

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *True Experimental* dengan menggunakan desain Rancangan Acak Kelompok (RAK). Adapun bentuk rancangan yang digunakan dapat dilihat pada berikut:

R1	A1	B1	C1	D1
R2	A2	B2	C2	D2
R3	A3	B3	C3	D3
...	...	...	...	...
R-n	A-n	B-n	C-n	D-n

Keterangan:

R : Randomisasi

A : Pemeriksaan segera setelah likuifaksi (kontrol)

B : Pemeriksaan 1 jam setelah ejakulasi

C : Pemeriksaan 2 jam setelah ejakulasi

D : Pemeriksaan 3 jam setelah ejakulasi

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan bulan November 2025.

2. Tempat penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Unit Laboratorium Andrologi RS. BaliMéd Denpasar yang beralamat di Jl. Mahendradatta No.57X, Denpasar Barat.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi merupakan wilayah generalisasi yang terdiri dari subjek yang memiliki kualitas dan karakteristik tertentu yang ditentukan oleh peneliti (Sugiyono, 2014). Adapun populasi dari penelitian ini adalah pasien yang melakukan pemeriksaan analisa sperma di RS. BaliMéd Denpasar dari bulan Oktober-November 2025.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah pasien yang melakukan pemeriksaan analisa sperma di RS. BaliMéd Denpasar. Adapun kriteria sampel pada penelitian ini yaitu:

a. Kriteria inklusi

- 1) Pasien laki-laki yang berusia 21-40 tahun dan melakukan pemeriksaan analisa sperma di RS. BaliMéd Denpasar.
- 2) Pasien yang telah menjalani puasa ejakulasi selama 2-7 hari.
- 3) Pasien yang bersedia menjadi responden dengan menandatangani *informed consent*.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Pasien yang memiliki riwayat varikokel berat.
- 2) Pasien yang memiliki riwayat *hipospermia*, *oligospermia*, *kriptospermia*, *azoospermia* dan *nekrozoospermia*.

3. Jumlah dan besar sampel

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh sebuah populasi (Sugiyono, 2014). Perhitungan besar sampel pada penelitian ini

ditentukan dengan rumus *Lemeshow*. Rumus ini digunakan untuk menentukan besar sampel yang tidak diketahui besar populasinya. Adapun jumlah sampel dapat ditentukan sebagai berikut:

$$n = \frac{Z^2 \times P(1 - P)}{d^2}$$

Keterangan:

n : Jumlah sampel

Z : Nilai *Z score* berdasarkan tingkat kepercayaan. Untuk tingkat kepercayaan 95%, digunakan nilai *Z score* sebesar 1,96

P : Proporsi kejadian (0,5)

d : *Margin of error* (15% atau 0,15)

$$n = \frac{(1,96)^2 \times 0,5(1 - 0,5)}{(0,15)^2}$$

$$n = \frac{3,8416 \times 0,25}{0,0225}$$

$$n = \frac{0,9604}{0,0225}$$

$$n = 42,6844 \approx 43 \text{ sampel.}$$

4. Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan *non-probability sampling* dengan pendekatan *sampling insidental*. *Sampling insidental* merupakan teknik penentuan sampel di mana siapa saja yang secara kebetulan ditemui oleh peneliti dapat dijadikan responden, apabila orang tersebut dianggap sesuai sebagai sumber data (Sugiyono, 2014).

5. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah motilitas sperma pada variasi waktu penundaan pemeriksaan yaitu segera setelah likuifaksi, dan 1 jam, 2 jam, 3 jam setelah ejakulasi.

D. Jenis dan Pengumpulan Data

1. Jenis data

Adapun jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer dan data sekunder. Data primer pada penelitian ini yaitu persentase motilitas sperma progresif pada variasi waktu segera setelah likuifaksi, 1 jam, 2 jam, dan 3 jam setelah ejakulasi. Sedangkan data sekunder penelitian ini yaitu jumlah kunjungan pasien yang melakukan pemeriksaan analisa sperma.

2. Teknik pengumpulan data

Data dikumpulkan dengan cara mengamati motilitas sperma di bawah mikroskop. Motilitas yang diukur adalah motilitas progresif pada variasi waktu segera setelah likuifaksi, 1 jam, 2 jam, dan 3 jam setelah ejakulasi.

3. Instrumen pengolahan data

Adapun instrumen pengolahan data yang digunakan pada penelitian ini adalah *timer*, alat tulis, formulir wawancara, kamera, dan mikroskop.

E. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja

1. Alat dan bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu pot sperma, mikroskop (*Olympus*), mikropipet (*ONEMED*), *white tip*, *object glass*, *cover glass*, *timer*, *gown*, masker, dan *handscoon*.

2. Prosedur kerja

a. Pra analitik

1) Persiapan pasien

Sebelum melakukan penampungan, pasien diberikan penjelasan terkait tata cara pengambilan sampel. Pasien diwajibkan untuk melakukan puasa ejakulasi selama 2-7 hari sebelum dilakukan pemeriksaan.

2) Penampungan sampel

Metode yang dianjurkan untuk penampungan sampel adalah dengan cara masturbasi, tidak dianjurkan melakukan penampungan dengan cara koitus interruptus karena berisiko terkontaminasi cairan vagina. Penampungan menggunakan kondom dan penggunaan lubrikan harus dihindari karena akan mengganggu motilitas sperma.

Sampel ditampung dengan wadah yang bersih, bermulut lebar, terbuat dari plastik, dan tidak bersifat toksik terhadap sperma. Wadah penampungan sampel harus diisi identitas pasien yang meliputi nama, tanggal lahir, alamat, serta nomor rekam medis. Pada saat sampel diterima, dicatat tanggal dan waktu pengumpulan sampel, kelengkapan sampel, serta kesulitan yang dialami pasien saat pengumpulan (jika ada).

3) Penanganan sampel

Sampel yang telah dikumpulkan, dibiarkan mengalami likuifaksi pada suhu ruang (18°C – 28°C). Setelah likuifaksi, dilakukan pemeriksaan pada sampel. Agar keselamatan kerja tetap terjaga, sampel perlu diperlakukan sebagai bahan *biohazard* karena dapat mengandung agen infeksius seperti virus HIV, hepatitis, atau herpes.

b. Analitik

1) Pemeriksaan makroskopis

Pemeriksaan makroskopis yang dilakukan pada penelitian ini adalah pemeriksaan likuifaksi. Pemeriksaan likuifaksi dilakukan dengan cara menyalakan *timer* selama 20 menit setelah sampel diterima dan dibiarkan mencair pada suhu ruang. Apabila sampel telah mengalami likuifaksi sempurna dalam waktu kurang dari 20 menit, hasil dicatat pada lembar pemeriksaan. Namun, apabila dalam 20 menit sampel belum mengalami likuifaksi sempurna, *timer* ditambah setiap 5 menit hingga likuifaksi tercapai dengan batas maksimal waktu pengamatan selama 60 menit.

2) Pemeriksaan motilitas sperma

Setelah likuifaksi sempurna, dibuat 2 sediaan dengan cara meneteskan 10 μ l sampel pada *object glass* dan tutup dengan *cover glass* ukuran 22x22 mm. Tunggu sampai sampel berhenti mengalir atau bergerak. Amati dengan pembesaran 400x. Pengamatan sebaiknya di bagian tengah, untuk menghindari *cover slip*. Kemudian masing-masing sediaan dibaca motilitasnya sebanyak 5 lapang pandang.

Pada pemeriksaan 1, 2, dan 3 jam setelah ejakulasi, sampel dibiarkan pada suhu ruang. Setelah mencapai waktu tersebut, sampel dilakukan pemeriksaan dengan prosedur yang sama seperti pemeriksaan setelah likuifaksi sempurna. Kemudian motilitas sperma diamati dengan kategori sperma bergerak maju dengan cepat, sperma bergerak maju dengan lambat, sperma bergerak di tempat, dan sperma yang diam atau tidak bergerak.

c. Pasca analitik

1) Perhitungan

Sperma dibuat dua sediaan dan dibaca sebanyak lima lapang pandang pada masing-masing sediaan dengan mikroskop. Kemudian persentase motilitas sperma dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% = \frac{N}{T} \times 100\%$$

Keterangan:

% : persentase motilitas sperma

N : jumlah sel sperma

T : total sel sperma yang dibaca

Berdasarkan kategori gerak sperma, penilaian sperma dilakukan terhadap empat jenis motilitas yaitu gerak cepat (a), gerak lambat (b), gerak di tempat (c), dan tidak bergerak (d). Untuk mendapatkan persentase motilitas progresif dilakukan penjumlahan antara kategori gerak cepat (a) dengan gerak lambat (b).

2) Interpretasi hasil

Adapun interpretasi hasil pemeriksaan motilitas sperma mengacu pada standar operasional prosedur laboratorium. Motilitas progresif ditentukan dari persentase sperma yang bergerak cepat dan lambat, dengan nilai rujukan $\geq 40\%$. Sedangkan motilitas total dihitung dari akumulasi sperma yang bergerak cepat, bergerak lambat, serta bergerak di tempat, dengan nilai rujukan $\geq 50\%$. Suatu sampel dikategorikan normal apabila memenuhi salah satu atau kedua kriteria tersebut. apabila persentase motilitas progresif dan motilitas total berada di bawah nilai rujukan, maka diklasifikasikan sebagai *asthenozoospermia*.

3) Pencatatan, pelaporan, dan validasi hasil

- a) Hasil pemeriksaan analisa sperma ditulis pada lembar hasil sementara. Apabila terdapat hasil yang memerlukan konsultasi lebih lanjut, maka dilakukan konsultasi dengan Dokter Andrologi sebelum hasil diketik pada LIS.
- b) Selanjutnya, hasil pemeriksaan diketik pada LIS dengan memastikan kembali identitas pasien, yaitu nama, tanggal lahir, alamat, dan nomor rekam medik. Hasil yang dimasukkan meliputi abstinensi, parameter seminal plasma (volume, bau, warna, likuifaksi, viskositas, pH, leukosit, dan sel muda), spermatozoa (konsentrasi, motilitas gerak cepat, gerak lambat, gerak di tempat, dan tidak bergerak), morfologi normal dan abnormal, aglutinasi, klasifikasi hasil, serta catatan dan saran.
- c) Hasil yang sudah diketik kemudian diperiksa ulang dengan mencocokkan identitas pasien dan hasil pada *form* sementara, sebelum dilakukan otorisasi pada LIS. Apabila sudah sesuai, maka dilakukan otorisasi dan validasi hasil oleh Dokter Andrologi.

4) Pengelolaan limbah

Limbah yang dihasilkan terdiri dari beberapa jenis. Limbah domestik seperti tisu yang tidak terkontaminasi sampel dimasukkan kantong plastik warna hitam dan dibawa ke tempat penampungan sementara lalu ke tempat pembuangan akhir. Limbah padat infeksius berupa tip putih, tip kuning, *slide* pembacaan motilitas, *cover glass*, masker, *hair cap*, *handscoon*, tisu lensa mikroskop, pot penampungan sperma dimasukkan ke dalam kantong plastik warna kuning. Limbah cair seperti sisa sampel, dibuang ke bak cuci yang langsung terhubung dengan Instalasi Pengolahan Air Limbah Rumah Sakit. Limbah benda tajam berupa *sputit* ditampung

dalam tempat sampah khusus jarum (*Sharp Box*) sebelum dimusnahkan dengan insinerator.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data motilitas sperma yang diperoleh melalui pengamatan secara mikroskopis dinyatakan dalam persentase (%) kemudian diolah dengan menggunakan teknik *tabulating* data, yaitu data disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

2. Analisis data

Pada penelitian ini analisis data dilakukan secara kuantitatif dengan bantuan *software* komputer. Adapun analisis data yang digunakan yaitu:

- a. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak.
- b. Apabila data berdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA dan uji LSD untuk melihat perbedaan motilitas sperma berdasarkan variasi waktu penundaan pemeriksaan.
- c. Apabila data tidak berdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *Friedman* dan uji *Wilcoxon* untuk melihat perbedaan motilitas sperma berdasarkan variasi waktu penundaan pemeriksaan.

G. Etika Penelitian

1. *Respect for person* (Menghormati harkat martabat manusia)

Prinsip penghormatan terhadap harkat dan martabat manusia menegaskan pengakuan atas individu sebagai subjek yang memiliki kebebasan dalam

menentukan kehendak maupun pilihan hidupnya. Kebebasan tersebut sekaligus mengandung tanggung jawab moral terhadap keputusan yang diambil. Dengan demikian, prinsip ini bertujuan untuk menjamin penghormatan terhadap otonomi individu, yakni kemampuan setiap orang untuk memahami berbagai alternatif yang ada sehingga dapat menetapkan keputusan secara mandiri dan sadar.

2. Confidentiality (Kerahasiaan)

Sebelum proses pengambilan data dimulai, peneliti memberikan jaminan kerahasiaan kepada responden. Peneliti menegaskan bahwa semua informasi yang berkaitan dengan responden akan dijaga kerahasiaannya. Dalam penyajian hasil, data akan dilaporkan dalam bentuk kelompok, bukan individu. Untuk melindungi identitas, nama responden tidak akan dicantumkan pada kuesioner. Sebagai gantinya, peneliti akan menggunakan inisial atau kode responden.

3. Beneficence dan Non-maleficence

Prinsip *beneficence* merupakan prinsip kebaikan dan memberikan manfaat dan meminimalkan kerugian kepada orang lain. Serta prinsip *Non-Maleficence* yang artinya prinsip tidak merugikan yang bertujuan agar subjek penelitian tidak diperlakukan sebagai sarana dan memberikan perlindungan terhadap tindakan penyalahgunaan.

4. Justice (Keadilan)

Seorang peneliti harus terbuka dan adil saat menjelaskan penelitian. Prinsip keadilan ini menjamin bahwa semua orang diberikan perlakuan dan manfaat yang sama tanpa memandang agama, jenis kelamin, suku, atau ras mereka.