

BAB IV

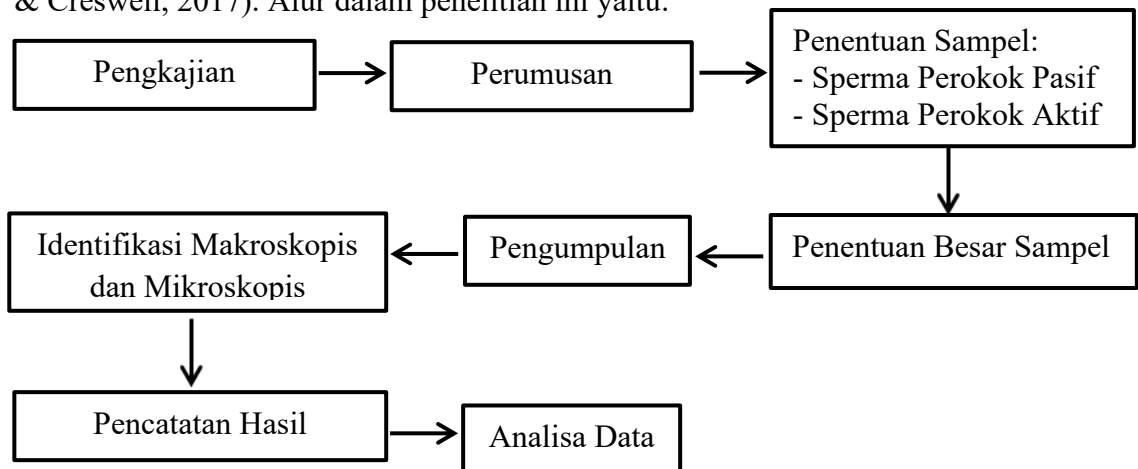
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian Deskriptif Analitik dengan rancangan *Cross-Sectional*. Rancangan ini digunakan karena bertujuan untuk mengetahui perbedaan kondisi kualitas spermatozoa pada perokok pasif dan perokok aktif secara signifikan (Sugiyono, 2019).

B. Alur Penelitian

Alur penelitian adalah urutan langkah-langkah yang dilakukan dalam proses penelitian mulai dari perumusan masalah hingga penarikan kesimpulan (Creswell & Creswell, 2017). Alur dalam penelitian ini yaitu:



Gambar 3 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Lokasi pengambilan sampel sperma diperoleh di Kantor PT Mayura Jaya Dana dan Kantor CV Peony Indonesia. Sedangkan proses pemeriksaan kualitas spermatozoa dilakukan di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Bali.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2024 – April 2025.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan subjek penelitian yang memiliki karakteristik tertentu yang relevan dengan tujuan penelitian (Arikunto, 2010). Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pria yang bekerja di Kantor PT Mayura Jaya Dana dan Kantor CV Peony Indonesia. Baik yang merokok pasif maupun aktif, dengan usia antara 20-40 tahun. Jadi jumlah total populasi pada penelitian ini adalah sebanyak 18. Sampel diambil dari populasi pria yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

2. Sampel

a. Unit analisis

Unit analisis adalah entitas atau objek yang dianalisis dalam penelitian ini, yang dalam konteks ini adalah sampel sperma dari perokok pasif dan aktif (Babbie, 2020). Unit analisis dalam penelitian ini adalah sampel sperma dari pria perokok pasif dan aktif.

b. Besar sampel

Besar sampel adalah jumlah subjek yang diambil dari populasi untuk dijadikan sampel penelitian. Penentuan besar sampel pada penelitian ini diambil berdasarkan jumlah sampel hasil studi pendahuluan yang dilakukan di lokasi penelitian. Jumlah populasi sebesar 18 orang laki – laki yang terdiri atas 9 orang laki – laki perokok pasif dan 9 orang laki – laki perokok aktif.

3. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah adalah teknik pengambilan sampel di mana seluruh anggota populasi dijadikan sebagai sampel. Teknik ini digunakan apabila jumlah populasi relatif kecil dan semua anggotanya dianggap memiliki karakteristik yang relevan terhadap penelitian, sehingga penambahan jumlah responden tidak akan memberikan informasi baru yang signifikan atau menambah keterwakilan data (Sekaran & Bougie, 2016). Teknik sampling jenuh digunakan untuk memastikan bahwa sampel yang dipilih sesuai dengan kriteria penelitian (misalnya, telah merokok aktif selama lebih dari 5 tahun atau terpapar asap rokok secara pasif setiap hari).

a. Alat, bahan, dan prosedur kerja

- 1) Alat: gelas ukur, alat hitung manual, mikroskop, dan stopwatch.
- 2) Bahan: sampel sperma, pot sampel sperma, pipet tetes, kertas pH, objek glass, cover glass, metanol, diluent, cat pewarna carbol fuchsin dan crystal violet.
- 3) Prosedur kerja
 - a) Pre Analitik

- (1) Pastikan sebelum melakukan pengambilan sampel telah menggunakan APD lengkap seperti jas lab, masker, dan handscoon.
- (2) Dilakukan identifikasi pasien perokok aktif dan pasif dengan mencocokkan identitas seperti nama lengkap, usia, dan jam pengambilan sampel.
- (3) Pasien diberikan penjelasan sebelum pengambilan sampel sperma, yaitu dengan masturbasi atau onani.
- (4) Sebelum dilakukan pengambilan sampel pasien diminta supaya tidak melakukan kegiatan sexual (abstinensia) selama 2 sampai 7 hari dan pengeluaran ejakulat sebaiknya dilakukan pagi hari.
- (5) Penampungan sampel sperma sebelum dibawa ke laboratorium menggunakan pot sampel yang berbahan kaca, bermulut lebar, serta wadah tersebut harus dapat ditutup dengan baik.
- (6) Pasien diminta untuk mencatat waktu pengeluaran sperma dan melaporkannya kepada peneliti.
- (7) Sampel sperma harus sesegera mungkin dilakukan pemeriksaan setelah dikeluarkan dalam batas 15 sampai 120 menit sesudah ejakulasi.

b) Analitik

Tahap analitik dilakukan pemeriksaan spermatozoa secara makroskopis dan mikroskopis yakni:

(1) Pemeriksaan makroskopis

(a) Liquefaction

Dilakukan pemeriksaan spermatozoa dengan melihat adanya gumpalan – gumpalan atau kuagulum diantara cairan lendir putih yang cair. Sperma biasanya mengalami likuefaksi sempurna dalam waktu 15 sampai 60 menit. Interpretasi

pemeriksaan ini dilakukan dengan melihat berapa menit waktu yang dibutuhkan untuk sampel mengalami likuefaksi sempurna. Likuefaksi sempurna dalam waktu < 60 menit.

(b) Warna

Pemeriksaan warna sperma sekaligus dilakukan pemeriksaan kekeruhan. Warna sperma diamati dengan latar belakang yang putih dengan penerangan yang cukup. Interpretasi warna sperma yaitu:

1. Normal: berwarna putih kanji, putih keabuan atau putih mutiara.
2. Abnormal: berwarna seperti susu, kemerahan atau tidak jernih.

(c) Bau

Bau sperma yang khas disebabkan oleh adanya spermine yang dihasilkan oleh prostat. Cara kerja pemeriksaan bau sperma dilakukan dengan mencium bau sperma dan melaporkan bau dengan interpretasi khas/tidak khas.

Interpretasi bau sperma yaitu:

1. Normal: bau khas seperti bunga akasia
2. Abnormal: berbau tidak khas seperti bau obat – obatan atau bau amis.

(d) pH spermatozoa

pH spermatozoa diukur setelah terjadi likwefeksi sempurna dengan menggunakan kertas pH. pH normal menunjukkan sedikit alkalis yaitu 7,2 – 7,8 cairan prostat mempunyai pH yang rendah yaitu < 7,0.

(e) Volume

Volume sperma diukur setelah terjadi likuefaksi sempurna. Volume diukur dengan menggunakan gelas ukur 5 atau 10 ml. Interpretasi volume sperma yaitu:

1. Normal: 1,4 – 6,2 ml (jika < 1,4 ml pasien mengalami *hypospermia*)

2. Abnormal: $> 6,2$ ml (disebut *hyperspermia*)

(f) Viskositas (kekentalan)

Viskositas ditentukan setelah terjadinya likwefeksi sempurna. Viskositas diukur dengan batang pengaduk (semakin panjang menunjukkan viskositas semen yang tinggi). Interpretasi viskositas sperma yaitu:

1. Normal: 1 – 2 detik untuk tiap tetesan
2. Abnormal: > 2 detik untuk tiap tetesan

(2) Pemeriksaan mikroskopis

(a) Jumlah spermatozoa

Cairan sperma diencerkan pada tabung reaksi dengan larutan pengencer, menggunakan 180 μ l diluent dan 20 μ l sampel sperma kemudian dihomogenkan dan dimasukkan kedalam kamar hitung, sampai menutupi permukaan kamar hitung.

Cara kerja pemeriksaan jumlah spermatozoa yakni:

- (1) Isi tabung reaksi dengan 180 μ l diluent ditambah 20 μ l sampel sperma
- (2) Homogenkan sebanyak 10 kali .
- (3) Teteskan pada permukaan kamar hitung sampai menutupi seluruh permukaan kamar hitung.
- (4) Hitung pada perbesaran objektif 40x.
- (5) Dihitung berapa banyak spermatozoa pada beberapa lapang pandang.
- (6) Interpretasi jumlah spermatozoa berkisar antara 39,0 – 701,0 juta/ejakulasi.

interpretasi dapat dilakukan jika sperma:

- i. Oligospermia: < 20 juta/ml
- ii. Subfertil: 20 – 40 juta/ml
- iii. Relatif fertil: 40 – 60 juta/ml

iv. Sangat fertil: > 60 juta/ml

(b) Motilitas (pergerakan sperma)

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan pada suhu kamar 20 – 25°C. Pemeriksaan pergerakan spermatozoa sebaiknya dilakukan setelah 20 menit karena dalam waktu 20 menit sperma tidak kental sehingga spermatozoa mudah bergerak tetapi jangan lebih dari 60 menit setelah ejakulasi sebab dengan bertambahnya waktu pemeriksaan akan memperburuk pergerakan spermatozoa.

Pemeriksaan dilakukan dengan lensa objektif 40x. Motilitas spermatozoa dihitung sedikitnya 200 spermatozoa per lapang pandang. Selanjutnya dicatat:

- i. Persentase spermatozoa yang bergerak baik, yaitu spermatozoa yang nyata memperlihatkan gerak maju.
- ii. Persentase spermatozoa yang bergerak kurang baik atau ditempat, yaitu spermatozoa yang hanya ada gerakan ekor saja.
- iii. Persentase spermatozoa yang tidak bergerak sama sekali atau non motil, yaitu spermatozoa bergerak baik lebih atau sama dengan 50%.

(c) Morfologi

Pemeriksaan morfologi dilakukan dengan membuat preparat hapusan di atas objek glass. Prosedur kerja pemeriksaan morfologi spermatozoa yakni:

- (1) Dibuat preparat hapusan di atas objek glass dengan setetes cairan sperma seperti pembuatan hapusan darah.
- (2) Keringkan preparat dengan diangin anginkan saja.
- (3) Selanjutnya fiksasi preparat dengan metanol sampai kering
- (4) Teteskan cat pewarna carbol fuchsin selama 5 menit kemudian bilas dengan aquadest

- (5) Teteskan cat pewarna crystal violet selama 5 menit kemudian bilas dengan aquadest
- (6) Posisikan preparat yang sudah di cat secara tegak lurus hingga kering.
- (7) Preparat siap untuk dilakukan pembacaan morfologi spermatozoa secara mikroskopis.

Interpretasi pemeriksaan yakni:

- A. Bentuk normal: bentuk oval (paling sedikit 15% berbentuk normal)
- B. Bentuk spermatozoa abnormal:
 - i. Berbentuk pir (seperti buah pir)
 - ii. Bentuk terato (tidak beraturan dan berukuran besar)
 - iii. Bentuk leptos (ceking)
 - iv. Bentuk mikro (kepala seperti jarum pentul)
 - v. Bentuk *strongyle* (seperti larva strongyloides)
 - vi. Bentuk *lose head* (tanpa kepala)
 - vii. Bentuk *immature* (spermatozoa belum dewasa dan terdapat *cytoplasmic*)
- c) Pasca Analitik
 - (1) Mencatat dan mendokumentasikan pemeriksaan
 - (2) Menginterpretasikan hasil
 - (3) Melakukan pelaporan hasil yang dikeluarkan
 - (4) Melakukan penanganan limbah medis yaitu:
 - i. Tempat sampah kantong kuning : untuk limbah medis
 - ii. Tempat sampah kantong hitam : untuk limbah non-medis
 - iii. Tempat sampah jerigen : untuk limbah benda tajam

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis pengumpulan data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini terdiri dari data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif mencakup pengukuran jumlah sperma, motilitas, dan morfologi sperma dari perokok aktif dan pasif. Data ini memberikan dasar numerik untuk membandingkan kondisi sperma antara kedua kelompok. Data kualitatif mencakup pengamatan terhadap morfologi spermatozoa, yang dapat mencakup deskripsi tentang kelainan bentuk kepala, leher, atau ekor sperma. Kombinasi data kuantitatif dan kualitatif ini memungkinkan analisis yang komprehensif terhadap dampak merokok aktif dan pasif terhadap kualitas sperma (Maggavi, Pujari, & C.N, 2019)

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini meliputi observasi langsung dan analisis laboratorium. Observasi langsung dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk melihat dan mencatat kondisi morfologi spermatozoa. Observasi ini penting untuk mengidentifikasi kelainan morfologi yang mungkin tidak terlihat melalui pengukuran kuantitatif semata. Analisis laboratorium dilakukan untuk mengukur jumlah, motilitas, dan morfologi spermatozoa (Repalle *et al.*, 2022).

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data mencakup:

- a. *Informed consent* dan kuisioner
- b. Handphone digunakan sebagai alat dokumentasi penelitian.
- c. Laptop digunakan sebagai instrumen pengumpulan data dan analisis data.

- d. ATK digunakan untuk melakukan pencatatan hasil penelitian.
- e. Mikroskop digunakan sebagai instrumen penunjang pemeriksaan laboratorium.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Pengolahan data dalam penelitian ini mencakup beberapa langkah kritis, dimulai dari pengumpulan data, pengelompokan, hingga analisis statistik. Setelah data dikumpulkan, langkah pertama adalah pengelompokan data berdasarkan kategori seperti perokok aktif dan pasif. Data kuantitatif, seperti jumlah sperma, motilitas, dan konsentrasi spermatozoa, dianalisis menggunakan metode statistik deskriptif untuk mendapatkan gambaran umum dari distribusi data.

2. Analisa data

Hasil penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji normalitas *shapiro-wilk*, sedangkan untuk melihat perbedaan dari kualitas sperma perokok pasif dan aktif adalah uji *t-test* jika data terdistribusi normal dan uji *mann whitney* jika data tidak terdistribusi normal. Hal ini terlihat dari nilai signifikansi yang berada di bawah ambang batas 0,05, yang mengindikasikan adanya penyimpangan dari distribusi normal. Uji *t-test* dan *mann whitney* digunakan untuk membandingkan rata-rata dua kelompok dan menentukan apakah perbedaan tersebut cukup signifikan untuk disimpulkan sebagai efek dari perbedaan perilaku merokok.

Hasil dari analisis statistik ini disajikan dalam bentuk tabel dan grafik untuk memvisualisasikan perbedaan antara kedua kelompok. Interpretasi data dilakukan dengan merujuk pada literatur yang ada untuk memberikan penjelasan yang lebih

dalam mengenai hasil yang diperoleh. Interpretasi ini akan membahas bagaimana merokok aktif dan pasif dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa, dengan mempertimbangkan faktor-faktor lain yang dapat berkontribusi terhadap variasi hasil yang diamati. Misalnya, usia, gaya hidup, serta paparan lingkungan lainnya yang dapat mempengaruhi kualitas sperma juga harus dipertimbangkan dalam analisis ini.

Untuk memastikan validitas dan reliabilitas data, langkah-langkah kontrol kualitas diterapkan selama proses pengumpulan dan analisis data. Ini termasuk penggunaan alat-alat yang terkalibrasi dengan baik, pelatihan operator alat yang memadai, serta penggunaan protokol standar dalam setiap tahap prosedur. Selain itu, pengulangan pengukuran dilakukan pada sampel yang dipilih secara acak untuk memastikan konsistensi hasil.

Setelah data dianalisis, hasilnya diinterpretasikan dalam konteks literatur yang ada. Sebagai contoh, jika penelitian menunjukkan bahwa perokok aktif memiliki kualitas sperma yang lebih buruk dibandingkan dengan perokok pasif, peneliti dapat menghubungkan temuan ini dengan studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa komponen berbahaya dalam asap rokok, seperti nikotin dan tar, dapat merusak sel-sel spermatozoa secara langsung atau mengganggu proses spermatogenesis (Sengoku, Takuma, & Nakamura, 2018).

Di sisi lain, jika penelitian tidak menemukan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok, peneliti harus mempertimbangkan kemungkinan adanya faktor-faktor lain yang mungkin berperan, seperti durasi dan intensitas paparan terhadap asap rokok, serta faktor genetik atau gaya hidup lainnya yang mungkin

berinteraksi dengan paparan asap rokok dalam mempengaruhi kualitas sperma (Zenzes, 2000).

G. Etika Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian ini, beberapa aspek etika penelitian yang penting perlu diperhatikan untuk melindungi hak dan kesejahteraan partisipan, serta menjaga integritas ilmiah penelitian. Aspek-aspek tersebut meliputi:

1. Persetujuan informasi (*informed consent*)

Sebelum partisipan dilibatkan dalam penelitian, mereka akan diberikan informasi lengkap mengenai tujuan penelitian, prosedur yang akan dilakukan, serta risiko dan manfaat yang mungkin timbul. Partisipan harus memberikan persetujuan tertulis setelah memahami informasi tersebut, tanpa ada paksaan atau tekanan dari pihak peneliti.

2. Kerahasiaan dan anonimitas

Identitas dan informasi pribadi partisipan akan dijaga kerahasiaannya. Data yang dikumpulkan akan dienkripsi dan hanya digunakan untuk tujuan penelitian ini. Hasil penelitian akan dilaporkan dalam bentuk agregat tanpa menyebutkan nama atau informasi yang dapat mengidentifikasi partisipan secara individu.

3. Kesejahteraan partisipan

Penelitian ini akan dilakukan dengan memperhatikan kesejahteraan fisik dan psikologis partisipan. Jika ada risiko yang teridentifikasi, tindakan pencegahan akan diambil untuk meminimalkan dampak negatif. Partisipan juga berhak untuk mengundurkan diri dari penelitian kapan saja tanpa konsekuensi apa pun.

4. Kejujuran dan integritas ilmiah

Peneliti akan menjalankan penelitian dengan kejujuran dan integritas ilmiah. Data akan dikumpulkan, dianalisis, dan dilaporkan secara objektif tanpa manipulasi. Semua sumber yang digunakan dalam penelitian akan diakui dengan jelas untuk menghindari plagiarisme.

5. Pertimbangan etis dalam penggunaan sampel biologis

Penggunaan sampel sperma dalam penelitian ini akan dilakukan sesuai dengan prosedur etis yang berlaku. Partisipan akan diberikan informasi tentang bagaimana sampel mereka akan digunakan, dan mereka harus memberikan izin tertulis untuk penggunaan sampel tersebut. Selain itu, semua sampel akan diperlakukan dengan hormat dan sesuai dengan standar etika yang tinggi.

6. Komunikasi hasil penelitian

Hasil penelitian akan dikomunikasikan kepada partisipan yang tertarik, dengan cara yang mudah dipahami. Jika hasil penelitian mengindikasikan temuan yang relevan bagi kesehatan partisipan, informasi ini akan disampaikan dengan saran tindak lanjut jika diperlukan.

Penelitian ini akan mengikuti pedoman etika yang disetujui oleh komite etika penelitian dari institusi terkait untuk memastikan bahwa semua aspek penelitian ini dilakukan dengan memperhatikan hak-hak partisipan dan integritas ilmiah.