

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Semen dan sperma

Menurut *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen* edisi ke-6 tahun 2021, semen adalah cairan biologis yang dikeluarkan melalui proses ejakulasi dan terdiri atas spermatozoa (sel sperma) serta plasma semen. Plasma semen merupakan campuran sekresi dari kelenjar aksesori sistem reproduksi pria, terutama vesikula seminalis, prostat, dan kelenjar bulbouretralis, yang berfungsi sebagai media transportasi, nutrisi, dan perlindungan bagi sperma selama proses fertilisasi (World Health Organization [WHO], 2021).

Sperma atau spermatozoa adalah sel germinal pria yang diproduksi di testis melalui proses spermatogenesis dan berfungsi membawa materi genetik pria untuk proses fertilisasi. WHO (2021) menjelaskan bahwa spermatozoa memiliki struktur khas yang terdiri atas kepala, leher, bagian tengah (*midpiece*), dan ekor, yang masing-masing berperan dalam kemampuan motilitas, penetrasi zona pellucida, dan keberhasilan fertilisasi.

Berdasarkan definisi tersebut, semen dan sperma merupakan dua istilah yang saling berkaitan namun memiliki makna yang berbeda. Semen merupakan bahan biologis yang diperiksa dalam analisis laboratorium, sedangkan sperma merupakan komponen utama dalam semen yang dinilai

kualitas dan fungsinya. Pemahaman perbedaan istilah ini penting untuk menjaga ketepatan penggunaan istilah dalam praktik laboratorium dan penelitian ilmiah.

2. Analisis semen

Analisis semen merupakan pemeriksaan laboratorium terhadap cairan ejakulat untuk menilai karakteristik makroskopis dan mikroskopis sebagai indikator fungsi reproduksi pria. Pemeriksaan ini mencakup penilaian volume, pH, viskositas, serta evaluasi parameter utama spermatozoa, yaitu konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan morfologi (WHO, 2021).

WHO edisi ke-6 tahun 2021 menegaskan bahwa analisis semen tidak dimaksudkan untuk menetapkan status fertilitas secara absolut, melainkan memberikan gambaran klinis mengenai potensi fungsi reproduksi pria yang harus diinterpretasikan bersama dengan kondisi klinis pasien dan faktor pasangan. Analisis sperma merupakan bagian utama dari analisis semen yang berfokus pada evaluasi kualitas dan karakteristik spermatozoa sebagai indikator utama potensi fertilisasi (WHO, 2021).

Parameter konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma memiliki peranan penting karena berhubungan langsung dengan kemampuan sperma untuk mencapai dan membuahi sel telur. Ketiga parameter tersebut secara luas digunakan dalam evaluasi infertilitas pria dan menjadi dasar interpretasi klinis hasil analisis semen (Royal College of Pathologists of Australasia [RCPA], 2018).

Pemeriksaan ini menjadi langkah awal yang penting dalam evaluasi infertilitas, penentuan diagnosis gangguan reproduksi pria, pemilihan terapi, serta evaluasi keberhasilan program teknologi reproduksi berbantu (Agarwal et al., 2021).

3. Parameter utama analisis sperma

a. Konsentrasi sperma

Konsentrasi sperma adalah jumlah spermatozoa yang terdapat dalam setiap satuan volume semen dan dinyatakan dalam satuan juta spermatozoa per mililiter (juta/mL). Parameter ini mencerminkan kemampuan testis dalam memproduksi spermatozoa dan berperan penting dalam penilaian potensi kesuburan pria. Pemeriksaan konsentrasi sperma dilakukan setelah semen mengalami proses likuefaksi dan dianalisis menggunakan metode manual atau otomatis sesuai standar WHO.

WHO edisi ke-6 tahun 2021 menetapkan nilai rujukan konsentrasi sperma berdasarkan persentil ke-5 populasi pria subur, yaitu sebesar ≥ 16 juta spermatozoa/mL. Nilai konsentrasi sperma di bawah batas tersebut dapat mengindikasikan kondisi oligozoospermia yang berpotensi menurunkan peluang terjadinya fertilisasi secara alami (WHO, 2021).

b. Motilitas sperma

Motilitas sperma adalah kemampuan spermatozoa untuk bergerak secara aktif, baik secara progresif maupun non-progresif, yang memungkinkan sperma mencapai dan membuahi sel telur. Motilitas sperma merupakan salah satu parameter utama dalam pemeriksaan analisis

sperma karena berperan penting dalam proses fertilisasi dan mencerminkan fungsi fisiologis serta integritas struktur spermatozoa. Penilaian motilitas sperma dilakukan dengan mengamati pergerakan spermatozoa hidup secara langsung di bawah mikroskop atau melalui sistem analisis digital.

Menurut *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen* edisi ke-6 tahun 2021, motilitas sperma diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu :

1) *Progressive motility (PR)* atau motil progresif.

Sperma bergerak maju dengan cepat dan terarah (lurus atau sedikit melengkung).

2) *Non Progressive Motility (NP)* atau motil tidak progresif.

Sperma bergerak tetapi tidak maju atau hanya bergerak ditempat.

3) *Immotile (IM)* atau tidak motil.

Sperma tidak bergerak sama sekali. Pemeriksaan motilitas dilakukan setelah semen mengalami proses likuefaksi dan harus dilakukan sesegera mungkin untuk menghindari penurunan kualitas sperma.

WHO 2021 menetapkan nilai rujukan motilitas total sebesar $\geq 42\%$ dan motilitas progresif sebesar $\geq 30\%$, yang didasarkan pada persentil ke-5 populasi pria subur (WHO, 2021).

c. Morfologi sperma

Morfologi sperma merupakan penilaian terhadap bentuk dan struktur spermatozoa yang meliputi kepala, leher (*midpiece*), dan ekor. Penilaian morfologi bertujuan untuk mengevaluasi integritas struktural sperma yang berperan dalam proses fertilisasi. WHO edisi ke-6 tahun 2021 merekomendasikan penggunaan kriteria ketat (*strict criteria*) dalam evaluasi morfologi sperma.

Spermatozoa diklasifikasikan sebagai normal apabila memiliki kepala berbentuk oval simetris, akrosom yang jelas dan mencakup sekitar 40–70% permukaan kepala, leher yang ramping dan sejajar dengan sumbu kepala, serta ekor tunggal yang lurus dan proporsional. Hasil pemeriksaan morfologi dinyatakan dalam persentase spermatozoa dengan bentuk normal, dengan nilai rujukan $\geq 4\%$ berdasarkan persentil ke-5 populasi pria subur (WHO, 2021).



Gambar 1. Morfologi Sperma Normal

4. Metode manual analisis sperma standar WHO 2010

Pemeriksaan analisis sperma metode manual berdasarkan standar WHO edisi ke-5 tahun 2010 merupakan metode konvensional yang digunakan secara luas dalam praktik laboratorium klinik. Metode ini mencakup penilaian parameter makroskopis dan mikroskopis semen, dengan fokus utama pada konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma. Pemeriksaan dilakukan secara manual menggunakan mikroskop cahaya dan sangat bergantung pada keterampilan serta pengalaman analis laboratorium.

Penilaian konsentrasi sperma dilakukan menggunakan bilik hitung hemositometer, khususnya Improved Neubauer, setelah sampel semen mengalami proses homogenisasi dan pengenceran sesuai prosedur. Motilitas sperma dinilai secara visual dengan mengamati pergerakan spermatozoa pada preparat basah dan diklasifikasikan menjadi motil progresif, non-progresif, dan tidak motil. Morfologi sperma dinilai setelah pewarnaan sitologi, seperti Papanicolaou atau Diff-Quik, dengan menggunakan kriteria morfologi ketat (*strict criteria*).

WHO 2010 menetapkan nilai rujukan pemeriksaan sperma berdasarkan persentil ke-5 dari populasi pria subur, sehingga hasil pemeriksaan dapat diklasifikasikan ke dalam kategori normal dan abnormal. Metode manual ini direkomendasikan sebagai *gold standard* karena ketelitian dan kesesuaiannya dengan standar internasional, meskipun memiliki keterbatasan berupa subjektivitas pemeriksa dan variasi hasil antar analis (World Health Organization, 2010).

5. Metode manual analisis sperma standar WHO 2021

Metode manual analisis sperma menurut World Health Organization (WHO) edisi ke-6 tahun 2021 merupakan metode konvensional berbasis pemeriksaan mikroskopis yang digunakan sebagai metode acuan (*gold standard*) dalam evaluasi kualitas sperma. Metode ini menilai parameter utama sperma, meliputi konsentrasi, motilitas, dan morfologi, yang berperan penting dalam penilaian potensi fungsi reproduksi pria.

Prinsip pemeriksaan analisa sperma metode manual menurut WHO 2021 dilakukan menggunakan mikroskop dan prosedur standar yang meliputi penghitungan konsentrasi sperma menggunakan hemocytometer, klasifikasi motilitas secara visual, evaluasi morfologi melalui pewarnaan khusus, serta pemeriksaan vitalitas untuk memastikan kualitas sel. Oleh karena itu, hasil pemeriksaan sangat bergantung pada keterampilan dan interpretasi teknisi laboratorium yang mengikuti protokol WHO secara ketat guna mencapai reproduksibilitas dan akurasi antar laboratorium (World Health Organization, 2021)

Pemeriksaan dilakukan terhadap sampel semen yang telah dipersiapkan sesuai dengan standar WHO. Konsentrasi sperma dinilai berdasarkan jumlah spermatozoa per satuan volume menggunakan bilik hitung, motilitas sperma dinilai berdasarkan kemampuan pergerakan spermatozoa hidup, sedangkan morfologi sperma dievaluasi berdasarkan bentuk kepala, leher (*midpiece*), dan ekor dengan menggunakan kriteria morfologi ketat (*strict criteria*).

WHO 2021 menekankan bahwa hasil analisis sperma harus diinterpretasikan secara klinis dan tidak digunakan sebagai satu-satunya penentu status fertilitas seorang pria. Meskipun memerlukan keterampilan teknis yang tinggi, metode manual tetap digunakan secara luas karena bersifat standar, aplikatif, serta dapat dijadikan acuan dalam validasi metode pemeriksaan sperma berbasis digital atau otomatis.

Kelebihan metode manual standar WHO 2021

- 1) Standar baku Internasional karena merupakan metode acuan (*gold standard*) yang ditetapkan WHO, sehingga hasilnya dapat dibandingkan secara global.
- 2) Tidak membutuhkan teknologi mahal karena hanya memerlukan mikroskop cahaya, bilik hitung (Improved Neubauer atau Makler chamber) dan peralatan laboratorium sederhana.
- 3) Fleksibel dan aplikatif karena dapat dilakukan di hampir semua laboratorium andrologi atau klinik infertilitas tanpa perangkat khusus.
- 4) Mencakup banyak parameter, tidak hanya konsentrasi dan motilitas, tetapi juga morfologi, viabilitas, aglutinasi, dan karakteristik makroskopis semen.
- 5) Dapat dijadikan acuan validasi metode lain, yaitu menjadi pembanding untuk menguji keakuratan sistem digital atau otomatis (misalnya CASA atau LensHooke X1 Pro)

Keterbatasan metode manual standar WHO 2021

- 1) Bergantung pada keterampilan Tenaga Teknologi Laboratorium Medis (TTLM), sehingga hasil dapat bervariasi antar-pemeriksa (*inter-observer variability*).
 - 2) Proses relatif lama dan melelahkan dibanding metode otomatis atau digital
 - 3) Rentan kesalahan manusia (*human error*) dalam penghitungan dan interpretasi yang dapat mempengaruhi akurasi hasil.
 - 4) Membutuhkan latihan intensif untuk TTLM sehingga berpengalaman dan terlatih sesuai panduan WHO agar hasil valid dan konsisten.
 - 5) Kurang praktis untuk volume sampel besar, karena banyaknya sampel pemeriksaan manual dapat memperlambat proses analisis.
6. Perbedaan metode manual standar WHO 2010 dengan standar WHO 2021

Metode manual analisis sperma menurut WHO 2010 dan WHO 2021 pada dasarnya menggunakan prosedur pemeriksaan yang sama. Perbedaan utama terletak pada interpretasi hasil, di mana WHO 2010 menggunakan batas nilai rujukan sebagai dasar klasifikasi normal dan abnormal, sedangkan WHO 2021 menekankan interpretasi hasil berdasarkan konteks klinis dan variasi biologis individu. Selain itu, WHO 2021 memberikan perhatian lebih pada pengendalian faktor pra-analitik yang dapat memengaruhi hasil pemeriksaan (World Health Organization, 2010; World Health Organization, 2021).

Tabel 1. Perbandingan Standar Manual WHO 2010 dan WHO 2021

Aspek	WHO 2010	WHO 2021	Perubahan
Pengumpulan sampel	Pantang seksual 2–7 hari	Pantang seksual 2–7 hari	Tidak berubah
Pemeriksaan makroskopis	Volume, pH, viskositas, likuefaksi	Volume, pH, viskositas, likuefaksi	Tidak berubah
Pemeriksaan konsentrasi	Penghitungan sesuai prosedur WHO	Penghitungan sesuai prosedur WHO	Tidak berubah signifikan
Pemeriksaan motilitas	Progresif, Non progresif, Immotil	Progresif, Non progresif, Immotil	Tidak berubah
Pemeriksaan morfologi	Strict criteria	Strict criteria	Tidak berubah
Pemeriksaan vitalitas	Eosin-Nigrosin	Eosin-Nigrosin	Tidak berubah
Quality control	Dijelaskan secara umum	Dijelaskan lebih rinci	Diperkuat
Populasi referensi	±1.800 pria fertil	±3.589 pria fertil	Data referensi diperbarui
Nilai referensi	Berdasarkan data WHO 2010	Berdasarkan data WHO 2021	Beberapa nilai berubah
Interpretasi hasil	Berorientasi pada batas normal-abnormal	Menekankan interpretasi klinis	Berubah
Pemeriksaan lanjutan	Terbatas	SDF, oxidative stress, dan pemeriksaan lanjutan dibahas lebih luas	Diperluas

Berdasarkan Tabel 1, WHO edisi ke-6 tahun 2021 tidak mengubah prosedur dasar pemeriksaan analisis sperma yang telah digunakan pada WHO edisi ke-5 tahun 2010. Pemeriksaan konsentrasi, motilitas, morfologi, dan vitalitas sperma tetap dilakukan dengan prinsip dan teknik yang sama. Perubahan utama terdapat pada pembaruan nilai referensi, penguatan aspek quality control, penggunaan data referensi yang lebih luas, serta pendekatan interpretasi hasil yang lebih menekankan konteks klinis. Oleh karena itu, WHO 2021 digunakan sebagai pedoman dalam penelitian ini karena merupakan standar terbaru yang direkomendasikan untuk pemeriksaan analisis sperma.

Tabel 2. Perubahan Nilai Referensi Standar WHO 2010 dan WHO 2021

Parameter	WHO 2010	WHO 2021	Perubahan
Volume (mL)	$\geq 1,5$	$\geq 1,4$	Sedikit turun
Konsentrasi (juta/mL)	≥ 15	≥ 16	Sedikit naik
Jumlah sperma total (juta/ejakulat)	≥ 39	≥ 39	Tetap
Motilitas total (%)	≥ 40	≥ 42	Naik
Motilitas progresif (%)	≥ 32	≥ 30	Turun
Vitalitas (%)	≥ 58	≥ 54	Turun
Morfologi normal (%)	≥ 4	≥ 4	Tetap

7. Metode digital LensHooke X1 Pro

LensHooke X1 Pro merupakan alat analisis sperma digital berbasis teknologi analisis citra dan kecerdasan buatan yang dirancang untuk menilai konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma secara otomatis. Penggunaan alat digital ini bertujuan untuk meningkatkan objektivitas, konsistensi hasil, serta efisiensi waktu pemeriksaan dibandingkan metode manual. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa LensHooke X1 Pro memiliki korelasi yang kuat dengan pemeriksaan manual pada parameter konsentrasi dan motilitas sperma (Agarwal *et al.* 2021)

Seiring dengan perkembangan teknologi di bidang diagnostik laboratorium, metode analisis sperma konvensional mulai dilengkapi dengan pendekatan berbasis digital sebagai alternatif pemeriksaan. Salah satu teknologi tersebut adalah LensHooke X1 Pro, yaitu alat analisis sperma berbasis smartphone yang dilengkapi dengan sistem optik tambahan serta perangkat lunak analitik. Alat ini dirancang untuk melakukan evaluasi parameter sperma secara otomatis melalui analisis citra digital. Beberapa penelitian melaporkan bahwa hasil pemeriksaan konsentrasi dan motilitas sperma menggunakan LensHooke X1 Pro menunjukkan tingkat kesesuaian yang cukup baik dan sebanding dengan metode manual mikroskopik standar WHO (Tayib *et al.* 2019; Fadlilah *et al.* 2022).

Pendekatan digital tersebut diwujudkan melalui pemanfaatan teknologi optik portabel yang terintegrasi dengan aplikasi analisis berbasis smartphone. LensHooke X1 Pro menggunakan optical attachment dan aplikasi khusus

untuk menangkap citra atau video pergerakan sperma, kemudian menganalisis konsentrasi serta motilitas sperma menggunakan algoritma digital. Sistem ini memungkinkan analisis sperma dilakukan secara lebih praktis dan portabel tanpa menghilangkan prinsip dasar pemeriksaan mikroskopik. Pengembangan teknologi ini pertama kali diperkenalkan sebagai solusi analisis sperma berbasis citra digital yang terjangkau dan mudah digunakan (Kanakasabapathy et al., 2017).

Berdasarkan teknologi yang digunakan, prinsip pemeriksaan analisa sperma menggunakan perangkat otomatis digital LensHooke X1 Pro didasarkan pada pemanfaatan teknologi optik digital berupa pengambilan gambar atau video resolusi tinggi dari sampel semen yang dimasukkan ke dalam kaset uji khusus. Citra yang dihasilkan selanjutnya diproses menggunakan sistem pemrosesan citra digital dengan algoritma cerdas untuk secara otomatis mengenali, melacak, dan menghitung jumlah serta pergerakan sperma, serta menilai morfologi dan parameter analisa sperma lainnya secara objektif. Pendekatan ini memungkinkan proses analisa dilakukan dengan waktu yang lebih singkat dan variabilitas antar operator yang lebih rendah, serta dirancang untuk menghasilkan parameter analisa sperma yang mengacu pada standar pemeriksaan WHO (LensHooke X1 Pro User Manual).

Kelebihan alat digital LensHooke X1 Pro adalah sebagai berikut :

- 1) Praktis dan portable (dapat digunakan di luar laboratorium besar)
- 2) Lebih cepat dibanding metode manual
- 3) Mengurangi subjektivitas pemeriksaan
- 4) Biaya lebih rendah dibanding sistem CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*)

Keterbatasan alat digital LensHooke X1 Pro adalah sebagai berikut :

- 1) Akurasi masih perlu divalidasi terhadap metode manual WHO 2021.
- 2) Kualitas hasil dapat dipengaruhi resolusi kamera smartphone dan kondisi pencahayaan.
- 3) Alat digital LensHooke X1 Pro merupakan inovasi dalam teknologi *point-of-care* testing untuk analisis sperma yang berpotensi melengkapi, tetapi bukan sepenuhnya menggantikan metode manual standar WHO.

8. Perbandingan hasil penelitian pemeriksaan analisis sperma metode manual dan digital

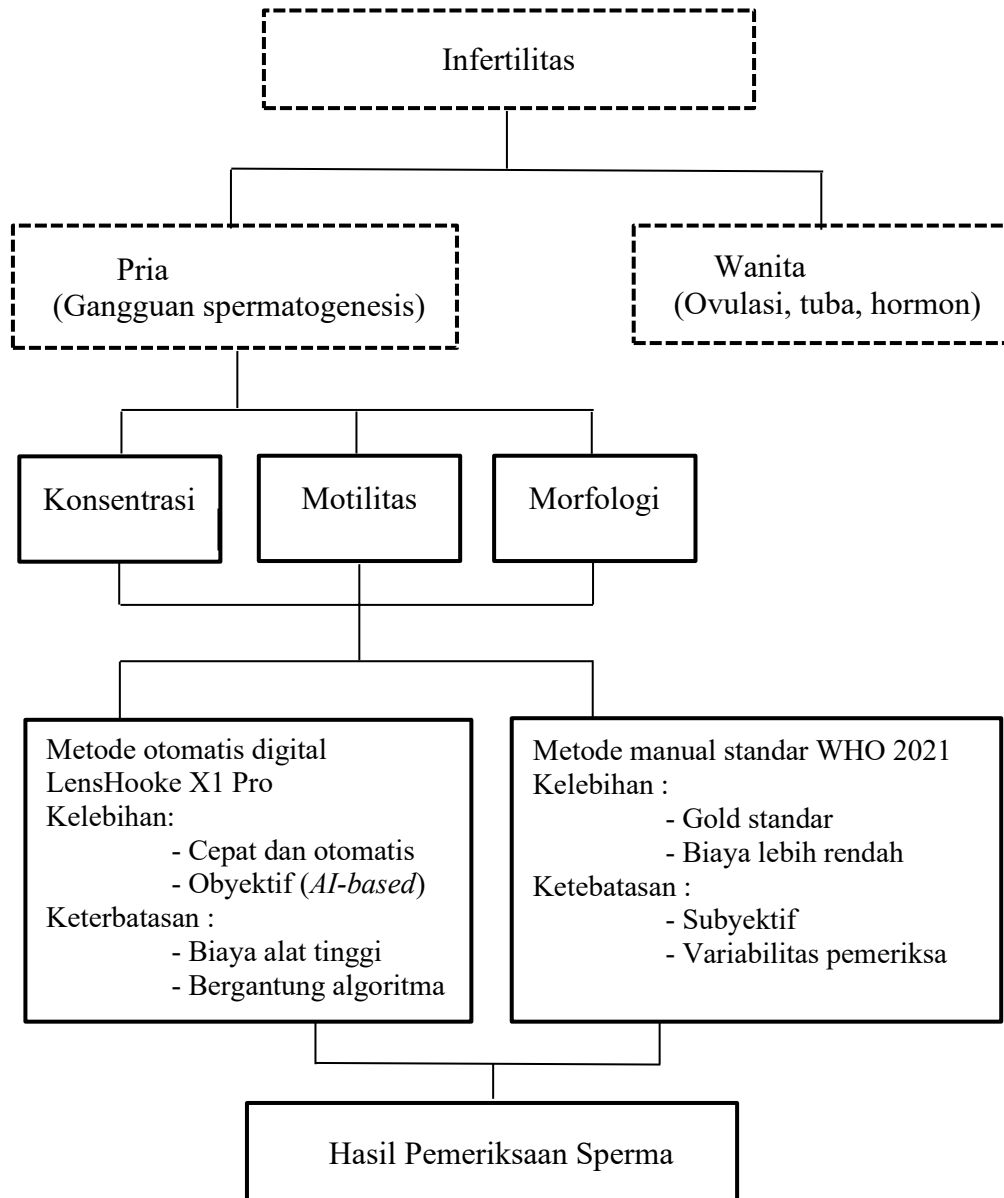
Penelitian sebelumnya melaporkan hasil yang bervariasi, ada yang menyebutkan korelasi kuat antara hasil LensHooke X1 Pro dengan metode manual sesuai standar WHO, namun ada juga studi yang menunjukkan perbedaan signifikan pada parameter tertentu. Penelitian komparatif sangat diperlukan untuk mengetahui sejauh mana akurasi dan kesesuaian hasil pemeriksaan menggunakan LensHooke X1 Pro dibandingkan metode manual sesuai standar WHO 2021.

Penelitian oleh Agarwal *et al.* (2021) melaporkan bahwa hasil pemeriksaan konsentrasi dan motilitas sperma menggunakan LensHooke X1 Pro menunjukkan tingkat kesesuaian yang baik dengan metode manual, meskipun terdapat variasi kecil pada beberapa parameter motilitas. Penelitian lain oleh Ismawatie *et al.* (2021) juga menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna pada hasil konsentrasi sperma antara metode manual dan alat digital LensHooke. Namun demikian, sebagian besar penelitian terdahulu masih menggunakan pedoman WHO edisi 2010.

Dalam evaluasi morfologi sperma, alat digital menunjukkan kemampuan yang baik dalam mengidentifikasi morfologi normal, namun pada kasus abnormalitas morfologi tertentu, pemeriksaan manual tetap diperlukan sebagai konfirmasi karena kompleksitas penilaian bentuk sperma (Agarwal *et al.* 2021).

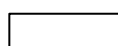
Berdasarkan telaah pustaka, sebagian besar penelitian yang membandingkan metode manual dan metode digital pada pemeriksaan analisis sperma dilakukan sebelum penggunaan WHO 2021 secara luas. Meskipun prosedur pemeriksaan dasar tetap serupa, WHO 2021 merupakan pedoman terbaru yang digunakan dalam praktik laboratorium saat ini. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengevaluasi kesesuaian hasil pemeriksaan konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma antara metode manual dan LensHooke X1 Pro berdasarkan pedoman terkini.

B. Kerangka Teori

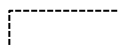


Gambar 2. Kerangka Teori

Keterangan :

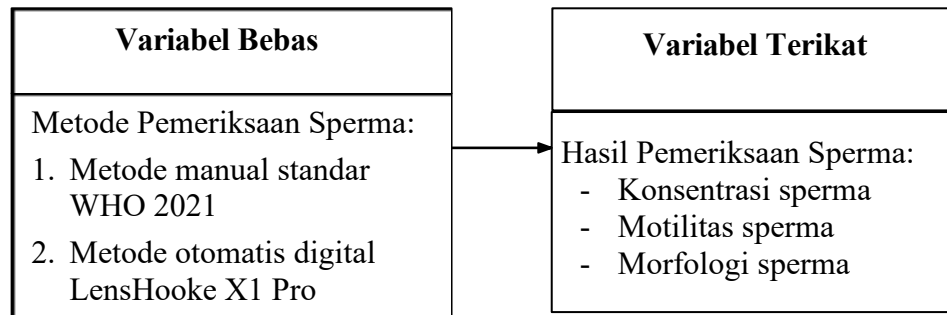


: Diteliti



: Tidak diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan antara metode otomatis digital LensHooke X1 Pro dan metode manual standar WHO 2021 pada hasil konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma.