

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan sampel data yang berasal dari pasien infertilitas di Klinik Permata Hati yang melakukan pemeriksaan SPERST pada tahun 2005-2007 yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Dari kriteria-kriteria tersebut, didapatkan hasil 209 data pasien dengan data kelompok seperti tabel di bawah ini.

##### 1. Karakteristik Pasien

Tabel 5. Karakteristik Pasien

Karakteristik Pasien	Frekuensi	Prosentase
<b>1. Angka Leukosit</b>		
a. < 500.000/mL	187	89.47 %
b. > 500.000/mL	22	10.53%
<b>TOTAL</b>	<b>209</b>	<b>100%</b>
<b>2. Konsentrasi Awal Sperma</b>		
a. ≤ 20 juta/mL	13	6.22 %
b. 21-60 juta/mL	112	53.59%
c. 61-100 juta/mL	63	30.14%
d. > 100 juta/mL	21	10.05%
<b>TOTAL</b>	<b>209</b>	<b>100%</b>
<b>3. Konsentrasi Panen Sperma</b>		
a. < 5 juta/mL	8	3.82 %
b. 5-20 juta/mL	170	81.33%
c. 21-40 juta/mL	28	13.39%
d. > 40 juta/mL	3	1.43%
<b>TOTAL</b>	<b>209</b>	<b>100%</b>

Sumber : Data Sekunder 2005-2007

Jumlah leukosit normal menurut Buku Panduan Analisis Sperma dari WHO adalah  $\leq 1$  juta/mL (WHO, 1992). Sedangkan pada prakteknya, di

klirik apabila hasil pemeriksaan pasien didapati nilai Angka Leukositnya mencapai  $> 500.000/\text{mL}$ , diharapkan untuk melakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk mengetahui ada tidaknya infeksi laten karena dengan Angka Leukosit  $> 500.000/\text{mL}$  dapat merupakan suspek adanya infeksi. Oleh karena itu disarankan untuk menjalani pemeriksaan lebih lanjut untuk mengetahui sumber infeksi. Berdasarkan tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa hasil pemeriksaan Angka Leukosit pasien, sebanyak 187 pasien (89,47%) memiliki angka leukosit  $< 500.000/\text{mL}$  yang merupakan indikasi normal dan sebanyak 22 pasien (10,53%) memiliki angka leukosit  $> 500.000/\text{mL}$  yang akan disarankan melakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk mengetahui ada tidaknya infeksi.

Konsentrasi awal sperma merupakan jumlah sperma awal yang belum menerima perlakuan apapun yang siap untuk dilakukan pemeriksaan SPERST 24 Jam dan SPERST 48 Jam setelah terlebih dahulu dilakukan pencucian sperma (*sperm washed*). Berdasarkan tabel di atas, dapat diambil kesimpulan bahwa sebanyak 13 orang pasien (6.22%) datang dengan konsentrasi awal sebanyak  $\leq 20$  juta/mL, 112 pasien (53.59%) dengan konsentrasi awal sebanyak 21-60 juta/mL, 63 pasien (30.14%) dengan konsentrasi awal sebanyak 61-100 juta/mL, dan 21 pasien (10.05%) datang dengan konsentrasi awal sebanyak  $> 100$  juta/mL.

Konsentrasi Panen Sperma merupakan konsentrasi akhir dari sperma setelah dilakukan pemeriksaan SPERST selama 48 jam. Dari tabel di atas,

dapat disimpulkan bahwa sebanyak 170 pasien (81.33%) memiliki konsentrasi panen sperma sebesar 5-20 juta/mL, 28 pasien (13.39%) memiliki konsentrasi panen sperma sebesar 21-40 juta/mL, 8 pasien (3.82%) memiliki konsentrasi sperma sebesar < 5 juta/mL, dan sebanyak 3 orang pasien (1.43%) memiliki konsentrasi panen sperma sebesar > 40 juta/mL.

## 2. Hasil Penelitian

### a. Hubungan antara Motilitas Awal (A+B) dan SPERST

#### 1) Hubungan Antara Motilitas Awal (A+B) dan SPERST 24 Jam

Tabel 6. Hubungan Antara Motilitas Awal (A+B) dan SPERST 24 Jam

		SPERST 24 Jam		OR	p Value
		Normal	Tidak Normal		
Motilitas Awal (A+B)	Normal	110 (94%)	7 (6%)	1.704	0.305
	Tidak Normal	83 (90.2%)	9 (9.8%)		
TOTAL					209

Sumber data sekunder 2005-2007

Berdasarkan motilitasnya, sperma dapat diklasifikasikan menjadi 4 kategori, yaitu grade A, B, C, dan D. Pada penelitian ini yang akan dilihat adalah motilitas awal A+B. Motilitas awal A+B dikatakan normal apabila memiliki nilai > 50%. Sedangkan pemeriksaan SPERST 24 jam memiliki *cut-off point* > 50%, sehingga hasil SPERST 24 jam dapat dikatakan normal apabila nilainya > 50%.

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa sebanyak 94% sampel memiliki sperma dengan motilitas awal yang normal dan hasil akhir SPERST 24 jam

yang normal. 90,2% sampel memiliki motilitas awal yang tidak normal namun hasil akhir SPERST 24 Jam normal. 6% memiliki motilitas awal yang normal tetapi hasil SPERST 24 Jam-nya tidak normal. Dan 9,8% sampel memiliki motilitas awal dan hasil SPERST 24 Jam yang tidak normal.

Sedangkan dari perhitungan, didapatkan nilai OR 1,704. Dari nilai OR tersebut, dapat dilihat bahwa pada motilitas awal (A+B) yang  $> 50\%$  memiliki nilai SPERST 24 Jam 1 kali lebih baik daripada dengan motilitas awal (A+B) yang  $< 50\%$ , namun berdasarkan uji analisis dengan menggunakan metode chi-square didapatkan nilai P adalah 0,305 yang berarti lebih besar dari nilai signifikansi (P) yaitu 0,05 yang menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara angka motilitas awal (A+B) dengan nilai SPERST 24 Jam.

## 2) Hubungan Antara Motilitas Awal (A+B) dan SPERST 48 Jam

Tabel 7. Hubungan Antara Motilitas Awal (A+B) dan SPERST 48 Jam

		SPERST 48 Jam		OR	p Value
		Normal	Tidak Normal		
Motilitas Awal (A+B)	Normal	6 (5.2%)	111 (94.8%)	0.498	0.196
	Tidak Normal	9 (9.78%)	83 (90.22%)		
TOTAL					209

Sumber data sekunder 2005-2007

SPERST 48 Jam memiliki *cut off point* yang berbeda dibandingkan SPERST 24 Jam. Untuk SPERST 48 Jam, dikatakan normal apabila memiliki nilai  $> 25\%$ .

Dari tabel di atas, dapat diketahui bahwa sebanyak 5,2% pasien memiliki motilitas awal (A+B) dan hasil SPERST 48 Jam yang normal. Sebanyak 94,8% pasien memiliki motilitas awal (A+B) yang normal tetapi hasil SPERST 48 Jam yang didapatkan adalah  $< 25\%$  atau tidak normal. Sebanyak 9,78 pasien memiliki motilitas awal (A+B) yang tidak normal tetapi angka SPERST 48 Jam yang didapatkan adalah normal. Dan sebanyak 90,22% memiliki motilitas awal (A+B) dan nilai SPERST 48 Jam yang tidak normal.

Berdasarkan uji analisis dengan menggunakan metode chi-square didapatkan nilai P adalah 0,196 yang berarti lebih besar dari nilai signifikansi (P) yaitu 0,05 yang menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara angka motilitas awal (A+B) dengan nilai SPERST 48 Jam.

Dan dari perhitungan didapatkan bahwa nilai OR-nya adalah 0,498 yang berarti pada pemeriksaan SPERST 48 Jam, baik pasien dengan motilitas (A+B) yang normal dan tidak normal memiliki kemungkinan yang hampir sama untuk dapat memperoleh hasil SPERST 48 Jam yang normal atau tidak normal.

### 3) Hubungan Antara Motilitas Awal (A+B) dan Penurunan SPERST

Tabel 8. Hubungan Antara Motilitas Awal (A+B) dan Penurunan SPERST

		Penurunan SPERST		OR	p Value
		Bagus	Tidak Bagus		
Motilitas Awal (A+B)	Normal	70 (59.83%)	47 (40.17%)	1.853	0.028
	Tidak Normal	41 (44.57%)	51 (55.43%)		
TOTAL					209

Sumber data sekunder 2005-2007

Penurunan SPERST merupakan nilai yang didapatkan dari selisih angka hasil pemeriksaan SPERST 48 Jam dan 24 Jam. Pada penelitian ini, *cut off point* yang digunakan dalam mengelompokkan apakah hasil penurunan SPERST tersebut dikatakan bagus atau tidak adalah 50%. Jadi penurunan SPERST dikatakan tidak bagus jika > 50%. *Cut off point* 50% tersebut diambil oleh karena pada nilai normal untuk pemeriksaan SPERST 24 Jam ke 48 Jam, *cut off point*-nya berkurang sampai 50%-nya.

Dari tabel di atas, dapat diketahui bahwa sebanyak 59,83% pasien dengan motilitas awal (A+B) dan hasil penurunan SPERST yang normal. Sebanyak 40,17% pasien memiliki motilitas awal (A+B) yang normal tetapi hasil penurunan SPERST yang tidak normal. Sebanyak 44,57% pasien memiliki motilitas awal (A+B) yang tidak normal namun memiliki angka penurunan SPERST yang normal. Dan sebanyak 55,43% pasien memiliki motilitas awal (A+B) dan hasil penurunan SPERST yang tidak normal.

Berdasarkan dari uji analisis dengan menggunakan metode chi-square didapatkan nilai P adalah 0,028 yang berarti lebih kecil dari nilai signifikansi (P) yaitu 0,05 yang menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara angka motilitas awal (A+B) dengan nilai penurunan SPERST.

Dari tabel di atas juga dapat diketahui perhitungan OR didapatkan hasil 1,853 yang berarti pasien dengan motilitas awal (A+B) yang normal memiliki kemungkinan hampir 2 kali lebih besar untuk mendapatkan angka penurunan SPERST yang bagus.

#### b. Hubungan Antara MAR Test dan SPERST

##### 1) Hubungan Antara MAR Test dan SPERST 24 Jam

**Tabel 9. Hubungan Antara MAR Test dan SPERST 24 Jam**

		SPERST 24 Jam		OR	p Value
		Normal	Tidak Normal		
MAR Test	Positif	119 (93.7%)	8 (6.3%)	0.622	0.359
	Negatif	74 (90.2%)	8 (9.8%)		
TOTAL					209

Sumber data sekunder 2005-2007

*Mixed Antiglobulin Reaction Test* merupakan tes terhadap adanya antibodi antisperma yang mungkin didapatkan pada semen. Adanya antibodi antisperma tersebut dapat mengganggu fungsi fertiltias pria oleh karena antibodi tersebut dapat menghambat gerak sperma. Berdasarkan buku panduan analisis sperma dari WHO, MAR dikatakan positif apabila

memiliki nilai  $> 10\%$ . Namun pada prakteknya, nilai  $> 10\%$  baru dianggap positif dan MAR baru bernilai positif apabila didapatkan nilai  $> 30\%$ . Tetapi jarang sekali didapatkan pasien dengan nilai MAR Test yang  $> 30\%$ . Sehingga pada penelitian kali ini *cut off point* yang digunakan sebagai klasifikasi positif adalah yang bernilai  $> 10\%$  sesuai dengan panduan WHO. Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa sebanyak 93,7% memiliki MAR Test positif dan hasil analisis SPERST 24 Jam yang normal. Sebanyak 6,3% memiliki MAR Test yang positif dan hasil analisis SPERST 24 Jam yang tidak normal. Sebanyak 90,2% pasien memiliki nilai MAR Test yang negatif dan angka SPERST yang normal serta sebanyak 9,8% pasien memiliki nilai MAR Test yang negatif dengan hasil analisis SPERST 24 Jam yang tidak normal.

Berdasarkan uji analisis dengan menggunakan metode chi-square didapatkan nilai P adalah 0,359 yang berarti lebih besar dari nilai signifikansi (P) yaitu 0,05 yang menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara MAR Test dengan nilai SPERST 24 Jam.

Dari tabel di atas juga dapat dilihat nilai OR dari penghitungan didapatkan hasil yaitu 0,622 yang artinya tidak ada perbedaan yang signifikan antara MAR Test yang positif dan negatif untuk dapat mendapatkan hasil SPERST 24 Jam yang normal.



## 2) Hubungan Antara MAR Test dan SPERST 48 Jam

**Tabel 10. Hubungan Antara MAR Test dan SPERST 48 Jam**

		SPERST 48 Jam		OR	p Value
		Normal	Tidak Normal		
MAR Test	Positif	2 (2.5%)	80 (89.8%)	0.219	0.033
	Negatif	13 (10.2%)	114 (97.5%)		
TOTAL					209

Sumber data sekunder 2005-2007

Berdasarkan uji analisis dengan menggunakan metode chi-square didapatkan nilai P adalah 0,033 yang berarti lebih kecil dari nilai signifikansi (P) yaitu 0,05 yang menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara hasil MAR Test dengan nilai SPERST 48 Jam (Tabel 10) Didapatkan nilai OR 0,219 yang artinya, pasien dengan nilai MAR Test positif memiliki kemungkinan 0,219 kali lebih besar untuk mendapatkan hasil analisis SPERST 48 Jam yang normal dibandingkan dengan MAR test negatif.

### B. Pembahasan

Pada penelitian ini, peneliti ingin mengetahui hubungan antara motilitas awal sperma dan angka ketahanan hidup sperma (SPERST), hubungan antara antibodi antisperma (MAR Test) dan angka ketahanan hidup sperma (SPERST), serta motilitas awal sperma dan penurunan SPERST. Data sampel sperma yang digunakan dipilih dari data pasien yang melakukan pemeriksaan sperma sepanjang tahun 2005-2007.

Dalam rentang waktu Januari 2005 sampai dengan Desember 2007, terdapat 209 pasien yang melakukan pemeriksaan analisis sperma. Pasien-pasien tersebut dipilih setelah disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi berupa pasien yang melakukan pemeriksaan SPERST, dengan konsentrasi awal sperma normal, morfologi normal, dan angka leukosit normal. Sedangkan pada kriteria eksklusi meliputi pasien dengan konsentrasi awal yang abnormal, pasien dengan angka leukosit  $> 1$  juta/mL, terdapat abnormalitas pada morfologi spermanya, serta pasien yang tidak melakukan pemeriksaan SPERST.

Pemeriksaan terhadap motilitas dan antibodi anisperma dilakukan pada preparat sperma yang telah dicuci. Untuk menilai motilitas sperma, tidak dibutuhkan reagen tambahan agar dapat dilihat perbedaannya. Secara mikroskopis, dapat dinilai dengan mudah bagaimana pergerakan sperma untuk dapat menghitung jumlah sperma yang motil dan tidak motil. Sedangkan untuk pemeriksaan antibodi antisperma, dibutuhkan reagen tambahan berupa *immunobead* yang nantinya akan mengikat sperma apabila pada sperma apabila terbukti didapatkan antibodi antisperma (WHO, 1992).

Motilitas sperma merupakan penilaian terhadap gerakan sperma. Secara teoritis, semakin banyak jumlah sperma dengan motilitas kategori A dan B, maka akan semakin bagus kemungkinan untuk terjadi fertilisasi. Sperma matang awalnya tidak memiliki kemampuan dalam hal motilitas. Seiring dengan perjalanannya menuju epididimis, sperma mengembangkan kemampuan untuk

bergerak dan mencapai puncaknya saat ejakulasi (Hafez ESE, 2005). Energi untuk pergerakan sperma itu sendiri diproduksi oleh mitokondria yang terletak di bagian leher sperma. Mitokondria tersebut menghasilkan ATP yang akan digunakan oleh sperma sepanjang perjalanannya menuju ke ovum (Guyton, 2003). ATP tersebut diperlukan untuk dapat menggerakkan ekor sperma sehingga sperma dapat berenang mencapai sarannya (Anonim, 2009). ATP yang dihasilkan sebagai energi oleh mitokondria tersebut didapatkan melalui proses glikolisis dalam sitoplasma (Ford and Rees, 1990) atau melalui fosforilasi oksidatif di mitokondria (Mahadevan et al, 1997). ATP yang dihasilkan di dalam mitokondria melalui proses fosforilasi oksidatif dialirkan melalui mikrotubulus untuk mendukung motilitas sperma. Oleh karena itu, penurunan motilitas sperma dapat diakibatkan juga oleh karena adanya kerusakan pada mitokondria. Selain itu motilitas sperma juga dipengaruhi oleh kondisi genetik, mitokondria, dan nutrisi yang diperoleh oleh sperma. Angka leukosit juga diperkirakan mempengaruhi motilitas sperma. Tingginya angka leukosit menunjukkan terjadinya proses infeksi. Kriteria leukospermia menurut WHO adalah apabila terdapat  $> 1$  juta/mL. Namun dalam praktek klinisnya, apabila angka leukosit  $> 500.000/mL$  maka disarankan untuk melakukan pemeriksaan. Dalam karakteristik sampel pada penelitian ini, didapatkan beberapa pasien dengan angka leukosit yang mencapai  $> 500.000/mL$ . Namun tidak diketahui apakah benar pasien mengalami infeksi yang menyebabkan leukositosis. Apabila benar, sulit juga diketahui apakah infeksi yang terjadi merupakan infeksi akut atau kronis.

Dari hasil analisis, didapatkan hubungan antara motilitas awal (A+B) dan SPERST 24 Jam memiliki P value 0,305 dan dengan SPERST 48 Jam memiliki P value 0,196 yang artinya tidak terdapat hubungan antara motilitas awal (A+B) dan nilai SPERST. Sedangkan antara motilitas awal (A+B) dan penurunan nilai SPERST didapatkan P value 0,028 yang menyatakan terdapat hubungan antara motilitas awal (A+B) dan penurunan nilai SPERST. Sehingga dapat disimpulkan apabila motilitas awal (A+B) jelek maka penurunan nilai SPERST juga akan  $< 50\%$  dan akhirnya akan mempengaruhi nilai akhir pemeriksaan SPERST 48 Jam juga. Dalam keadaan seperti itu, aplikasi klinisnya adalah sampel sperma tersebut kemungkinan tidak dapat berhasil melakukan fertilisasi secara normal sehingga pasien tersebut harus melakukan prosedur IVF, ICSI, atau ART untuk dapat mencapai konsepsi.

Selain itu, alasan mengapa hasil yang didapatkan tidak signifikan diperkirakan karena media yang digunakan. Pada lingkungan yang tepat, sperma dapat bertahan sampai kurang lebih 2-3 hari. Pada pemeriksaan SPERST media yang digunakan merupakan media *Vitralife Scandinavia*. Pada media tersebut, dalam 24 jam pertama diperkirakan masih dapat mengakomodasi sperma, menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh sperma dan mitokondria untuk dapat menghasilkan energi. Tetapi lebih dari 24 jam diperkirakan bahan yang dibutuhkan untuk dapat mengakomodasi sperma agar tetap motil telah habis sehingga motilitas sperma akan semakin berkurang. Motilitas sperma sangat dipengaruhi oleh perubahan lingkungan (misalnya suhu yang terlalu dingin atau

terlalu panas). Oleh karena itu apabila hendak dilakukan pemeriksaan terhadap sperma, sebaiknya sampel dijaga dengan baik agar tidak terkena agen dari luar atau terpengaruh suhu lingkungan.

*Cut off point* yang digunakan sebagai dasar untuk menentukan normal atau tidaknya suatu sperma kemungkinan juga dapat menyebabkan timbulnya hasil yang tidak signifikan. Pada penelitian ini nilai ambang batas yang digunakan merupakan nilai normal yang ditentukan oleh WHO. Pada pemeriksaan SPERST 24 Jam normalnya adalah  $> 50\%$  dan pada SPERST 48 Jam adalah  $> 25\%$ . Namun penentuan nilai tersebut hanya diambil secara umum tanpa memandang faktor ras dan genetik sampel. Oleh karena itu perbedaan ras dan faktor genetik mungkin saja dapat menyebabkan adanya perbedaan dalam nilai normal. Sehingga apabila diasumsikan memang faktor ras dan genetik berpengaruh, maka mungkin hasil yang diperoleh dapat saja berbeda.

MAR Test merupakan tes untuk melihat apakah terdapat immunoglobulin yang mengindikasikan adanya antibodi antisperma. Immunoglobulin yang umum ditemukan adalah IgG dan IgA. Namun pemeriksaan yang lebih sering dilakukan adalah untuk mendeteksi adanya IgG oleh karena pemeriksaan terhadap IgA lebih mahal. Sehingga apabila ditemukan adanya IgG maka diasumsikan juga terdapat IgA. Adanya kadar IgG yang tinggi menunjukkan adanya pernah terjadi suatu proses yang kronis, sedangkan IgA menunjukkan adanya proses akut yang sedang terjadi.

Pada dasarnya sperma sendiri dapat dianggap sebagai benda asing oleh tubuh. Oleh karena itu pada testis terdapat *Blood Testis Barrier* yang terletak di dekat lamina basalis. Dan *Blood Testis Barrier* ada untuk mencegah timbulnya respon autoimun tubuh yang dapat menyerang sperma. Apabila barrier tersebut rusak, antibodi dapat mencapai tubulus seminiferus dan menempel pada sperma. Adanya antibodi tersebut dapat menyebabkan immobilisasi sperma, penurunan penetrasi sperma terhadap mucus serviks, inaktivasi enzim akrosomal yang dibutuhkan untuk fertilisasi, dan menghambat penempelan sperma ke zona pelusida (Hafez ESE, 2005).

Antibodi antisperma tersebut dapat ditemukan pada bagian yang berbeda pada sperma, misalnya pada bagian kepala, tubuh, ataupun ekor sperma. Pada pemeriksaan di bawah mikroskop, setelah ditambahkan immunobead, pada sperma yang memiliki antibodi antisperma akan terlihat sperma terhambat gerakannya oleh karena terperangkap antibodi yang akan menempel di permukaan sperma. Adanya antibodi tersebut dapat mengurangi kemampuan transpor sperma dan secara langsung mengurangi angka keberhasilan fertilisasi (Anonim, 2007).

Diagnosis dari infertilitas imunologis dapat ditegakkan apabila  $\geq 50\%$  dari sperma memiliki antibodi yang menempel di permukannya (Anonim, 2007). Menurut buku panduan analisis sperma WHO 2004, MAR Test dinyatakan positif apabila didapatkan hasil  $> 10\%$ . Namun pada penggunaan klinisnya, MAR Test  $>10\%$  baru diduga positif, apabila berada dalam rentang 10%-30% maka

dianggap positif, dan apabila  $>30\%$  baru dianggap positif. Namun pada sampel penelitian ini, hanya sedikit pasien yang memiliki MAR Test  $> 30\%$ .

Pada analisis data, untuk hubungan antara MAR Test dan SPERST 24 Jam didapatkan nilai P value yaitu 0,359. Sedangkan pada hubungan antara MAR Test dan SPERST 48 Jam didapatkan P value yaitu 0,033. Dari nilai P value tersebut dapat diketahui bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara MAR Test dan SPERST 24 Jam. Namun terdapat hubungan yang signifikan antara MAR Test dan SPERST 48 Jam. Yang artinya secara teoritis, setelah 48 jam sperma akan mulai berkurang motilitasnya seperti yang telah dibahas sebelumnya dan dengan adanya antibodi antisperma, maka ketahanan hidup sperma akan semakin jelek.