

**PERBANDINGAN KUALITAS HASIL PEWARNAAN
MORFOLOGI SPERMATOZOA MENGGUNAKAN EKSTRAK
UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas L.*) DAN PAPANICOLAOU**

PROPOSAL PENELITIAN

**Diajukan dalam Seminar Usulan Penelitian yang akan digunakan dalam
penyusunan KTI pada Program Studi D-III Analis Kesehatan Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Karsa Husada Garut**

ADINDA PUTRI RAMADHAN KOMALASARI

NIM KHGE 20008



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARSA HUSADA GARUT

PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN

2023

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL : PERBANDINGAN KUALITAS HASIL PEWARNAAN MORFOLOGI SPERMATOZOA MENGGUNAKAN EKSTRAK UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas L.*) DAN PAPANICOLAOU

NAMA : ADINDA PUTRI RAMADHAN KOMALASARI

NIM : KHGE 20008

PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH

Proposal ini telah disetujui untuk diseminarkan di hadapan
Tim Penguji Program Studi D-III Analis Kesehatan

Garut, April 2023

Menyetujui,

Pembimbing



Mamay, S.Pd., M.Si

LEMBAR PEGESAHAN

JUDUL : PERBANDINGAN KUALITAS HASIL PEWARNAAN
MORFOLOGI SPERMATOOZA MENGGUNAKAN
EKSTRAK UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas L.*) DAN
PAPANICOLAOU
NAMA : ADINDA PUTRI RAMADHAN KOMALASARI
NIM : KHGE 20008

PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH

Proposal Karya Tulis ini telah diujikan pada seminar Proposal Karya Tulis Ilmiah
Program Studi DIII Analis Kesehatan STIKes Karsa Husada Garut

Garut, Juni 2023

Menyetujui,

Penguji I



Sri Yekti W, S.Kp., M.Kep

Penguji II



Astari Nurisani, S.Tr., M.Kes

Mengetahui,

Ketua Prodi D-III Analis Kesehatan



M. Hadi Sulhan, S.Si., M.Sc

Mengesahkan,

Pembimbing



Mamay, S.Pd., M.Si

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas nikmat dan karunia-Nya penyusun dapat menyelesaikan Proposal Penelitian ini dengan judul “Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa Menggunakan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan Papanicolaou”, sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Program Diploma III di Program Studi Analisis Kesehatan STIKes Karsa Husada Garut.

Dalam penyusunan proposal penelitian ini, penyusun banyak mengalami hambatan dan kesulitan, namun berkat dukungan, bantuan, bimbingan, dan pengarahan dari berbagai pihak akhirnya penyusun dapat menyelesaikan proposal Karya Tulis Ilmiah ini. Untuk itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada

1. Allah SWT, yang memberikan Rahmat dan Nikmat-Nya sehingga bisa mencapai saat ini.
2. Bapak Dr. H. Hadiat, MA selaku Ketua Pembina Yayasan Dharma Husada Insani Garut.
3. Bapak Drs. H. Suryadi, M.Si, selaku Ketua Pengurus Yayasan Dharma Husada Insani Garut.
4. Bapak H. Engkus Kusnadi, S.Kep., M.Kes., selaku Ketua STIKes Karsa Husada Garut.
5. Bapak Muhammad Hadi Sulhan, S.Si, M.Sc selaku Ketua Program Studi DIII Analisis Kesehatan.

6. Ibu Mamay, S.Pd., M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan proposal penelitian.
7. Ibu Sri Yekti W, S.Kp., M.Kep dan Ibu Astari Nurisani, S.Tr., M.Kes selaku dosen penguji.
8. Seluruh Dosen Pengajar Program Studi DIII Analis Kesehatan yang telah memberi ilmu pengetahuan selama hampir 3 tahun ini.
9. Orang tua dan keluarga besar yang selalu menyemangati saya.
10. Rekan-rekan seperjuangan kelas 3A, rekan satu pembimbing yang telah memberikan semangat serta memberikan saran-saran yang bermanfaat bagi penulis.

Penulis sangat sadar bahwa Proposal Karya Tulis Ilmiah ini jauh dari kata sempurna, oleh karena penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun serta bermanfaat guna perbaikan pada penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhir kata penyusun menyampaikan permohonan maaf dari segala kekurangan dalam penyusunan laporan ini, semoga Proposal Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat khususnya untuk penyusun dan umumnya untuk para pembaca.

Garut, Juni 2023

ADINDA PUTRI R.K
KHGE 20008

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tinjauan Pustaka	5
2.1.1 Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas L.</i>)	5
2.1.2 Infertilitas	8
2.1.3 Spermatozoa.....	9
2.1.4 Ekstraksi.....	20
2.1.5 Metode Pewarnaan Dengan Pewarna Alami	21
2.1.6 Pewarnaan Papanicolaou.....	22
2.2. Kerangka Pemikiran	23
2.3. Hipotesis	24
BAB 3 METODELOGI PENELITIAN	25
3.1 Desain Penelitian	25
3.2 Variabel Penelitian	25
3.3 Definisi Operasional	25
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	26
3.4.1 Populasi.....	26
3.4.2 Sampel.....	26
3.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	27
3.6 Instrumen Penelitian	27
3.6.1 Alat	27
3.6.2 Bahan	27
3.7 Cara Pengumpulan Data.....	27
3.7.1 Prosedur Pengumpulan Sampel	27
3.7.2 Prosedur Pembuatan Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	28
3.7.3 Prosedur Pewarnaan Morfologi Spermatozoa	28
3.7.4 Penilaian Kualitas Pewarnaan Spermatozoa	29
3.8 Analisis Data	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Definisi Operasional	25
---	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.).....	5
Gambar 2.2 Spermatozoa	10
Gambar 2.3 Struktur Normal Spermatozoa	16
Gambar 2.4 Bentuk Abnnormal Kepala dan Ekor Spermatozoa.....	18
Gambar 2.5 Kerangka Pemikiran	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rencana Jadwal Penelitian

Lampiran 2 Biaya Penelitian

Lampiran 3 *Informed Consent*

Lampiran 4 Surat Pernyataan Persetujuan Untuk Ikut Serta Dalam Penelitian

Lampiran 5 Kuisisioner

Lampiran 6 Lembar Bimbingan

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infertilitas merupakan masalah yang dialami oleh 11-15% pasangan, dimana infertilitas pada laki-laki menjadi faktor utama yang berkontribusi pada 50% pasangan (Agrawal, 2020). Untuk mengevaluasi infertilitas pada faktor pria dapat dilakukan dengan analisis atau pemeriksaan cairan semen (Chang *et al.*, 2017). Pemeriksaan cairan semen adalah standar perawatan untuk mengevaluasi status kesuburan pada seorang pria, yang mencakup pada pemeriksaan penentuan volume, pH, warna, viskositas, waktu pencairan jumlah sel bulat, jumlah total sperma, konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma normal (Barbarosie *et al.*, 2020). Pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan pewarnaan sel sperma dengan berbagai teknik untuk memudahkan visualisasi sel sperma. Selain itu, pewarnaan sperma memperlihatkan dengan jelas kelainan morfologi sperma dibawah mikroskop (Fojas *et al.*, 2020).

Pedoman pemeriksaan *World Health Organization* atau WHO menjadi referensi atau Gold Standar pemeriksaan untuk mengevaluasi kelainan bentuk sperma. Terdapat dua pewarnaan yang yang direkomendasikan WHO yaitu *Papanicolaou* dan pewarnaan *Diff-Quik* (WHO, 2010). Beberapa metode lain yang dapat digunakan untuk mengevaluasi morfologi sperma adalah Eosin dan Nigrosin (Kondracki *et al.*, 2017), AgNO₃ (Andraszek *et al.*, 2018), dan *Giemsa* (Linggapa *et al.*, 2015). Namun, penggunaan zat pewarna sintesis ini dapat berbahaya bagi lingkungan dan sumber air karena sukar terurai (Bordoloi *et al.*, 2017).

Saat ini penggunaan zat warna sudah semakin luas, menurut asalnya zat warna terdiri dari zat warna alami dan zat warna sintetis (Khairiyah, 2021). Pewarna sintetis dilaporkan melepaskan pewarna berbahaya yang berpotensi menyebabkan alergi, yang dapat bersifat karsinogenik dan merugikan kesehatan manusia. (Bassey, Osinubi and Oremosu, 2012)

Pewarna alami ramah lingkungan memiliki nilai yang lebih ekonomis dan dapat digunakan sebagai pengganti pewarna sintesis untuk tujuan pemeriksaan (Chomean *et al.*, 2019). Beberapa penelitian telah mengungkapkan potensi pewarna alami untuk studi histologis. Pewarnaan jaringan dapat menggunakan *saffron* (Bathaie *et al.*, 2014), curcumin (Robert dan Horobin, 2017). Studi morfologi sperma menggunakan *mulberry*, *safflower* (Ebrahimi dan Parham, 2020), naga merah (Fojas *et al.*, 2020), beras merah, bunga telang, bunga rosella dan murbei (Chomean *et al.*, 2019). Dari semua bahan pewarna alami yang digunakan terdapat suatu zat yang berfungsi untuk memberikan warna yaitu antosianin.

Antosianin adalah pigmen atau zat warna yang terkandung dalam buah, bunga, daun, batang dan akar suatu tanaman. Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid yang pada umumnya larut air (Novrianti, 2017). Antosianin pada bagian-bagian tanaman dapat menghasilkan warna yang beragam, seperti orange, merah, magenta, ungu, dan biru. Perbedaan warna ini tergantung dari tingkat keasaman (pH) pada lokasi dimana pigmen itu berada (Irawati dan Mardiana, 2018).

Zat warna alami (pigmen) adalah zat warna yang terdapat dalam tanaman maupun hewan. Penggunaan zat warna sering dilakukan pada makanan dan minuman juga pada bidang kesehatan khususnya di bidang laboratorium (Khairiyah, 2021). Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas poiret*) dapat dijadikan pewarna alami karena disebabkan oleh adanya pigmen antosianin yang tersebar dari bagian kulit sampai ke daging umbinya. Kandungan antosianin yang tinggi pada ubi jalar ungu mempunyai stabilitas yang tinggi di banding antosianin dari sumber lain (Husna *et al.*, 2013).

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa Menggunakan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan *Papanicolaou*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan *Papanicolaou* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka tujuan penelitian iini adalah untuk mengetahui perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan *Papanicolaou*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka tujuan penelitian ini yaitu:

- 1). Mengetahui kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*).
- 2). Mengetahui kualitas hasil pewarnaan spermatozoa morfologi spermatozoa menggunakan *Papanicolaou*.
- 3). Mengetahui Perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan *Papanicolaou*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terutama dalam bidang mikrobiologi dan kimia klinik mengenai perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi laboratorium dalam mengimplementasi pengetahuan tentang kualitas pewarnaan sediaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L)

a. Definisi

Tanaman ubi jalar berasal dari Amerika bagian Tengah dan pada tahun 1960-an ubi jalar menyebar dan ditanam di hampir seluruh wilayah Indonesia. Ubi jalar ungu merupakan salah satu ubi jalar yang banyak ditemui di Indonesia selain berwarna putih, kuning dan merah. Karakteristik ubi jalar ungu: kulit dan daging ubi berwarna ungu kehitaman. Ubi jalar ungu memiliki warna ungu cukup pekat dan menarik perhatian. Warna ungu pada ubi jalar disebabkan oleh adanya pigmen ungu antosianin menyebar dari bagian kulit sampai pada daging ubinya (Santoso dan Estiasih, 2014).

Ubi jalar termasuk tanaman tropis yang dapat tumbuh di daerah sub tropis. Ubi jalar mempunyai nama botani *Ipomoea batatas* L. Tergolong famili convolvulaceae (suku kangkung-kangkungan) yang terdiri dari tidak kurang 400 galur (spesies) (Koswara, 2014).



Gambar 2.1 Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L)
Sumber : (Sakura Haruno, 2019)

b. Taksonomi Ubi Jalar Ungu

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Convolvulales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: Ipomoea
Spesies	: <i>Ipomoea batatas</i> L.

c. Morfologi Tanaman

Pada umumnya ubi jalar dibagi dalam dua golongan yaitu ubi jalar yang berumbi keras (karena banyak mengandung pati) dan ubi jalar yang berumbi lunak (karena banyak mengandung air). Ubi jalar ada yang berwarna putih, merah kekuningan, krem, jingga atau ungu dan lain-lain. (Koswara, 2014). Ubi Jalar berbatang lunak, tidak berkayu, berbentuk bulat dan bagian tengah bergabus.

Batang ubi jalar beruas ruas dan panjang ruas antara 1-3 cm, setiap ruas ditumbuhi daun dan tunas cabang. Panjang batang utama tergantung pada varietasnya, yaitu 2-3 m untuk varietas ubi jalar merambat dan 1-2 m untuk varietas ubi jalar yang tidak merambat. Daun ubi jalar ada yang berbentuk bulat hati, bulat lonjong dan bulat runcing, tergantung pada varietasnya. Daun ubi jalar yang berbentuk bulat hati memiliki tepi daun rata, berlekuk dangkal atau menjari (Khairiyah, 2021)

Daun ubi jalar yang berbentuk bulat lonjong memiliki tepi daun rata, berlekuk dangkal atau berlekuk dalam. Bunga tanaman ubi jalar berbentuk terompet yang panjangnya 3-5 cm dan lebar bagian ujung antara 3-4 cm. Mahkota bunga berwarna ungu keputih-putihan dan bagian dalam mahkota bunga berwarna ungu muda. Kepala putik melekat pada bagian ujung tangkai putik. Tangkai putik dan kepala putik berada di atas bakal buah. Tangkai bunga tumbuh di ketiak daun. Buah ubi jalar berkotak 3, di dalam buah banyak berisi biji-biji. Bentuk umbi dari tanaman ubi jalar ada yang berbentuk bulat, lonjong dan panjang (Koswara, 2014).

d. Kandungan Antosiani Ubi Jalar Ungu

Antosianin merupakan pigmen larut air secara alami terdapat pada berbagai jenis tumbuhan. Pigmen ini memberikan warna pada bunga, buah dan daun tumbuhan hijau dan telah banyak digunakan sebagai pewarna alami pada berbagai produk. Antosianin merupakan sub-tipe senyawa organik dari keluarga flavonoid. Beberapa senyawa antosianin paling banyak ditemukan adalah pelargonidin, peonidin, sianidin, malvidin, petunidin dan delphinidin (Hambali *et al*, 2014).

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* poiret) dapat dijadikan pewarna alami karena disebabkan oleh adanya pigmen antosianin yang tersebar dari bagian kulit sampai ke daging umbinya. Kandungan antosianin yang tinggi pada ubi jalar ungu mempunyai stabilitas yang tinggi di banding antosianin dari sumber lain. Antosianin merupakan metabolit sekunder golongan flavonoid dan polifenol yang dapat berperan sebagai antioksidan. (Husna *et*

al., 2013). Tanaman ubi jalar ungu memiliki kadar antosianin yaitu 31,16 mg/100 g umbi (Susmiyanto *et al.*, 2013).

2.1.2 Infertilitas

Infertilitas atau ketidak suburan merupakan ketidakmampuan pasangan usia subur (PUS) untuk memperoleh keturunan setelah melakukan hubungan seksual secara teratur dan benar tanpa usaha pencegahan lebih dari satu tahun (Andhyantoro dan Kumalasari, 2012). Infertilitas atau ketidaksuburan merupakan masalah umum yang mempengaruhi sekitar 10-15% pasangan. Sepertiga masalah infertilitas pada pasangan terkait dengan organ reproduksi pria. Infertilitas pada pria adalah kondisi kelemahan pria untuk membuat pasangan wanitanya hamil. Selama ini wanita seringkali dianggap sebagai penyebab pasangan suami istri sulit untuk memiliki momongan. Ternyata, berdasarkan penelitian dari organisasi kesehatan dunia (WHO), 11-15% pasangan sulit memiliki keturunan disebabkan oleh faktor infertilitas dari suami (Triwani, 2013).

Berbagai kelainan mulai dari gangguan hormonal, masalah fisik hingga masalah psikologis diketahui bisa menyebabkan infertilitas pada pria. Meskipun banyak pilihan pengobatan namun banyak kasus tidak dapat diatasi. Kebanyakan kasus infertilitas pria disebabkan oleh kerusakan testis yang berujung pada ketidakmampuan testis untuk memproduksi sperma (Irvine, 1998). Pemeriksaan analisis sperma sangat penting dilakukan pada awal kunjungan pasutri dengan masalah infertilitas, karena dari berbagai

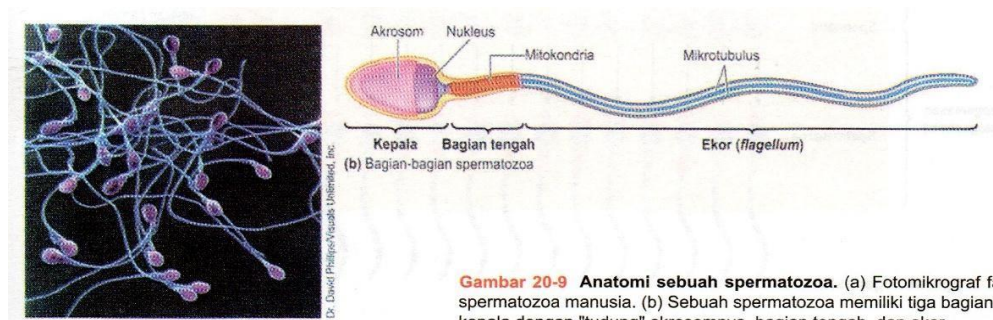
penelitian menunjukkan bahwa faktor lelaki turut memberikan kontribusi sebesar 40% terhadap kejadian infertilitas (Winkjosastro, 2011).

2.1.3 Spermatozoa

a. Definisi Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel sperma laki-laki yang berfungsi dalam proses fertilisasi. Tidak seperti kebanyakan sel yang membentuk organisme multiseluler, sel sperma terdiri atas kepala sperma dan satu buah ekor sperma yang memungkinkan sel sperma dapat bergerak secara bebas. Pada bagian kepala, sel sperma mengandung sedikit sitoplasma dan padat akan kromosom. Seperti sel kelamin lainnya, sel sperma bersifat haploid dan mengandung setengah kromosom khas dari spesies tersebut (Chu, 2013).

Spermatozoid (spermatozoa) atau sel sperma adalah sel dari sistem reproduksi pria. Sel sperma memiliki jenis kelamin jantan dan betina. Spermatozoid terdiri atas kepala yang berukuran $5\ \mu\text{m} \times 3\ \mu\text{m}$ dan ekor sepanjang $50\ \mu\text{m}$. Sperma berbentuk seperti kecebong, dan terbagi menjadi 3 bagian utama yaitu: kepala, leher dan ekor. Kepala berbentuk lonjong agak gepeng berisi inti (*nucleus*). Bagian leher menghubungkan kepala dengan bagian tengah. Sedangkan ekor berfungsi untuk bergerak maju, panjang ekor sekitar 10 kali bagian kepala (Richardo, Tomuka and Kristanto, 2014)



Gambar 2.2 Spermatozoa
Sumber : (Sherwood, 2016)

b. Pemeriksaan Spermatozoa

Semua spesimen semen merupakan reservoir yang potensial untuk virus HIV dan hepatitis, dan tindakan pencegahan standar harus diamati setiap saat selama analisis. Spesimen dibuang sebagai limbah biohazard. Analisis semen untuk evaluasi fertilitas terdiri dari pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Parameter yang dilaporkan meliputi penampilan, volum, viskositas, pH, konsentrasi dan jumlah sperma, motilitas, dan morfologi (Strasinger dan Lorenzo. 2014).

Pemeriksaan cairan semen adalah standar perawatan untuk mengevaluasi status kesuburan pada seorang pria, yang mencakup pada pemeriksaan penentuan volume, Ph, warna, viskositas, waktu pencairan jumlah sel bulat, jumlah total sperma, konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma normal (Barbarosie *et al.*, 2020). Pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan pewarnaan sel sperma dengan berbagai teknik untuk memudahkan visualisasi sel sperma. Selain itu, pewarnaan sperma memperlihatkan dengan jelas kelainan morfologi sperma dibawah mikroskop (Fojas *et al.*, 2020).

1) Pemeriksaan Makroskopis

Pemeriksaan makroskopis semen merupakan pemeriksaan awal melalui pengamatan fisik sampel. Pengamatan dilakukan pada suhu kamar, dimana penilaian pada volume , pH, waran, bau, likuefaksi, dan viskositas atau konsistensi (Robicahyaadi, 2018).

a) Volume

Volum semen yang normal berkisar antara 2 dan 5 ml. Hal tersebut dapat diukur dengan menuangkan spesimen ke dalam silinder bersih yang dikalibrasi dalam skala volume 0,1 ml. Peningkatan volum dapat dilihat setelah periode abstinensia yang lama. Penurunan volum lebih sering berhubungan dengan terjadinya infertilitas dan mungkin menunjukkan fungsi yang tidak baik dari salah satu organ penghasil semen, terutama vesikula seminalis. Pengambilan spesimen yang tidak lengkap juga harus dipertimbangkan (Strasinger dan Lorenzo. 2014, WHO. 2010, Oka. 1998, Gandosoebata. 2016).

b) pH

Pengukuran dilakukan dengan kertas pH atau lakmus. pH harus diperiksa dalam waktu 1 jam setelah ejakulat. Semen yang terlalu lama akan berubah pH nya. pH normal semen bersifat basa dengan rentang 7,2 hingga 8,0. Peningkatan pH menunjukkan infeksi di dalam saluran reproduksi (Robicahyaadi, 2018).

c) Warna Sperma

Warna spermatozoa normal adalah putih keabuan atau putih mutiara agak keruh. Pada keadaan *Azoospermia* atau *Oligospermia* sperma akan berwarna putih jernih, warna putih, jernih inilah yang sering ditafsirkan sebagai mani encer. Apabila didapatkan sel eritrosit maka sperma akan berwarna kecoklatan atau merah tua, hal ini disebabkan hemoglobin dalam kasus hemospermia (Robicahyaadi, 2018).

d) Bau Sperma

Spermatozoa mempunyai bau khas, seperti bunga akasia. Semen dapat berbau lain seperti amis, busuk dapat dicurigai adanya leukosit (infeksi) atau sebab sebab lain seperti parasit (Robicahyaadi, 2018).

e) Likuefaksi

Semen ejakulat akan mengalami proses koagulasi (terbentuknya koagulum) yang disebabkan oleh protein-protein yang dihasilkan oleh kelenjar vesika seminalis. Semen normal pada suhu ruang akan mengalami pencairan (likuefaksi), menjadi homogen dalam waktu 60 menit. Jika sampel sperma yang tidak mengalami likuefaksi setelah 24jam maka dapat ditambahkan bromerelin atau plasmin agar sampel semen dapat segera mengalami pencairan dengan segera. Proses penambahan bahan-bahan tersebut belum diketahui dengan jelas apakah mempengaruhi fungsi spermatozoa atau biokimia plasma semen (Robicahyaadi, 2018).

f) Viskositas (Konsistensi)

Viskositas spesimen mengacu pada konsistensi cairan dan mungkin berhubungan dengan likuifaksi spesimen. Spesimen yang mengalami likuifaksi secara tidak lengkap bersifat menggumpal dan sangat kental. Spesimen semen yang normal harus mudah ditarik ke dalam pipet dan membentuk tetesan kecil yang tidak tampak menggumpal atau berserabut ketika jatuh dari pipet akibat gravitasi (Strasinger dan Lorenzo. 2014, WHO. 2010).

Tetesan yang membentuk benang lebih panjang dari 2 cm dianggap sangat kental dan dicatat sebagai abnormal. Derajat 0 (cair) hingga 4 (seperti gel) dapat ditetapkan untuk laporan viskositas. Viskositas juga dapat dilaporkan sebagai rendah, normal, atau tinggi. Peningkatan viskositas dan likuefaksi yang tidak sempurna dapat menghambat pemeriksaan motilitas sperma, konsentrasi sperma, deteksi antibodi antisperma, dan pengukuran marker biokimia (Strasinger dan Lorenzo. 2014, WHO. 2010).

2) Pemeriksaan Mikroskopis

Meskipun fertilisasi dapat dicapai oleh satu spermatozoa, jumlah sperma yang sebenarnya dalam spesimen semen merupakan ukuran fertilitas yang valid. Berbagai faktor dapat memengaruhi konsentrasi sperma, seperti jangka waktu abstinensia seksual sebelum pengumpulan spesimen, infeksi, atau stres. Oleh karena itu, lebih dari satu spesimen semen harus dievaluasi untuk pemeriksaan infertilitas. Nilai referensi untuk konsentrasi sperma biasanya dinyatakan sebagai lebih besar dari 20 hingga

250 juta sperma per mililiter. Konsentrasi antara 10 dan 20 juta per mililiter dianggap garis batas (*borderline*). Jumlah sperma total untuk ejakulasi dapat dihitung dengan mengalikan konsentrasi sperma dengan volum spesimen. Jumlah sperma total lebih dari 40 juta per ejakulasi dianggap normal (20 juta per mililiter $\times$ 2 mL) (Strasinger dan Lorenzo. 2014, WHO. 2010).

1. Motilitas

Motilitas sperma adalah kemampuan sperma dalam bergerak dengan tepat menuju sel telur. Sperma yang tidak bergerak dengan baik tidak akan mampu mencapai sel telur dalam proses fertilisasi. Penilaian motilitas dapat dilakukan dengan cara satu tetes semen (10-15 μ L) ditetaskan dengan mikro pipet pada kaca obyek dan ditutup dengan kaca penutup kemudian preparat diperiksa dibawah mikroskop pada pembesaran 400X dengan beberapa lapang pandang (4-6 LPB). Berat dari kaca penutup akan menyebabkan tersebarnya sampel secara merata untuk memberikan pengamatan yang optimal. Preparat basah ini dibiarkan selama 1 menit pada suhu kamar (18-24oC), diluar suhu ini sperma akan terjadi motilitas (Robicahyaadi, 2018).

Gerak spermatozoa yang baik adalah gerak kedepan dan arahnya lurus, gerak yang kurang baik adalah gerak zig-zag, berputar-putar dan lain-lain (Gandosoebrata, 2016).

2. Vitalitas

Pemeriksaan vitalitas sperma dilakukan untuk melengkapi pemeriksaan motilitas sperma. Banyaknya sel sperma yang Immotil

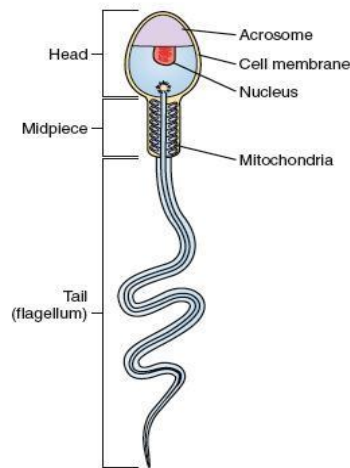
dikonfirmasi dengan uji vitalitas sperma untuk melihat persentase sel sperma yang hidup dan mati. Pemeriksaan vitalitas sperma dilakukan dengan membuat preparat basah. Preparat basah dibuat dengan memipet 50µl sampel sperma dan ditambahkan dengan eosin 0,5% sebanyak 50µl. Penambahan eosin bertujuan untuk mewarnai sel sperma secara supravital. Preparat yang sudah jadi diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40x. Sel sperma yang hidup akan ditunjukkan dengan sel yang tidak terwarnai eosin 0,5% dan sperma yang mati ditunjukkan dengan sel yang terwarnai eosin (Cheesbrough, 2006).

3. Morfologi Sperma

Morfologi sperma dievaluasi berdasarkan dengan adanya struktur kepala, leher (*neckpiece*), badan (*midpiece*), dan ekor. Abnormalitas pada morfologi kepala berhubungan dengan penetrasi ovum yang buruk, sedangkan abnormalitas pada leher, badan, dan ekor mempengaruhi motilitas (Strasinger dan Lorenzo. 2014, WHO. 2010).

Sperma yang normal memiliki kepala berbentuk oval dengan panjang sekitar 5 µm dan lebar 3 µm dan memiliki satu ekor flagel dengan panjang 45 µm. Struktur penting untuk penetrasi pada ovum adalah tudung akrosom yang mengandung enzim yang terletak di ujung kepala sperma. Tudung akrosom harus mencakup kira-kira setengah dari kepala sperma dan menutupi kira-kira dua pertiga dari nukleus sperma. Leher melekat pada ekor dan badan. Badan memiliki panjang kira-kira 7,0 µm dan merupakan bagian paling tebal dari ekor karena dikelilingi oleh selubung mitokondria

yang menghasilkan energi yang dibutuhkan oleh ekor untuk motilitas (Strasinger dan Lorenzo. 2014, WHO. 2010).



Gambar 2.3 Struktur Normal Spermatozoa
Sumber : (Strasinger dan Lorenzo, 2014).

a. Kepala

Bentuk oval atau bulat telur dengan ukuran panjang x lebar : 5 x 3 μm dan lebarnya 2,5 – 3,5 μm (Batasan WHO). Panjang kepala > 5 μm dimasukan kedalam bentuk makro jika <5 μm dimasukan kedalam bentuk mikro, sedangkan jika lebar kepala >3 μm dimasukan kedalam bentuk makro (gemuk). Rasiopanjang : lebar = 1,50 : 1,75 (Robicahyaadi, 2018).

Daerah akrosom merupakan daerah diujung kepala yang berwarna jernih, tidak mengandung organela-organela dan meliputi sekitar 40 – 70 % dari luas kepala, berbatas tegas dengan bagian belakang akrosom berupa garis lengkung sesuai dengan permukaan ujung kepala. Kelainan pada akrosom meliputi ukuran yaitu lebih kecil <40 %, bentuknya tidak teratur, mengandung kromatin, vakuola, bersepta. Kondensasi kromatin biasanya terletak di daerah

belakang akrosom, merupakan daerah yang berwarna lebih gelap dan tampak homogen. Kelainan yang terjadi dapat berupa kelompok butir – butir kromatin atau benang- benang kromosom yang tersebar ataupun mengelompok disatu atau beberapa tempat di kepala (Robicahyaadi, 2018).

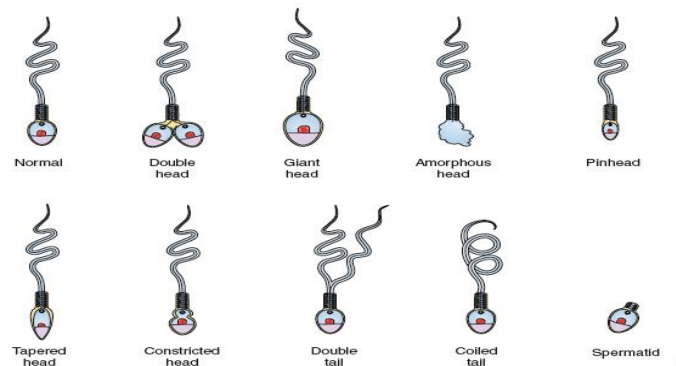
b. Leher

Leher merupakan bagian yang menghubungkan kepala dengan ekorspermatozoa. Leher terdiri dari susunan lipid, kalium, kalsium, besi, Cu, fosfat dan *sulphidril* serta disulfida dan kolesterol. Leher mempunyai ukuran terpendek atau sempit, yaitu dengan panjang 1 – 2 μm lanjutan dari kepala, termasuk basis flagelum, cekungan inti, keping penghubung dengan *sentriol proksimal* dan *distal* (badan basal *flagelum*). Bagian leher yang sangat pendek ini maka kelainan yang terjadi disatukan dengan kelainan di *midpiece* (Robicahyadi, 2018).

c. Ekor

Panjang ekor 9 sampai 10 kali panjang kepala dengan bentuk lurus memanjang dari kepala atau membentuk alur gelombang. Ekor dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu *middle piece* yang berdekatan dengan leher, panjang 10 μm mengelilingi sepasang tubulus central. Pada keadaan normal, leher dan *midpiece* berada dalam satu sumbu dengan sumbu panjang kepala. *Principal piece* yaitu bagian utama dengan panjang 40 – 45 μm , merupakan bagian yang terpanjang dengan serabut *fibrus*. *End piece* yaitu bagian terminal dengan panjang sekitar 2 5 μm , pada bagian ujung sudah tidak ada lagi serabut *vibrus* dan susunannya seperti silia biasa. Kelainan pada ekor dapat berupa kelainan

dalam struktur, jumlah dan gangguan dalam perkembangannya. Kelainan itu terjadi di *midpiece*, *principal piece* dan *end piece* (Robicahyaadi, 2018).



Gambar 2.4 Bentuk Abnormal Kepala dan Ekor Spermatozoa
Sumber : (Strasinger dan Lorenzo, 2014).

Abnormalitas yang diidentifikasi secara rutin dalam struktur kepala meliputi kepala ganda, kepala besar dan amorf, kepala berbentuk seperti jarum, kepala meruncing, dan kepala sempit. Ekor sperma abnormal yang sering ditemui adalah ekor ganda, menggulung, atau menekuk. Leher panjang yang abnormal dapat menyebabkan kepala sperma menekuk ke belakang dan mengganggu motilitas (Strasinger dan Lorenzo. 2014).

c. Kelainan Pada Sperma

1. Azoospermia

Azoosperma adalah sebuah kondisi medis dimana tidak ditemukan sperma pada semen. Terdapat berbagai penyebab azoosperma seperti gangguan hormon, bahkan gangguan genetik. Pada pemeriksaan sperma, tidak terlihat sel sperma yang memadai (P, 2019)

2. Oligozoosperma

Oligozoosperma adalah keadaan dimana cairan sperma hanya mengandung sedikit sel sperma. Hal ini akan berdampak pada infertilitas pria. Konsentrasi sperma di bawah 20 juta sperma/ml dapat dikatakan oligozoosperma. Pada keadaan yang berat jumlah sperma dibawah 5 juta sperma/ml (P, 2019).

3. *Asthenozoosperma*

Asthenozoosperma adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan adanya penurunan motilitas sperma. Sperma yang baik adalah sperma yang dapat bergerak dengan cepat dan lurus ke depan. Namun apabila terdapat gangguan morfologi sperma, maka akan menyebabkan kecepatan pergerakan sperma menurun (P, 2019).

4. *Teratozoosperma*

Teratozoosperma adalah keadaan dimana bentuk sperma tidak normal. Penyebab dari keadaan ini tidak diketahui pada sebagian besar kasus. Namun keadaan *Teratozoosperma* dikaitkan dengan penyakit *Hodgkin's*, penyakit *coeliac* dan penyakit *Crohn*. Bentuk sperma yang tidak normal dapat menyebabkan penurunan motilitas sperma dan mencegah masuknya sperma ke sel ovum (P, 2019)

5. *Hypospermia*

Hypospermia adalah keadaan medis dimana seorang pria memiliki jumlah cairan sperma yang sedikit, yaitu 1.5 ml. Bedakan dengan oligozoosperma yang berarti konsentrasi sperma yang rendah. Keadaan ini

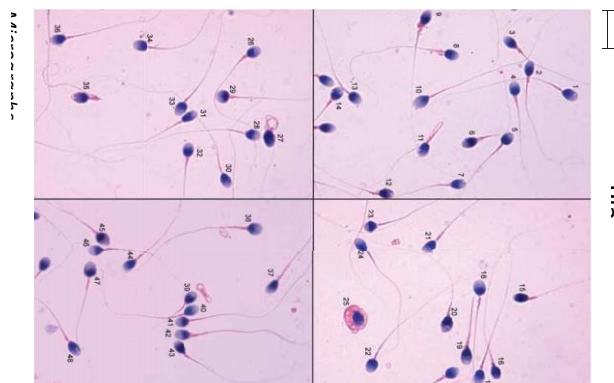
tidak menyebabkan infertilitas, namun jika jumlah cairan sperma diikuti dengan konsentrasi sperma yang rendah, maka keadaan ini dapat menyebabkan infertilitas (P, 2019)

6. *Hyperspermia*

Hyperspermia adalah keadaan dimana seorang pria memiliki jumlah sperma yang banyak. Jumlah cairan sperma pada keadaan *hyperspermia* melebihi volume normal, sampai lebih dari 15.5 ml. Keadaan ini adalah lawan dari keadaan *hypospermia* (Churu, Road and Rajasthan, 2011).

2.1.4 Pewarnaan Papanicolaou

Pewarnaan Papanicolaou adalah pewarnaan komersial yang mengandung hematoxyllin, eosin dan Orange-G serta light green pada pewarnaan utamanya untuk mewarnai spermatozoa manusia dengan tambahan etanos serta Teknik fiksasi bertingkat untuk penyempurnaan hasil pewarnaan (Lukas, 2016).



Gambar 2.1.6 : Pewarnaan Morfologi Spermatozoa Menggunakan Papanicolaou

Sumber : (WHO, 2010)

Prinsip pengecatan papanicolaou adalah melakukan pewarnaan, hidrasi, dan dehidrasi sel. Pengambilan sediaan yang baik, fiksasi dan

pewarnaan sediaan yang baik serta pengamatan mikroskopik yang cermat, merupakan langkah yang harus ditempuh dalam menegakkan diagnosa. Pengecatan papanicolaou menggunakan zat-zat warna yaitu Harris hematosillin untuk mewarnai kromatin dan membran inti (biru-ungu) dan anakan inti (merah, merah muda, atau orange). Orange G untuk memberi warna cerah pada sitoplasma (kuning-orange), dan polychrome (EA-50). Sel-sel yang mempunyai afinitas terhadap eosin yaitu sitoplasma asidofil (asam) terdapat bayangan merah muda atau kuning dan sel-sel superfisial lebih asidofil sedangkan sitoplasma basofil (basa) berwarna biru pucat atau biru kehijauan, sel-sel intermediate, parabasal, dan basal lebih basa (Astuti, 2017).

Zat utama yang digunakan dalam pengecatan papanicolaou yaitu cat hematosilin, sel-sel yang overstained dan kelebihan hematosilin dihilangkan dengan ekstraksi diferensial di HCl, cat Eosin-alkohol/ EA-50. Blueing yaitu substitusi kebiruan larutan dapat digunakan untuk memperjelas bentuk/ struktur sel. Proses hidrasi yang merupakan penggunaan serangkaian alkohol bertingkat (50%, 70%, 80%, dan 90%) untuk hidrasi dan dehidrasi berguna untuk menghindari terjadinya penyusutan pada sel (Astuti, 2017).

Pewarnaan Papanicolaou dianggap sebagai pewarnaan terbaik untuk penilaian morfologi sperma namun, proses pewarnaan dianggap memakan waktu (Aksoy, 2012).

2.1.5 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai (Yulaikhah, 2010). Menurut Arsyad (2010) ekstraksi adalah proses atau pemisahan atau isolasi dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang hanya dapat melarutkan salah satu komponennya saja. Cara ini berguna untuk memisahkan penyusun yang dimulai dari suatu campuran lewat pelarut selektif. Ekstraksi lebih efisien bila jumlah pelarutnya banyak tapi ekstraksinya hanya sekali (Iskandar, 2011). Faktor lain yang mempengaruhi ekstraksi adalah sifat pelarut semakin banyak pula jumlah produk yang akan diperoleh karena distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak (Khairiyah, 2021).

Pelarut yang ideal adalah yang mempunyai sifat tidak toksik, tidak bersifat eksplosif, mempunyai interval titik didih yang sempit, daya melarutkan, murah dan mudah. Pada umumnya pelarut yang sering digunakan adalah etanol. Etanol adalah sejenis cairan yang mudah menguap dan mempunyai titik didih rendah sehingga mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, hal ini dapat mengurangi kerusakan dari metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia.

Etanol merupakan pelarut dengan polaritas tinggi sehingga mudah untuk melarutkan senyawa seperti lemak, minyak, asam lemak dan karbohidrat lainnya. Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut dikarenakan etanol lebih efektif, kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak

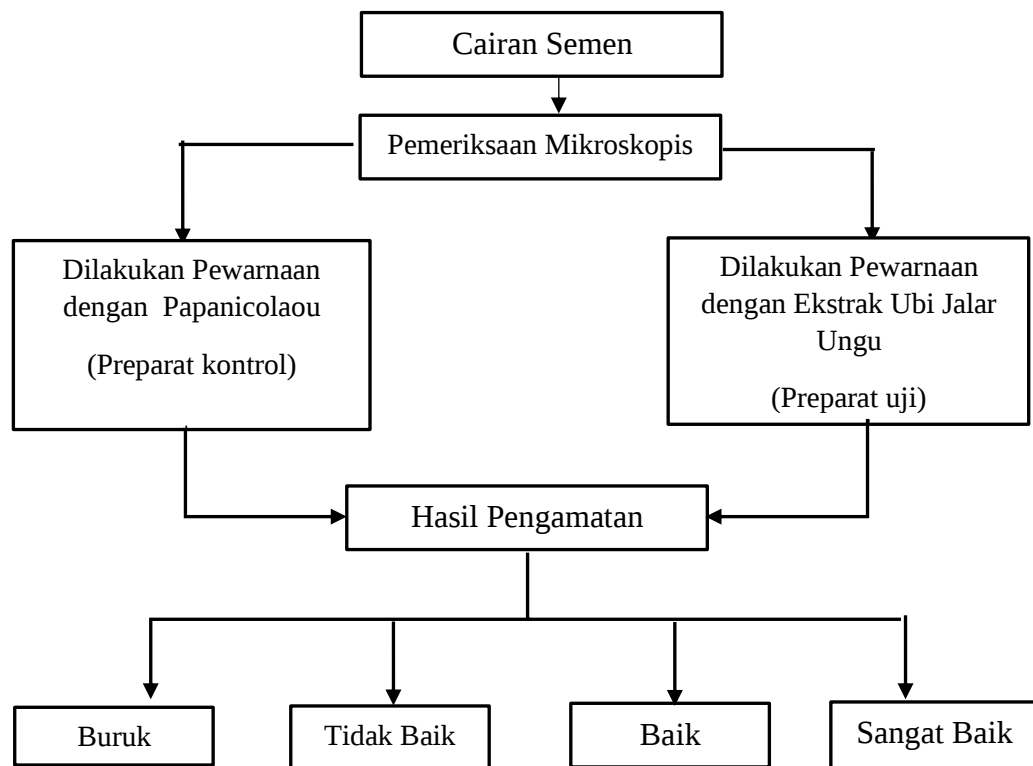
beracun, netral, dan absorpsinya baik. Larutan penyaring yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah etanol 70% (Khairiyah, 2021).

Metode dasar ekstraksi adalah maserasi, perkolasi dan sokhletasi. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut diatas disesuaikan dengan kepentingan dan kandungan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna. Penggunaan metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam etanol sebagai cairan penyari yang digunakan (Khairiyah, 2021).

2.1.6 Metode Pewarnaan dengan Bahan Alami

Ekstrak ubi jalar ungu yang diperoleh dari salah satu jenis ubi yang memiliki pigmen berwarna ungu yang disebut antosianin (Khairiyah, 2021). Antosianin adalah pigmen yang sifatnya polar dan akan larut dengan baik dalam pelarut-pelarut polar. Ekstraksi antosianin dicampur dengan pelarut air, etanol, asam asetat (Winarti, Sarofa dan Anggrahini, 2008) potassium alum (Chomean *et al.*, 2018). Pada penelitian ini spermatozoa akan menyerap warna dari pigmen antosianin yang telah diekstraksi dari ubi jalar ungu dan ditambahkan pelarut-pelarut.

2.2 Kerangka Pemikiran



Gambar 2.5 Kerangka Pemikiran

2.3 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa yang menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou* ini yaitu :

Ho : Tidak ada perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa yang menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou*.

Ha : Ada perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa yang menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou*.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini bersifat eksperimen yaitu melihat apakah ekstrak ubi jalar ungu dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami pada pemeriksaan morfologi spermatozoa.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Metode pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou*.

3.2.2 Variabel Terikat

Kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan *Papanicolaou*.

3.3 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Variabel	Metode Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa	Kualitas pewarnaan morfologi dilihat dari struktur (kepala, leher dan ekor) spermatozoa yang diwarnai dengan menggunakan ekstrak ubi jalar	Mikroskopis	Mikroskop	0 = buruk atau tidak terwarnai 1 = tidak baik atau tidak jelas terwarnai 2 = baik atau jelas terwarnai 3 = sangat baik atau sangat jelas terwarnai	Ordinal

	ungu.dan <i>Papanicolaou</i>				
Metode pewarnaan morfologi spermatozoa	Metode pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak ubi jalar ungu dan <i>Papanicolaou</i>	-	-	1= <i>Papanicolaou</i> 2= Ekstrak ubi ungu	Nominal

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pria yang ada di lingkungan kampus STIKes Karsa Husada Garut.

3.4.2 Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sperma yang diambil dari 15 pria yang berada di sekitar lingkungan kampus di STIKes Karsa Husada Garut. Jumlah sampel yang digunakan mengikuti panduan Roscoe yaitu untuk penelitian eksperimental sederhana dengan kontrol yang ketat, penelitian yang sukses adalah mungkin dengan ukuran sampel kecil antara 10 sampai dengan 20 buah. Kemudian menurut Gay dan Diehl penelitian eksperimental, minimum sampel 15 subyek per group.

Berdasarkan pendapat tersebut, maka pemeliti memutuskan untuk mengambil sampel dari minimal kelayakan sampel untuk penelitian yaitu sebanyak 15 sampel dengan kriteria inklusi sebagai berikut:

1. Subjek bersedia sebagai responden dan mengisi kuisioner.

2. Sampel sperma diperoleh dari subjek yang berusia diatas 20 tahun.
3. Sampel sperma diperoleh dari subjek yang melakukan puasa tidak mengeluarkan sperma selama 2-7 hari.
4. Sampel sperma diperoleh dengan cara masturbasi dan ditampung dengan menggunakan pot sampel yang bersih dan steril.
5. Sampel yang didapat diperiksa secara mikroskopis terlebih dahulu untuk memastikan sampel tidak azoospermia.

3.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Kampus 1 STIKes Karsa Husada Garut pada bulan Juni-Juli 2023

3.6 Instrumen Penelitian

3.6.1 Alat

Alat yang akan digunakan adalah : neraca analitik, mikroskop, tabung *centrifuge*, kompor, panci, objek glass, cover glass, pipet tetes, mikropipet, pot sampel, gelas kimia, erlenmeyer, corong gelas, *staining jar*, batang pengaduk, spatula, tissue, dan rak pewarnaan.

1.6.2 Bahan

Bahan yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah : ubi jalar ungu, etanol, tawas (*potassium alum*) hematoksilin haris, eosin alkohol, OG-6 aquades, alkohol bertingkat (50%, 70%, 80%, dan 96%) dan label.

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Prosedur Pengumpulan Sampel

Pengambilan data ini akan dilakukan dengan memberikan lembar kertas yang berisi *informed consent* dan kuisioner untuk diisi lalu ditandatangani terlebih dahulu oleh responden sesuai inklusi. Sampel akan diambil Ketika responden sudah melakukan puasa abstinensia sesuai dengan kriteria inklusi. yang di dapat perlu dicatat dengan waktu ejakulasinya.

3.7.2 Prosedur Pembuatan Ekstrak Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar ungu dipilih yang matang dan bersih kemudian dikupas kulitnya lalu dicuci. Daging ubi jalar ungu dipotong kecil-kecil ditimbang sebanyak 500 gr dan ditambahkan 500 ml aquades lalu direbus selama 15 menit. Kemudian disaring menggunakan kain dan diambil air perasannya.

Prosedur persiapan ekstraksi dilakukan dengan menyiapkan air perasan ubi jalar ungu sebanyak 100ml yang kemudian ditambahkan pelarut etanol 5ml, dan mordan tawas (potassium alum) 10g. Setelah itu, wadah dibungkus dengan alumunium foil dan disimpan ditempat yang gelap selama 24 jam. Selanjutnya ekstrak di sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan antara cairan ekstarksi dan endapan. Dari proses ini, didapatkan ekstrak ubi jalar yang siap digunakan untuk pewarnaan morfologi spermatozoa.

3.7.3 Prosedur Pewarnaan Morfologi Spermatozoa

Cairan semen yang akan dilakukan pewarnaan dibiarkan selama 60 menit terlebih dahulu untuk proses likuefaksi. Selanjutnya dibuat apusan dengan menggunakan tetesan 10–20 ul cairan semen kemudian dioleskan pada slide kaca yang bersih. Preparat apusan sperma difiksasi dalam etanol 95% selama 5 menit. Pewarnaan papanicolou digunakan sebagai kontrol yang direkomendasikan oleh WHO 2010. Pada Preparat uji yang menggunakan pewarnaan ekstrak ubi jalar ungu apusan diwarnai dengan ekstrak selama 30 menit pada suhu kamar setelah itu, dicuci dengan air keran. Hasil pewarnaan dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran total 1000x, sehingga diperoleh skor kualitas hasil pewarnaan.

3.7.4 Penilaian Kualitas Hasil Pewarnaan Spermatozoa

Penilaian kualitas hasil pewarnaan spermatozoa yang dihasilkan melalui proses mikroskopis dapat dilihat dari kejelasan warna dari morfologi spermatozoa pada bagian kepala, leher (badan) dan ekor diantaranya buruk dengan skor 0, tidak baik dengan skor 1, baik dengan skor 2, dan sangat baik dengan skor 3. Kemudian penilaian terhadap metode pewarnaan yaitu jika hasil pewarnaan menggunakan Papanicolau baik diberi skor 1 dan jika menggunakan pewarnaan dengan ekstrak ubi ungu menunjukkan hasil baik diberi skor 2. Penilaian ulang slide smear sperma dari setiap pewarnaan dievaluasi oleh 3 orang mahasiswa STIKes Karsa Husada Garut jurusan Analis Kesehatan.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa kategorik akan di analisis data dengan uji Wilcoxon. Uji wilcoxon digunakan untuk menganalisis hasil-hasil pengamatan yang berpasangan dari dua data apakah berbeda atau tidak. Jika nilai Asymp.sig. (2-tailed) lebih kecil dari $<0,05$, maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Sebaliknya jika nilai Asymp.sig. (2-tailed) lebih besar dari $> 0,05$, maka H_0 diterima dan H_a ditolak.

Data yang telah didapatkan dibuat presentase dan ditafsirkan dengan kriteria sebagai berikut:

100 % = Seluruhnya

76% - 99% = Hampir Seluruhnya

51% – 71% = Sebagian Besar

50% = Setengah

26% - 49% = Hampir setengahnya

1% - 25% = Sebagian kecil

0% = Tidak ada satupun

(Arikunto ,2008)

DAFTAR PUSTAKA

- Aksoy E, Aktan TM, Duman S, Cuce G. Assessment of spermatozoa morphology under light microscopy with different histologic stains and comparison of morphometric measurements. *Int J Morphol*. 2012;30:1544–50. [Google Scholar]
- Andhyantoro & Kumalasari. 2012. *Kesehatan reproduksi*. Penerbit Salemba Medika. Jakarta
- Andraszek K, Banaszewska , Banaszewska BB. 2018. The use of two staining methods for identification of spermatozoon structure in roosters. *Poult Science* 97(7):2575-2581
- Astuti, D. I. 2017. “Gambaran Kualitas Mikroskopis pad Sampel FNAB Pengecatan Diff Quick dan Papanicoloau”. Skripsi. Semarang Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Bathaie SZ, Farajzade A, Hoshyar R. 2014. A review of the chemistry and uses of crocins and crocetin, the carotenoid natural dyes in saffron, with particular emphasis on applications as colorants including their use as biological stains. *Biotech Histochem*. 89(6):401-11.
- Bassey, R.B., Osinubi, A.A. and Oremosu, A.A. (2012) ‘Staining effect of Hibiscus sabdariffa extract on sperm cell morphology of Sprague-Dawley rats’, *Journal of Histotechnology*, 35(3), pp. 110–113. Available at: <https://doi.org/10.1179/2046023612Y.0000000010>.
- Bordoloi, B., Jaiswal, R., Siddiqui, S., & Tandon, A. 2017. Health hazards of special stains. *Saudi Journal of Pathology and Microbiology*, 2, 175–178.
- Chang, V. *et al.* (2017) ‘Gold-standard for computer-assisted morphological sperm analysis’, *Computers in Biology and Medicine*, 83(March), pp. 143–150. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2017.03.004>.
- Cheesbrough, M. (2006) *Laboratory Practice in Tropical Countries*. Cambridge Cambridge University Press.
- Chomean S, Nantabut M, Kongtia, Saenguthai K. 2019. Evaluation of natural dyes for human spermatozoa morphology assessment. *Acta Histochemica*. 121(2): 227-233.
- Churu, J., Road, B. and Rajasthan, D. J. (2011) „ISSN 2230 – 8407 Prajapati Parimal M.* and Solanki Anil S .“, 2(11), pp. 46–49.

- Ebrahimi M dan Parham A. 2020. Using Herbal dyes as an alternative staining method for spermevaluation. *Veterinary Medicine and Science*. 6(3):441-446
- Fojas SIT, Hubahib ST, JAravata KO, Mojica CAR, Recto ALN. 2020. The Coloring Component of Betacyanin of *Hylocereus Polyrhizus* (Red Dragon Fruit) Flesh Extract as An Alternative Counter Stain for Semen Smear. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine* Volume 07, Issue 02
- Hambali Mulkan, Mayasari Febrilia, Noermansyah Fitriadi. 2014. *Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar Dengan Variasi Konsentrasi Solven, dan Lama Waktu Ekstraksi*. Universitas Sriwijaya. Vol. 20, No. 2
- Irvine DS. Epidemiology and aetiology of male infertility. *Hum. Reprod.* 1998;Vol 13(1):33-44.
- Kondracki S, Wysokińska A, Kania M, Górski K. 2017. Application of two staining methods for sperm morphometric evaluation in domestic pigs. *J Vet Res.* 61, 345-349
- Koswara, S. (2014). *Teknologi Pengolahan Umbi-Umbian. Bagian 5 : Pengolahan Ubi jalar*. Bogor Agricultural University. Bogor
- Lingappa, Govindashetty, Krisnamurthy, Puttaveerachary, Manchaiahm Shimoga, Mallaradhya, Gowda. 2015. Quest For An Ideal, Simple and Cost-Effective Stain For Morphological Assessment of Sperms. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 9(10): EC01- EC04(Irawati and Mardiana, 2018)
- Lukas, H. (2016) ‘Perbandingan Hasil Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa Manusia Menggunakan Metode Pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik dan Safranin-Kristal Violet di RSUD dr. Soetomo Surabaya’, pp. 1–152.
- Novitriani K, Hasanah HN, Zulfa A. 2017. Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlintera elatior*) Sebagai Indikator Alternatif pada Media Gula-Gula. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Volume 17 Nomor 1
- P, I.Nyomas.W.G. (2019) *Gambaran Motolitas Sperma Pada Perokok Aktif, Progress in Retinal and Eye Research*.
- Richardo, A., Tomuka, D. and Kristanto, E. (2014) ‘Efektivitas Deteksi Spermatozoa Menggunakan Pewarnaan Malachite Green’, *e-CliniC*, 2(2). Available at: <https://doi.org/10.35790/ec1.2.2.2014.5030>

Robicahyadi, A. (2018) *GAMBARAN MORFOLOGI SPERMATOZOA PADA PENGECATAN GIEMSA DAN HEMATOKSILIN EOSIN*

Santoso W. E. A dan Estiasih Teti. 2014. *Kopigmentasi Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas Var Ayamurasaki) Dengan Kopigmen NA-KASIENAT dan Protein Whey Serta Stabilitasnya Terhadap Pemanasan*. Universitas Brawijaya Malang. Vol. 2, No.4

Sherwood, Lauralle (2001). *Fisiologi Manusia dari Sel Ke Sistem*. Jakarta : EGC

Strasinger KS, Lorenzo SM. 2014. *Urinalysis and Body Fluid*. 6th Edition. Ward MM. Editor. United State: FA Davis Company. 204-13p

Susmiyanto D, Wibowo NA dan Sutresno A. 2013. Karakterisasi Ekstrak Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L) sebagai Fotosensitiser pada Sel Surya Pewarna Tersensitisasi. *Seminar Nasional 2nd Lontar Physics Forum 2013*. Salatiga : Universitas Kristen Satya Wacana

Triwani. 2013. Faktor genetik sebagai salah satu penyebab infertilitas pria. *Jurnal Biologi Medik*, hal 1-2.

Winarti, S., Sarofa, U. and Anggrahini, D. (2008) ‘Ekstraksi Dan Stabilitas Warna Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L .,) Sebagai Pewarna Alami’, *Jurnal Teknik Kimia*, 3(1), pp. 207–214.

Winkjosastro. 2011. *Ilmu kandungan*. Jakarta: Yayasan Bina PustaSarwono Prawirohardjo.

World Health Organization. 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed.Geneva: World Health Organization. pp. 271.

Lampiran 1 Rencana Jadwal Penelitian

Rencana Jadwal Penelitian

Dalam penelitian ini, adapun jadwal penelitian yang akan dilaksanakan adalah sebagai berikut :

No	Kegiatan Penelitian	Maret				April				Mei				Juni				Juli			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Penelusuran pustaka																				
2	Penyusunan Usulan Penelitian																				
3	Bimbingan																				
4	Seminar Proposal																				
5	Penelitian																				
6	Pengolahan Data																				
7	Penyusunan Laporan KTI																				
8	Sidang Laporan KTI																				

Lampiran 2 Rencana Anggaran Biaya

Rencana Anggaran Biaya

Biaya yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

No	Kegiatan	Jumlah satuan	Biaya satuan	Jumlah
1	Bahan penelitian			
	a. Ubi jalar ungu	2 Kg	Rp. 15.000,-	Rp. 30.000,-
	b. Etanol	1 liter	Rp. 30.000,-	Rp. 30.000,-
	c. Alkohol 96%	1 liter	Rp. 20.000,-	Rp. 20.000,-
	d. Xylol	1 liter	Rp. 50.000,-	Rp. 50.000,-
	e. Asam Asetat	100 ml	Rp. 100.00,-	Rp. 100.000,-
	f. Tawas (Pottasium allum)	1/2 Kg	Rp. 20.000,-	Rp. 20.000,-
	g. Aquades	2 liter	Rp. 5.000,-	Rp. 10.000,-
	h. Hematoxyllin Harris	100 ml	Rp. 130.000,-	Rp. 130.000,-
	i. OG-6	100 ml	Rp. 100.000,-	Rp. 100.000,-
	j. Eosin alcohol	100 ml	Rp. 100.000,-	Rp. 100.000,-
	k. Kertas saring whatman no. 1	1 lembar	Rp. 40.000,-	Rp. 40.000,-
2	Biaya peminjaman alat			
	a. Mikroskop	7 jam	Rp. 5.000,-	Rp. 35.000,-
	b. Oven	1 jam	Rp. 5.000,-	Rp. 5.000,-
3	Biaya perjalanan sampling			
	a. Transportasi	—	Rp. 100.000,-	Rp. 100.000,-
	b. Biaya tak terduga	—	Rp. 100.000,-	Rp. 100.000,-
4	Lain-lain			
	- Pembuatan proposal KTI		Rp. 150.000,-	Rp. 150.000,-
	- Pembuatan laporan KTI		Rp. 150.000,-	Rp. 150.000,-
	- Biaya tak terduga		Rp. 100.000,-	Rp. 100.000,-
Jumlah				Rp. 1.270.000.-

Terbilang “Satu juta dua ratus tujuh puluh ribu rupiah”

Lampiran 1 *Informed Consent*

INFORMED CONSENT

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Dengan Hormat,

Saya Adinda Putri Ramadhan Komalasari mahasiswi Program Studi DIII Analis Kesehatan Karsa Husada Garut bermaksud mengadakan penelitian dengan judul “Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa Menggunakan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan Papanicolaou”. Penelitian ini dilakukan sebagai tahap akhir dalam penyelesaian studi di STIKes Karsa Husada Garut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat ubi jalar ungu sebagai pewarna alami pada pemeriksaan morfologi spermatozoa.

Untuk terlaksananya kegiatan tersebut, Saya mohon kesediaan Saudara untuk menjadi responden penelitian ini. Sampel yang akan digunakan adalah cairan semen (mani). Dalam penelitian ini, informasi identitas pasien, diagnosis, dan hasil pemeriksaan laboratorium akan diperlukan secara rahasia sehingga tidak memungkinkan untuk diketahui oleh orang lain. Data akan disimpan selama kurang lebih 5 tahun. Kesediaan saudara dalam penelitian ini bersifat sukarela disertai dengan tanggung jawab sampai selesainya penelitian ini.

Demikianlan penelitian saya, atas perhatian serta kerjasama saudara dalam penelitian ini, Saya ucapkan terimakasih.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Lampiran 2 Surat Pernyataan Persetujuan Untuk Ikut Serta Dalam Penelitian

**SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
UNTUK IKUT SERTA DALAM PENELITIAN**

Saya telah membaca atau memperoleh penjelasan, sepenuhnya saya menyadari, mengerti dan memahami tentang tujuan, manfaat, dan resiko yang mungkin timbul dalam penelitian, serta telah diberi kesempatan untuk bertanya dan telah dijawab dengan memuaskan, juga sewaktu-waktu dapat mengundurkan diri dari keikutsertaan, maka saya **setuju/tidak setuju*** ikut serta dalam penelitian ini yang berjudul “Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa Menggunakan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan Papanicolaou”.

Saya dengan sukarela memilih ikut serta dalam penelitian ini tanpa tekanan atau paksaan siapapun. Saya akan diberikan salinan lembar penjelasan dan formulir persetujuan yang telah saya tanda tangani.

Saya Setuju:

Ya/Tidak*

Garut, Juni 2023

Responden

()

Lampiran 5 Kuisisioner

KUISISIONER

A. Data Responden

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nomor Kode*) :

Umur :

Masa Abstinensia :

Lampiran 6 Lembar Bimbingan

LEMBAR BIMBINGAN KARYA TULIS ILMIAH

Nama : Adinda Putri Ramadhan Komalasari

NIM : KHGE 20008

Judul Penelitian : Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa

Menggunakan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*)

Pembimbing : Mamay, S.Pd., M.Si

No	Tanggal	Materi Bimbingan	Saran Pembimbing	Tanda Tangan Pembimbing
1.	13 April 2023	Konsultasi Judul Penelitian	Tempat Pewarnaan	
2.	11 Mei 2023	Konsultasi BAB I	Isi Mengandung dari apa yg akan diteliti	
3.	19 Mei 2023	Revisi BAB I	Paragraf lain > kembangkan	
4.	25 Mei 2023	Acc BAB I	Perbaiki typo	
5.	30 Mei 2023	Konsultasi BAB II	Teori " dari apa yg akan diteliti	
6.	31 Mei 2023	Revisi BAB II	Tambahkan teori kelainan sperma	
7.	1 Juni 2023	Konsultasi BAB III	Perhatikan definisi operasional, variabel penelitian	

8.	11 Jun. 2023	Revisi: BAB <u>III</u>	Keringkan Peminan berdasar teori	7
9.	14 Juni 2023	ACE BAB <u>II</u> dan <u>III</u>		7
10.				
11.				
12.				