

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Infertilitas diperkirakan memengaruhi 8–12% pasangan secara global. Faktor pria menjadi penyebab utama yang berkontribusi sekitar 50% menjadi penyebab infertilitas dari pasangan tersebut (Agarwal dkk., 2021). Dalam evaluasi fertilitas pria, analisis semen menjadi standar baku pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan ini bersifat menyeluruh, mencakup evaluasi makroskopis cairan semen seperti volume, pH, dan likuifaksi serta evaluasi mikroskopis sel sperma yang meliputi konsentrasi, motilitas, dan morfologi. Evaluasi ini secara kolektif memberikan gambaran status fertilitas (WHO, 2021).

Penilaian morfologi sperma memiliki peran penting dalam mencerminkan tingkat kematangan serta kemampuan fertilisasinya. Penelitian oleh Hussein dkk, (2024) menyatakan adanya hubungan signifikan antara morfologi sperma dan status fertilitas. Indeks morfologi sperma ditemukan secara signifikan lebih rendah pada pasien dengan gangguan fertilitas dibandingkan pria fertil yang sehat. Parameter ini juga memberikan informasi diagnostik mengenai fungsi organ reproduksi pria, terutama pada testis dan epididimis (Hussein dkk., 2024; Moretti dkk., 2022; WHO, 2021)

Pedoman *World Health Organization* (WHO) terbaru untuk morfologi sperma secara resmi mengadopsi metodologi Kriteria Ketat (*Strict Criteria*), yang merupakan pengembangan dari Kriteria Tygerberg oleh Kruger dengan

ambang batas sperma normal  $>4\%$ . Sperma dengan morfologi normal menunjukkan integritas anatomi kepala (*head*), leher (*midpiece*), dan ekor (*principal piece*) yang baik, sehingga berpeluang lebih besar untuk menembus dan membuahi ovum secara efektif. Sebaliknya, kelainan morfologi seperti bentuk kepala yang abnormal, *midpiece* yang tidak simetris, atau ekor yang bengkok, sering dikaitkan dengan penurunan kemampuan fertilisasi dan keberhasilan program teknologi reproduksi berbantu (*Assisted Reproductive Technology/ART*) (WHO, 2021).

Morfologi sperma dinilai melalui metode pewarnaan yang telah distandarisasi oleh WHO untuk Kriteria Ketat (*Strict Criteria*) yaitu pewarnaan Papanicolaou. Dalam praktiknya, berbagai penelitian di Indonesia menunjukkan penggunaan metode pewarnaan lain dalam pemeriksaan morfologi sperma. Metode pewarnaan yang sering digunakan tersebut adalah Diff-Quik, Giemsa, Hematoksin-Eosin Mayer, serta O-Steno yang juga dikenal sebagai Safranin–Kristal Violet. Adanya variasi metode pewarnaan tersebut menunjukkan bahwa pemilihan metode tidak hanya didasarkan pada standar, tetapi juga mempertimbangkan aspek praktis di laboratorium. Oleh karena itu, penggunaan metode pewarnaan alternatif didasari oleh kebutuhan akan efisiensi teknis. Metode standar Papanicolaou dinilai kompleks karena melibatkan lebih dari 20 tahap pengerjaan. Sebaliknya, metode Diff-Quik dan Safranin–Kristal Violet memiliki prosedur yang jauh lebih sederhana, yaitu hanya membutuhkan 4 hingga 5 tahapan dengan jumlah reagen yang lebih sedikit. Kesederhanaan prosedur ini secara signifikan dapat mengurangi waktu pemeriksaan serta biaya

operasional laboratorium dibandingkan dengan metode standar (Lukas, 2016; Rahmawati Thamrin, 2024; Sumastri dkk., 2011).

Kebutuhan akan efisiensi ini bahkan telah mendorong beberapa fasilitas pelayanan kesehatan dan laboratorium rujukan untuk mengadaptasi metode Safranin-Kristal Violet secara empiris dalam pemeriksaan rutin. Modifikasi metode ini memiliki nilai efisiensi yang tinggi karena memanfaatkan reagen pewarnaan Gram berbasis pelarut alkohol yang sudah tersedia di setiap laboratorium klinik. Penggunaan pewarnaan Gram pada penelitian ini didukung oleh studi terdahulu yang menyimpulkan bahwa reagen pewarnaan Gram dapat diaplikasikan sebagai metode rutin di laboratorium reproduksi untuk membantu mengevaluasi kualitas sperma, khususnya terkait status kondensasi kromatin pada kepala spermatozoa (Mantas dkk., 2006).

Kesenjangan antara prosedur standar Papanicolaou dan praktik di Indonesia menimbulkan masalah terkait inkonsistensi hasil diagnostik. Perbedaan mendasar dalam proses fiksasi dan pewarnaan dapat menghasilkan variasi yang signifikan, tidak hanya pada pengukuran dimensi fisik sperma, tetapi yang lebih penting pada persentase akhir spermatozoa normal yang dilaporkan. Inkonsistensi ini telah terbukti dalam berbagai studi lokal. Penelitian oleh Lukas (2016) dan Thamrin (2024) yang membandingkan Papanicolaou, Diff-Quik, dan Safranin-Kristal Violet, menemukan adanya perbedaan pada ukuran kepala sperma, vakuola, dan ERC (*Excess Residual Cytoplasm*) atau sisa sitoplasma. Penelitian lain oleh Sumastri, Theodorus, dan Thaib (2011) menelaah tingkat kesesuaian hasil antar metode pewarnaan alternatif, yaitu Giemsa, Meyer, dan

O-Steno, dan melaporkan adanya variasi persentase kesesuaian di antara metode tersebut.

Cherouveim dkk, (2023) menegaskan bahwa teknik pewarnaan cepat seperti Diff-Quik dapat menyebabkan distorsi fisik berupa pembengkakan (*swelling*) pada kepala sperma akibat kondisi lingkungan zat warna yang tidak iso-osmotik. Ketidakmampuan Diff-Quik dalam menyajikan detail struktural yang presisi serta potensi distorsi dimensi ini meningkatkan risiko diagnosis *false negative*, sehingga pemilihan dan standarisasi metode pewarnaan menjadi sangat krusial untuk menjamin akurasi evaluasi morfologi dalam diagnosis klinis (Cherouveim dkk., 2023). Penelitian terkini mencatat bahwa hasil pemeriksaan morfologi sangat dipengaruhi oleh variabilitas hasil yang timbul dari perbedaan metode pewarnaan dalam penentuan morfologi, sehingga muncul kebutuhan untuk menganalisis hasil metode pewarnaan yang berbeda (Wyns & Vogiatzi, 2024).

Berdasarkan kesenjangan yang ada, penelitian ini dilakukan untuk mengisi celah pengetahuan mengenai reliabilitas hasil pemeriksaan morfologi sperma melalui perbandingan metode Papanicolaou, Diff-Quik, dan Safranin-Kristal Violet. Peneliti ingin mengetahui apakah perbedaan dimensi morfometri dan kualitas visual yang ditemukan oleh Lukas (2016) dan Thamrin (2024) berdampak pada nilai persentase morfologi sperma normal akhir yang dilaporkan, sehingga dapat memengaruhi klasifikasi status kesuburan dari abnormal menjadi normal (*false negative*) atau sebaliknya.

## **B. Rumusan Masalah**

Bagaimana perbedaan hasil pemeriksaan morfologi sperma pada metode pewarnaan Papanicolaou, Diff- Quik Dan Safranin-Kristal Violet ?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan morfologi spermatozoa pada metode pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik, dan Safranin–Kristal Violet.

### **2. Tujuan Khusus**

- a. Untuk mengetahui perbedaan hasil morfologi sperma antara metode pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik, dan Safranin–Kristal Violet.
- b. Untuk menguji secara statistik signifikansi perbedaan persentase morfologi spermatozoa antar ketiga metode pewarnaan tersebut.
- c. Untuk menganalisis metode pewarnaan alternatif (antara Diff-Quik atau Safranin-Kristal Violet) yang memiliki kesesuaian hasil paling dekat dengan metode Papanicolaou selaku *gold standard*.

## **D. Ruang Lingkup**

Ruang lingkup penelitian ini difokuskan pada bidang Andrologi, khususnya dalam lingkup pemeriksaan morfologi sperma manusia. Cakupan penelitian ini meliputi perbandingan hasil tiga metode pewarnaan, yaitu Papanicolaou sebagai metode standar (*gold standard*), Diff-Quik sebagai metode pewarnaan cepat (*rapid stain*), dan Safranin-Kristal Violet sebagai metode modifikasi alternatif.

## **E. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat Teoritis**

- a. Memberikan data pembandingan mengenai variasi hasil persentase morfologi spermatozoa yang diperoleh dari penggunaan metode pewarnaan yang berbeda.
- b. Menambah literatur ilmiah bagi ilmu pengetahuan di bidang Teknologi Laboratorium Medis mengenai perbandingan hasil antara metode standar dengan metode alternatif yang lebih ekonomis.

### **2. Manfaat Praktis**

- a. Memberikan alternatif metode untuk laboratorium klinis di Indonesia mengenai metode pewarnaan morfologi sperma yang paling konsisten hasilnya terhadap standar baku WHO (*World Health Organization*) yaitu Papanicolaou.
- b. Membantu ATLM dalam mempertimbangkan ketelitian pemilihan metode pewarnaan guna meminimalkan subjektivitas dan risiko bias dalam pelaporan hasil morfologi spermatozoa, sehingga mengurangi risiko kesalahan diagnostik (*false negative*).

## **F. Keaslian Penelitian**

1. Penelitian oleh Mantas dkk, (2006) yang berjudul “*Evaluation of Gram Stain as an Alternative in the Assessment of Human Spermatozoa Quality*”  
Hasil : pewarnaan Gram memiliki daya penetrasi yang baik dan dapat digunakan sebagai metode rutin di laboratorium untuk evaluasi kualitas sperma.

Persamaan : menggunakan pemanfaatan reagen pewarnaan Gram yaitu, Safranin dan Kristal Violet sebagai metode alternatif yang efisien untuk mengevaluasi kualitas sel spermatozoa manusia

Perbedaan : membandingkan kemampuan daya tembus zat warna Gram dengan baku emas *Aniline Blue* dalam menilai kualitas sperma

2. Penelitian oleh Sumastri dkk., (2011) yang berjudul “Kesesuaian Hasil Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa Antara Pulasan Giemsa Meyer dan O Steeno dari Pria Pasangan Usia Subur”

Hasil : hampir tidak ada perbedaan hasil gambar dari ketiga metode pewarnaan morfologi sperma.

Persamaan : parameter morfologi sperma pewarnaan O.Steen (Safranin-Kristal Violet)

Perbedaan : Penelitian tersebut tidak menggunakan metode pewarnaan yang lebih relevan dengan praktik modern yaitu, Papanicolaou, Diff-Quik, Safranin-Kristal Violet.

3. Penelitian oleh Lukas, (2016) berjudul “Perbandingan Hasil Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa Manusia Menggunakan Metode Pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik dan Safranin-Kristal Violet di RSUD dr. Soetomo Surabaya”

Hasil : Terdapat perbedaan morfologi sperma dari ukuran panjang, lebar, ketebalan *mid piece* dan ERC (*Excess Residual Cytoplasm*/sisa sitoplasma).

Hasil terbaik mendekati standar WHO yaitu Safranin-Kristal Violet.

Persamaan : parameter yang diuji yaitu morfologi sperma pada metode pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik, dan Safranin-Kristal Violet

Perbedaan : berfokus pada dimensi fisik seperti panjang dan lebar dari bentuk morfologi sperma normal dan abnormal, serta metode Safranin-Kristal Violet nya berbasis pelarut bufer.

4. Penelitian oleh Rahmawati Thamrin, (2024) berjudul “Perbandingan Hasil Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa Manusia Menggunakan Metode Pewarnaan Papanicolaou, Diff Quik dan Safranin-Kristal Violet Pada Pasien Infertil di Klinik Telkomedika Ratulangi Makassar”

Hasil : Pada metode ketiganya menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil terbaik mendekati standar WHO yaitu Safranin-Kristal Violet.

Persamaan : parameter yang diuji yaitu morfologi sperma pada metode pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik, dan Safranin-Kristal Violet

Perbedaan : berfokus pada dimensi fisik seperti panjang dan lebar dari bentuk morfologi sperma normal dan abnormal, serta metode Safranin-Kristal Violet nya berbasis pelarut bufer.

5. Tinjauan Sistematis oleh Cherouveim dkk. (2023), dengan judul “*Artificial Intelligence for Sperm Selection—A Systematic Review*”

Hasil : metode pewarnaan seperti Diff-Quik memengaruhi dimensi morfometrik sperma karena efek osmolalitas zat warna yang menyebabkan pembengkakan (*swelling*) atau pengerutan sel.

Persamaan : metode pewarnaan Diff-Quik

Perbedaan : *Systematic Review* yang berfokus pada penggunaan AI (*Artificial Intelligence*) dalam menilai kualitas sperma yang baik.