

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *eksperimen*. Penelitian ini menggunakan rancangan *Posttest Only Control Grup Design*. Dimana dalam desain ini terdapat dua kelompok, kelompok pertama diberi perlakuan disebut dengan kelompok eksperimen dan kelompok kedua tidak diberi perlakuan disebut dengan kelompok kontrol. Rancangan ini tidak memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan membandingkan pada kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2012). Bentuk dari rancangan ini yaitu :

	Perlakuan	<i>Posttest</i>
R1	X	02
R2		02

Gambar 3. Desain Penelitian *Posttest Only Control Grup Design*

Keterangan :

R1 : kelompok eksperimen, dalam penelitian ini berupa sperma yang disimpan pada suhu 4°C, 25°C dan 37°C

R2 : kelompok kontrol, dalam penelitian ini motilitas sperma tanpa diberikan perlakuan

X : perlakuan

02 : motilitas sperma

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan dari bulan Maret – Juni 2018

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi digunakan untuk mendefinisikan seluruh elemen/anggota dari suatu wilayah yang menjadi sasaran penelitian (Notoatmojo, 2012). Menurut *Surat Keputusan Direktur Politeknik Kesehatan Denpasar Nomor: PP.03.01/P.03/8131/2017*, jumlah mahasiswa Analis Kesehatan tahun 2017 adalah mahasiswa tingkat I sebanyak 85 orang, tingkat II sebanyak 57 orang dan tingkat III sebanyak 56 orang. Jumlah keseluruhan populasi adalah 198 orang mahasiswa. Dalam penelitian ini yang menjadi populasi adalah Mahasiswa laki-laki Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Denpasar.

Jumlah populasi mahasiswa laki-laki jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar adalah 26 mahasiswa yang terdiri dari 5 mahasiswa tingkat I, 9 mahasiswa tingkat II, 12 mahasiswa tingkat III.

2. Teknik pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sperma dari mahasiswa Diploma III Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Denpasar. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan teknik acak sederhana

(*simple random sampling*). Besar sampel yang diambil ditentukan dengan rumus Federer (Hanafiah, 2008) yaitu :

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(4 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(3) (r - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) \geq 5$$

$$r \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, besar sampel yang harus digunakan dalam penelitian ini adalah minimal 6 sampel. Menurut Hanafiah, (2016) jumlah pengulangan suatu perlakuan tergantung pada derajat ketelitian yang diinginkan oleh peneliti terhadap kesimpulan hasil percobaan. Berdasarkan hal tersebut, maka sampel yang digunakan dalam penelitian ini lebih dari 6 yaitu menggunakan 7 sampel dengan 4 perlakuan, sehingga diperoleh jumlah data pemeriksaan sebesar 28 data.

Kriteria sampel pada penelitian ini adalah :

Kriteria inklusi adalah kriteria yang harus dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil sebagai sampel, meliputi :

- 1) Sampel sperma dari subjek yang melakukan puasa tidak mengeluarkan sperma selama 3-7 hari.
- 2) Sampel sperma diperoleh dengan cara masturbasi dan ditampung dengan menggunakan pot sperma yang bersih dan terbuat dari kaca.
- 3) Subjek bersedia sebagai responden.

Kriteria eksklusi adalah anggota populasi yang tidak dapat diambil sebagai sampel, meliputi :

- 1) Sampel sperma diperoleh dari subjek yang tidak melakukan puasa mengeluarkan sperma selama 3-7 hari.
- 2) Sampel sperma diperoleh dengan cara koitus interruptus atau masturbasi dengan menggunakan kondom serta penampungan sampel dengan menggunakan pot sperma yang bersih dan terbuat dari kaca.
- 3) Subjek tidak bersedia sebagai responden.

D. Jenis, Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Pada penelitian ini, jenis data yang dikumpulkan adalah data primer, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengamatan oleh peneliti. Data primer yang diperoleh berupa hasil pengamatan motilitas sperma pada kelompok kontrol dan penyimpanan suhu 4°C, 25°C, dan 37°C.

2. Cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data yang dilakukan adalah pengukuran secara mikroskopis dengan pembuatan preparat basah. Pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian kali ini adalah melihat pergerakan spermatozoa.

3. Instrument pengumpulan data

a. Alat

1. Pot sperma 8 buah (bermulut lebar dan berulir yang terbuat dari kaca).
2. Gelas ukur 10 ml 3 buah, digunakan untuk mengukur volume sperma yang diejakulasikan subjek.

3. Mikropipet 50 μ l 1 buah, digunakan untuk memipet sampel pada objek glas sebagai preparat.
4. Objek glass dan cover glass 1 kotak, objek glass berguna sebagai tempat dibuatnya preparat dan cover glass sebagai penutup karena preparat yang dibuat adalah preparat basah.
5. Mikroskop binokuler 1 buah, digunakan untuk melakukan analisis secara mikroskopis pergerakan spermatozoa.
6. Inkubator laboratorium 1 buah, digunakan untuk memberikan perlakuan terhadap sampel yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam.
7. Refrigerator 1 buah, digunakan untuk memberikan perlakuan terhadap sampel yang diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 jam.
8. Timer 1 buah, digunakan untuk mengukur waktu perlakuan yang diberikan terhadap sampel pada suhu tertentu.
9. Thermometer ruangan 1 buah, digunakan untuk mengontrol suhu 25°C saat dilakukan inkubasi sampel.

4. Prosedur pemeriksaan

a. Persiapan subjek

Subjek diwajibkan melakukan puasa mengeluarkan sperma selama 3-7 hari. Prosedur pengambilan dan penampungan sampel harus diinformasikan secara jelas dan tertulis.

b. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di ruang tertutup dengan cara melakukan masturbasi tanpa menggunakan kondom. Koitus interruptus juga tidak dianjurkan lagi karena ejakulat pertama yang tinggi konsentrasi sperma kemungkinan

tertinggal di dalam vagina, selain itu pH asam vagina dapat mempengaruhi motilitas sperma dan sperma juga dapat terkontaminasi sel vagina dan bakteri (Cheesbrough, 2006).

c. Penampungan sampel

Ejakulat sperma di tampung pada pot sperma yang bersih dan terbuat dari kaca. Setelah sampel ditampung semua didalam pot sperma dilakukan pencatatan waktu untuk proses liquefasi dan dilakukan labeling sesuai identitas subjek, setelah sampel sperma melewati fase liquefasi 15 – 20 menit.

d. Uji motilitas sperma

Cairan sperma yang telah melewati fase liquefasi dilakukan pemeriksaan motilitas sperma dengan cara dipersiapkan alat dan bahan yang diperlukan terlebih dahulu, sampel sperma dibagi kedalam 4 tabung reaksi. Pada tabung reaksi 1 dipipet 50 μ l sampel sperma dan diteteskan pada objek glass dan dihomogenkan dengan meratakan sperma menggunakan pipet, kemudian ditutup dengan cover glass. Dibiarkan selama 30 detik dan dibaca dibawah mikroskop dengan pembesaran 40x. Selanjutnya tabung 2, 3 dan 4 diberi perlakuan dengan masing-masing suhu 4°C, 25°C, dan 37°C selama 1 jam.

e. Perhitungan motilitas sperma

Penilaian motilitas sperma dilakukan pada 200 spermatozoa dan dikelompokkan kedalam PR (*Progresif*), NP (*Non Progresif*), IM (*Immotyl*) lalu disajikan dalam bentuk persentase. Rumus yang digunakan dalam perhitungan motilitas sperma adalah :

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

- % = Persentase Motilitas Sperma
N = Jumlah sel sperma hidup
T = Jumlah sel sperma total yang dihitung

E. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data-data yang diperoleh selanjutnya akan disajikan dalam bentuk tabel dan tekstular, kemudian dianalisis dengan uji statistika dengan menggunakan perangkat lunak komputer.

2. Analisis data

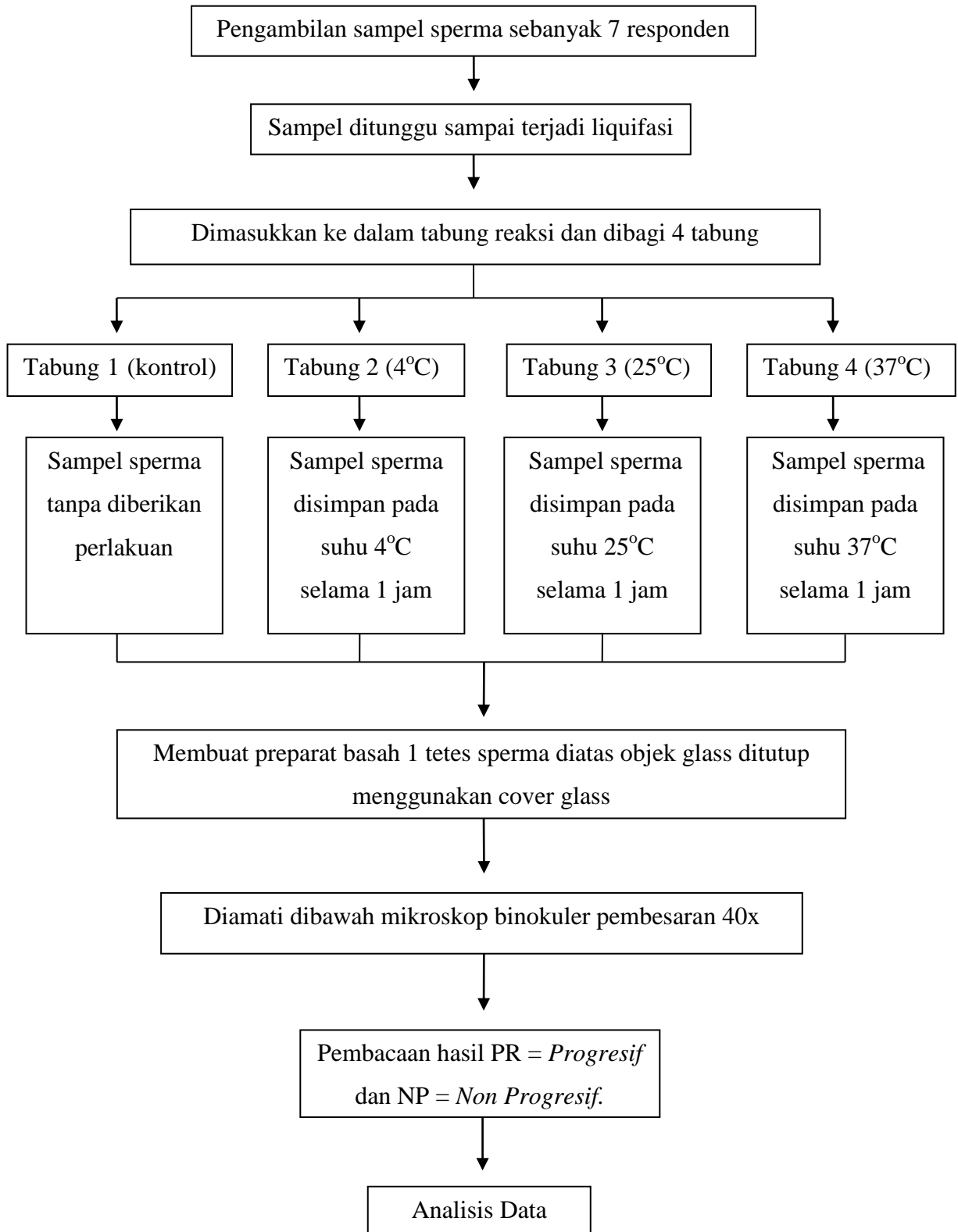
Data yang diperoleh, kemudian dianalisis untuk menguji hipotesis :

- a. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menganalisis data yang diperoleh berdistribusi normal atau tidak.
- b. Data yang dianalisis berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*, uji ini digunakan untuk mengetahui perbedaan motilitas sperma kontrol dan sesudah disimpan pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Hasil uji menunjukkan perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Least Significantly Difference (LSD)*.

F. Prosedur Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *eksperimen* dengan menggunakan rancangan *Posttest Only Control Grup Design*. Eksperimen yang dilakukan yaitu

pemeriksaan motilitas sperma, dimana populasi sampel yang digunakan adalah mahasiswa laki-laki Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar. Dengan menggunakan 7 sampel dan memberikan perlakuan suhu 4°C, 25°C, dan 37°C disimpan selama 1 jam. Sperma yang langsung diperiksa setelah terjadinya liquifasi adalah *kontrol*, sedangkan sperma yang diperiksa setelah liquifasi dan diberikan perlakuan disimpan pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C disimpan selama 1 jam adalah *post test*. Motilitas sperma diperiksa untuk melihat kemampuan gerak sperma yang diamati pada 200 spermatozoa, dengan melihat pergerakan PR = *Progresif* dan NP = *Non Progresif*.



Gambar 4. Alur Penelitian Motilitas Sperma

