.346
ERROR	1949.667	20	97.483		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.698
 F-STATISTIC = 4.187 DF = 3, 18 PROB = 0.021

Lampiran 8 Uji Efek Iugas Pengaruh Faktor Spesies Bakteri Terhadap Faktor Ratio

BAC: 1 STAPH

----- O N E W A Y -----

Variable A0
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	86.1111	43.0556	1.6295	.2289
Within Groups	15	396.3333	26.4222		
Total	17	482.4444			

----- O N E W A Y -----

Variable A0
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 3.6347 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

- No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 1	Grp 2	Grp 3
Mean	87.5000	88.3333	92.5000

EAC: 1 STAPH

----- O N E W A Y -----

Variable A3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	823.0000	411.5000	2.4995	.1156
Within Groups	15	2469.5000	164.6333		
Total	17	3292.5000			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

EAC: 1 STAPH

----- O N E W A Y -----

Variable A6
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	1272.4444	636.2222	9.0330	.0027
Within Groups	15	1056.5000	70.4333		
Total	17	2328.9444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 5.9344 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	1	2	3.
25.8333	Grp 1			
33.1667	Grp 2			
46.1667	Grp 3	*	*	

BAC: 2 STREP

- - - - - O N E W A Y - - - - -

Variable A0
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	18.1111	9.0556	.6648	.5289
Within Groups	15	204.3333	13.6222		
Total	17	222.4444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 2.6098 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

- No two groups are significantly different at the .050 level

BAC: 2 STREP

- - - - - O N E W A Y - - - - -

Variable A3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	1075.4444	537.7222	3.9113	.0429
Within Groups	15	2062.1667	137.4778		
Total	17	3137.6111			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq 8,2909 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	1	2	3
45,8333	Grp 1			
61,3333	Grp 2	*		
63,0000	Grp 3	*	*	

BAC: 2 STREP

----- O N E W A Y -----

Variable A6
 By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
 Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	1452,1111	726,0556	8,7948	.0030
Within Groups	15	1238,3333	82,5556		
Total	17	2690,4444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq 6,4248 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triang

Mean	RATIO	1	2	3
22.5000	Grp 1			
33.6667	Grp 2			
44.5000	Grp 3	*	*	

BAC: 3 ENTERO

- - - - - O N E W A Y - - - - -

Variable A0
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	13.4444	6.7222	.4455	.6487
Within Groups	15	226.3333	15.0889		
Total	17	239.7778			

BAC: 3 ENTERO

- - - - - O N E W A Y - - - - -

Variable A3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	471.4444	235.7222	1.2220	.3224
Within Groups	15	2893.5000	192.9000		
Total	17	3364.9444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN}(J) - \text{MEAN}(I) \geq 9,8209 * \text{RANGE} * \text{SQRT}(1/N(I) + 1/N(J))$$

with the following value(s) for RANGE: 3.01

- No two groups are significantly different at the .050 level

BAC: 3 ENTERO

----- O N E W A Y -----

Variable A6
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	1394.1111	697.0556	8.9956	.0027
Within Groups	15	1162.3333	77.4889		
Total	17	2556.4444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq 6,2245 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	
20.1667	Grp 1	G G G
20.5000	Grp 2	r r r
39.0000	Grp 3	p p p
		1 2 3

BAC: 4 E.COLI

----- O N E W A Y -----

Variable A0
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	87.1111	43.5556	2.0719	.1605
Within Groups	15	315.3333	21.0222		
Total	17	402.4444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq 3,2421 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

- No two groups are significantly different at the .050 level

BAC: 4 E.COLI

----- O N E W A Y -----

Variable A3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F. Prob.
Between Groups	2	4878.1111	2439.0556	21.1764	.0000
Within Groups	15	1727.6667	115.1778		
Total	17	6605.7778			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 7,5887 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	1	2	3
25.0000	Grp 1			
31.8333	Grp 2			
62.8333	Grp 3	*	*	

BAC: 4 E.COLI

----- O N E W A Y -----

Variable A6
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F. Prob.
Between Groups	2	4625.4444	2312.7222	33.0284	.0000
Within Groups	15	1050.3333	70.0222		
Total	17	5675.7778			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 5.9170 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G
		r r r
		p p p
		1 2 3
Mean	RATIO	
8.8333	Grp 1	
15.0000	Grp 2	
45.5000	Grp 3	* *

Lampiran 9

UNIVARIATE AND MULTIVARIATE REPEATED MEASURES ANALYSIS
 BETWEEN SUBJECTS

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
BAC	5452.310	3	1817.437	27.665	0.000
RATIO	3960.028	2	1980.014	30.140	0.000
BAC*RATIO	2261.343	6	376.890	5.737	0.000
ERROR	3941.611	60	65.694		

WITHIN SUBJECTS

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
Jam	46055.444	2	23027.722	823.917	0.000
Jam*BAC	3274.370	6	545.728	19.526	0.000
Jam*RATIO	2311.444	4	577.861	20.676	0.000
Jam*BAC *RATIO	1219.519	12	101.627	3.636	0.000
ERROR	3353.869	120	27.949		

Lampiran 10

PERBANDINGAN ANTAR BAKTERI

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	6.375	3	2.125	0.321	0.810
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	2644.153	3	881.384	18.302	0.000
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	6076.153	3	2025.384	30.316	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	1.796				
F-STATISTIC =	11.307	DF =	9, 170	PROB =	0.000

Lampiran 11

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN BAKTERI 2

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	6.250	1	6.250	0.943	0.335
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	7.111	1	7.111	0.148	0.702
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	0.111	1	0.111	0.002	0.968
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.017				
F-STATISTIC =	0.333	DF =	3, 58	PROB =	0.201

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN BAKTERI 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	1.000	1	1.000	0.151	0.699
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	18.778	1	18.778	0.390	0.535
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	552.250	1	552.250	8.266	0.005
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.158				
F-STATISTIC =	3.055	DF =	3, 58	PROB =	0.035

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN BAKTERI 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	1.000	1	1.000	0.151	0.699
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	1950.694	1	1950.694	40.506	0.000
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	4578.778	1	4578.778	68.536	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.251
 F-STATISTIC = 24.277 DF = 3, 58 PROB = 0.000

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN BAKTERI 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	2.250	1	2.250	0.340	0.562
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	2.778	1	2.778	0.058	0.811
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	536.694	1	536.694	8.033	0.006
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.184
 F-STATISTIC = 3.553 DF = 3, 58 PROB = 0.020

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN BAKTERI 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	2.250	1	2.250	0.340	0.562
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	1722.250	1	1722.250	35.762	0.000
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	4533.778	1	4533.778	67.862	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.269
 F-STATISTIC = 24.539 DF = 3, 58 PROB = 0.000

PERBADINGAN ANTARA BAKTERI 3 DAN BAKTERI 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.000	1	0.000	0.000	1.000
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	1586.694	1	1586.694	32.947	0.000
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	1950.694	1	1950.694	29.198	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.706
 F-STATISTIC = 13.662 DF = 3, 58 PROB = 0.000

Lampiran 12

PERBADINGAN ANTAR RATIO

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	11.583	2	5.792	0.874	0.422
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	1549.528	2	774.764	16.088	0.000
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	4710.361	2	2355.181	35.253	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.283
 F-STATISTIC = 12.189 DF = 6, 114 PROB = 0.000

Lampiran 13

PERBADINGAN ANTAR RATIO 1 DAN RATIO 2

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	11.021	1	11.021	1.664	0.202
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	546.750	1	546.750	11.353	0.001
ERROR	2889.500	60	48.159		
AB6	507.000	1	507.000	7.589	0.008
ERROR	4008.500	60	66.803		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.214				
F-STATISTIC =	4.146	DF =	3, 58	PROB =	0.010

PERBADINGAN ANTAR RATIO 1 DAN RATIO 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	5.333	1	5.333	0.805	0.373
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	1530.021	1	1530.021	31.771	0.000
ERROR	2889.500	60	48.158		
AB6	4543.521	1	4543.521	68.008	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	1.174				
F-STATISTIC =	22.693	DF =	3, 58	PROB =	0.000

PERBADINGAN ANTAR RATIO 2 DAN RATIO 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	1.021	1	1.021	0.154	0.696
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	247.521	1	247.521	5.140	0.027
ERROR	2889.500	60	48.156		
AB6	2015.021	1	2015.021	30.161	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.536				
F-STATISTIC =	10.370	DF =	3, 58	PROB =	0.000

Lampiran-14**INTERAKSI ANTARA BAKTERI DAN RATIO****UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
ABO	17.958	5	3.592	0.542	0.744
ERROR	397.500	60	6.625		
AB3	4193.681	5	838.736	17.416	0.000
ERROR	2829.500	60	48.158		
AB6	10766.514	5	2157.303	32.291	0.000
ERROR	4008.500	60	66.808		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	3.079				
F-STATISTIC =	11.632	DF = 15, 170	PROB =	0.000	

Lampiran 15**Uji efek langsung pengaruh faktor spesies bakteri terhadap faktor ratio****PADA RATIO 1 : 10****PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 2****UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
ABO	2.083	1	2.083	0.241	0.629
ERROR	173.000	20	8.650		
AB3	0.083	1	0.083	0.001	0.976
ERROR	1826.333	20	91.317		
AB6	18.750	1	18.750	0.224	0.641
ERROR	1674.333	20	83.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.038				
F-STATISTIC =	0.227	DF = 3, 18	PROB =	0.877	

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	4.083	1	4.083	0.472	0.500
ERROR	173.000	20	8.650		
AB3	1.333	1	1.333	0.015	0.905
ERROR	1826.333	20	91.317		
AB6	320.333	1	320.333	3.826	0.065
ERROR	1674.333	20	83.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.398
 F-STATISTIC = 2.385 DF = 3, 18 PROB = 0.103

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.333	1	0.333	0.039	0.846
ERROR	173.000	20	8.650		
AB3	1610.083	1	1610.083	17.632	0.000
ERROR	1826.333	20	91.317		
AB6	3570.750	1	3570.750	42.653	0.000
ERROR	1674.333	20	83.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 2.346
 F-STATISTIC = 14.075 DF = 3, 18 PROB = 0.000

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.333	1	0.333	0.039	0.846
ERROR	173.000	20	8.650		
AB3	0.750	1	0.750	0.008	0.929
ERROR	1826.333	20	91.317		
AB6	184.083	1	184.083	2.199	0.154
ERROR	1674.333	20	83.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.207
 F-STATISTIC = 1.242 DF = 3, 18 PROB = 0.324

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.750	1	0.750	0.057	0.771
ERROR	173.000	20	8.650		
AB3	1587.000	1	1587.000	17.379	0.000
ERROR	1826.333	20	91.317		
AB6	3072.000	1	3072.000	36.695	0.000
ERROR	1674.333	20	83.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.934
 F-STATISTIC = 11.606 DF = 3, 18 PROB = 0.000

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 3 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	2.083	1	2.083	0.241	0.629
ERROR	173.000	20	8.650		
AB3	1518.750	1	1518.750	16.632	0.001
ERROR	1826.333	20	91.317		
AB6	1752.083	1	1752.083	20.929	0.000
ERROR	1674.333	20	83.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.168
 F-STATISTIC = 7.009 DF = 3, 18 PROB = 0.003

PADA RATIO 1 : 1000.**PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 2****UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.750	1	0.750	0.150	0.703
ERROR	100.167	20	5.008		
AB3	0.000	1	0.000	0.000	1.000
ERROR	518.333	20	25.917		
AB6	4.083	1	4.083	0.046	0.833
ERROR	1794.333	20	89.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.015				
F-STATISTIC =	0.091	DF =	3, 18	PROB =	0.964

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 3**UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.333	1	0.333	0.067	0.799
ERROR	100.167	20	5.008		
AB3	10.083	1	10.083	0.389	0.540
ERROR	518.333	20	25.917		
AB6	200.083	1	200.083	2.230	0.151
ERROR	1794.333	20	89.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.134				
F-STATISTIC =	0.803	DF =	3, 18	PROB =	0.508

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 1 DAN 4**UNIVARIATE F TESTS**

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.333	1	0.333	0.067	0.799
ERROR	100.167	20	5.008		
AB3	1026.750	1	1026.750	39.617	0.000
ERROR	518.333	20	25.917		
AB6	2821.333	1	2821.333	31.447	0.000
ERROR	1794.333	20	89.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	2.568				
F-STATISTIC =	15.408	DF =	3, 18	PROB =	0.000

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
ABC	0.083	1	0.083	0.017	0.899
ERROR	100.167	20	5.008		
AB3	10.083	1	10.083	0.389	0.540
ERROR	518.333	20	25.917		
AB6	147.000	1	147.000	1.638	0.215
ERROR	1794.333	20	89.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.084				
F-STATISTIC =	0.505	DF =	3, 18	PROB =	0.684

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 2 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
ABC	0.083	1	0.083	0.017	0.899
ERROR	100.167	20	5.008		
AB3	1026.750	1	1026.750	39.617	0.000
ERROR	518.333	20	25.917		
AB6	2610.750	1	2610.750	29.100	0.000
ERROR	1794.333	20	89.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	2.479				
F-STATISTIC =	14.872	DF =	3, 18	PROB =	0.000

PERBANDINGAN ANTARA BAKTERI 3 DAN 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
ABC	0.000	1	0.000	0.000	1.000
ERROR	100.167	20	5.008		
AB3	833.333	1	833.333	32.154	0.000
ERROR	518.333	20	25.917		
AB6	1518.750	1	1518.750	16.928	0.001
ERROR	1794.333	20	89.717		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	1.815				
F-STATISTIC =	10.890	DF =	3, 18	PROB =	0.000

piran 16 Uji Efek Lugas Pengaruh Spesies Bakteri Terhadap Faktor Ratio

BAC: 1 STAPH

----- O N E W A Y -----

Variable ABO
By Variable RATIO

RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	22.3333	11,1667	1.1659	.3383
Within Groups	15	143,6667	9,5778		
Total	17	166.0000			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 2,1884 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

- No two groups are significantly different at the .050 level

BAC: 1 STAPH

----- O N E W A Y -----

Variable AB3
By Variable RATIO

RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	168.7778	84,3889	2.9324	.0842
Within Groups	15	431,6667	28,7778		
Total	17	600.4444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 3,7933 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

G G G
 r r r
 p p p
 1 2 3

Mean	RATIO
74,1667	Grp 1
80,0000	Grp 2
61.1667	Grp 3

BAC: 1 STAPH

----- ONEWAY -----

Variable AB6
 By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
 Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	225.7778	112.8889	4.7234	.0256
Within Groups	15	358,5000	23,9000		
Total	17	584.2778			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 3,4569 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

G G G
 r r r
 p p p
 1 2 3

Mean	RATIO
62,1667	Grp 1
66,8333	Grp 2
70,8333	Grp 3

*

BAC: 2 STREP

- - - - - O N E W A Y - - - - -

Variable ABO
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	7,0000	3,5000	.5615	.5819
Within Groups	15	93,5000	6,2333		
Total	17	100,5000			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 1,7654 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3,01

- No two groups are significantly different at the ,050 level

BAC: 2 STREP

- - - - - O N E W A Y - - - - -

Variable AB3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	119,1111	59,5556	.8546	.4452
Within Groups	15	1045,3333	69,6889		
Total	17	1164,4444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 5,9029 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3,01

- No two groups are significantly different at the ,050 level

BAC: 2 STREP

----- ONEWAY -----

Variable ABO
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	637.0000	318.5000	11.3886	.0010
Within Groups	15	419.5000	27.9667		
Total	17	1056.5000			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq 3,7394 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3,01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	1	2	3
59,6667	Grp 1			
65,6667	Grp 2			
74,1667	Grp 3	*	*	

BAC: 3 ENTERO

----- ONEWAY -----

Variable ABO
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	1.3333	,6667	.1304	.8787
Within Groups	15	76.6667	5,1111		
Total	17	78.0000			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

BAC: 3 ENTERO

----- O N E W A Y -----

Variable AB3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	114.3333	57.1667	1.0777	.3653
Within Groups	15	795.6667	53.0444		
Total	17	910.0000			

BAC: 3 ENTERO

----- O N E W A Y -----

Variable AB6
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	588.1111	294.0556	6.4204	.0097
Within Groups	15	687.0000	45.8000		
Total	17	1275.1111			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 4,7854 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	
51.8333	Grp 1	G G G
58.6667	Grp 2	r r r
65.8333	Grp 3	p p p
		1 2 3
		*

BAC: 4 E.COLI

----- O N E W A Y -----

Variable ABO
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	6.3333	3.1667	.5677	.5785
Within Groups	15	83.6667	5.5778		
Total	17	90.0000			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

EAC: 4 E.COLI

----- O N E W A Y -----

Variable AB3
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA
Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	2340.7778	1170.3889	28.4612	.0000
Within Groups	15	616.8333	41.1222		
Total	17	2957.6111			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq 4.5344 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	1	2	3
51.0000	Grp 1			
61.5000	Grp 2	*		
78.6667	Grp 3	**	*	

BAC: 4 E.COLI

----- O N E W A Y -----

Variable AB6
By Variable RATIO RATIO BAKTERI DAN SPERMA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	5521,4444	2760,7222	16,2810	,0002
Within Groups	15	2543,5000	169,5667		
Total	17	8064,9444			

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 9.2078 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.01

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	RATIO	1	2	3
27,6667	Grp 1			
36,1667	Grp 2			
68,3333	Grp 3	*	*	

Lampiran 17 Perbandingan antara 1:10 dan 1:10 +Ab Pada *S. epidermidis*

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	0.000	1	0.000	0.000	1.000
ERROR	491.000	10	49.100		
A3	616.333	1	616.333	4.317	0.064
ERROR	1427.667	10	142.767		
A6	27.000	1	27.000	0.364	0.560
ERROR	741.667	10	74.167		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	0.930				
F-STATISTIC =	2.481	DF =	3,	8	PROB = 0.138

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	2.083	1	2.083	0.140	0.716
ERROR	148.833	10	14.883		
AB3	96.333	1	96.333	4.551	0.059
ERROR	211.667	10	21.167		
AB6	243.000	1	243.000	9.431	0.012
ERROR	257.667	10	25.767		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE =	1.125				
F-STATISTIC =	3.001	DF =	3,	8	PROB = 0.098

ampiran 18 . Perbandingan antara 1:10 dan 1:10 +Ab Pada *S. faecalis*

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	27.000	1	27.000	1.176	0.304
ERROR	229.667	10	22.967		
A3	432.000	1	432.000	1.840	0.205
ERROR	2347.667	10	234.767		
A6	75.000	1	75.000	1.553	0.241
ERROR	483.000	10	48.300		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.306
 F-STATISTIC = 0.815 DF = 3, 8 PROB = 0.521

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	6.750	1	6.750	1.246	0.290
ERROR	54.167	10	5.417		
AB3	8.333	1	8.333	0.066	0.802
ERROR	1255.333	10	125.533		
AB6	108.000	1	108.000	1.564	0.240
ERROR	690.667	10	69.067		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.515
 F-STATISTIC = 1.374 DF = 3, 8 PROB = 0.319

Lampiran 19 Perbandingan antara 1:10 dan 1:10 +Ab Pada *E. aerogenes*

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	60.750	1	60.750	3.263	0.101
ERROR	186.167	10	18.617		
A3	126.750	1	126.750	0.686	0.427
ERROR	1848.167	10	184.817		
A6	432.000	1	432.000	4.392	0.063
ERROR	983.667	10	98.367		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.428
 F-STATISTIC = 3.807 DF = 3, 8 PROB = 0.058

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	27.000	1	27.000	8.804	0.014
ERROR	30.667	10	3.067		
AB3	184.083	1	184.083	2.413	0.151
ERROR	762.833	10	76.283		
AB6	140.083	1	140.083	1.882	0.200
ERROR	744.167	10	74.417		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 3.977
 F-STATISTIC = 12.604 DF = 3, 8 PROB = 0.004

Lampiran 20 Perbandingan antara 1:10 dan 1:10 +Ab Pada *E. coli*

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	56.333	1	56.333	1.432	0.259
ERROR	393.333	10	39.333		
A3	234.083	1	234.083	1.423	0.260
ERROR	1644.833	10	164.483		
A6	140.083	1	140.083	1.522	0.245
ERROR	920.167	10	92.017		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.267
 F-STATISTIC = 0.766 DF = 3, 8 PROB = 0.544

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	1.333	1	1.333	0.214	0.654
ERROR	62.333	10	6.233		
AB3	154.083	1	154.083	1.017	0.337
ERROR	1514.833	10	151.483		
AB6	126.750	1	126.750	0.562	0.471
ERROR	2256.167	10	225.617		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.119
 F-STATISTIC = 0.318 DF = 3, 8 PROB = 0.812

Lampiran 21 Perbandingan antara ratio 1:1000 dan 1:1000 +Ab pada *S. epidermidis*

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	1.333	1	1.333	0.029	0.867
ERROR	453.333	10	45.333		
A3	140.083	1	140.083	1.011	0.338
ERROR	1386.167	10	138.617		
A6	14.083	1	14.083	0.160	0.698
ERROR	882.167	10	88.217		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.130
 F-STATISTIC = 0.347 DF = 3, 8 PROB = 0.793

UNIVARIATE F STATISTICS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	0.750	1	0.750	0.107	0.750
ERROR	70.167	10	7.017		
AB3	12.000	1	12.000	0.387	0.548
ERROR	310.000	10	31.000		
AB6	133.333	1	133.333	6.051	0.034
ERROR	220.333	10	22.033		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.887
 F-STATISTIC = 2.365 DF = 3, 8 PROB = 0.14

**Lampiran 22 . Perbandingan antara ratio 1:1000 dan 1:1000 +Ab pada
*S. faecalis***

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	1.333	1	1.333	0.068	0.799
ERROR	195.333	10	19.533		
A3	48.000	1	48.000	0.533	0.482
ERROR	900.667	10	90.067		
A6	6.750	1	6.750	0.057	0.816
ERROR	1176.167	10	117.617		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.084
 F-STATISTIC = 0.224 DF = 3, 8 PROB = 0.877

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	4.083	1	4.083	1.324	0.277
ERROR	30.833	10	3.083		
AB3	6.750	1	6.750	0.138	0.718
ERROR	489.500	10	48.950		
AB6	48.000	1	48.000	1.288	0.283
ERROR	372.667	10	37.267		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.784
 F-STATISTIC = 2.090 DF = 3, 8 PROB = 0.18

Lampiran 23 Perbandingan ratio 1 :1000 dan 1:1000 +Ab pada *E. aerogenes*

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	33.333	1	33.333	1.848	0.204
ERROR	180.333	10	18.033		
A3	126.750	1	126.750	0.553	0.474
ERROR	2290.167	10	229.017		
A6	320.333	1	320.333	5.482	0.041
ERROR	584.333	10	58.433		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 1.131
 F-STATISTIC = 3.017 DF = 3, 8 PROB = 0.094

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	1.333	1	1.333	0.217	0.651
ERROR	61.333	10	6.133		
AB3	36.750	1	36.750	2.781	0.126
ERROR	132.167	10	13.217		
AB6	161.333	1	161.333	4.165	0.069
ERROR	387.333	10	38.733		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.703
 F-STATISTIC = 1.874 DF = 3, 8 PROB = 0.21

**Lampiran 24 . Perbandingan antara ratio 1:1000 dan 1:1000 +Ab pada
*E. coli***

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	0.750	1	0.750	0.020	0.892
ERROR	384.167	10	38.417		
A3	168.750	1	168.750	2.104	0.178
ERROR	802.167	10	80.217		
A6	3.000	1	3.000	0.059	0.814
ERROR	512.000	10	51.200		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.237
 F-STATISTIC = 0.631 DF = 3, 8 PROB = 0.615

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	3.000	1	3.000	0.652	0.438
ERROR	46.000	10	4.600		
A3	0.333	1	0.333	0.006	0.938
ERROR	522.333	10	52.233		
A6	24.083	1	24.083	0.137	0.719
ERROR	1760.833	10	176.083		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.100
 F-STATISTIC = 0.266 DF = 3, 8 PROB = 0.841

Lampiran 25 Perbandingan antara Kontrol dan kontrol +Ab.

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
A0	16.333	1	16.333	0.856	0.360
ERROR	877.583	46	19.078		
A3	216.750	1	216.750	1.979	0.166
ERROR	5039.167	46	109.547		
A6	540.021	1	540.021	7.147	0.010
ERROR	3475.792	46	75.561		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.182
 F-STATISTIC = 2.672 DF = 3, 44 PROB = 0.059

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
AB0	1.333	1	1.333	0.182	0.671
ERROR	336.333	46	7.312		
AB3	0.333	1	0.333	0.015	0.903
ERROR	1024.917	46	22.281		
AB6	36.750	1	36.750	0.989	0.325
ERROR	1708.917	46	37.150		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 0.023
 F-STATISTIC = 0.338 DF = 3, 44 PROB = 0.798

Lampiran 26

t-tests for independent samples of H2 BAKERI 4 + / - ATB

Variable	Number of Cases	Mean	SD	SE of Mean
AGL3				
TANPA ATB	12	16,4167	9,199	2,656
DENGAN ATB	12	14,0000	8,821	2,547

Mean Difference = 2,4167

Levene's Test for Equality of Variances: F= ,043 P= ,838

t-test for Equality of Means					95%
Variances	t-value	df	2-Tail Sig	SE of Diff	CI for Diff
Equal	,66	22	,518	3,679	(-5,216; 10,049)
Unequal	,66	21,96	,518	3,679	(-5,216; 10,049)

Variable	Number of Cases	Mean	SD	SE of Mean
AGL6				
TANPA ATB	12	41,5000	14,177	4,093
DENGAN ATB	12	38,4167	17,085	4,932

Mean Difference = 3,0833

Levene's Test for Equality of Variances: F= 1,054 P= ,316

t-test for Equality of Means					95%
Variances	t-value	df	2-Tail Sig	SE of Diff	CI for Diff
Equal	,48	22	,635	6,409	(-10,211; 16,378)
Unequal	,48	21,28	,635	6,409	(-10,248; 16,415)

