

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimen dengan variabel bebas adalah ekstrak buah murbei dan variabel terikat adalah kualitas pewarnaan sediaan apus darah pada pemeriksaan mikroskopis malaria. Rancangan penelitian ini adalah apakah ekstrak buah murbei (*Morus alba L*) sebagai alternatif Giemsa pada pemeriksaan malaria dapat digunakan. Dengan menggunakan buah murbei yang masi segar berwarna hitam diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol untuk mendapatkan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% di encerkan menggunakan aquadest. Konsentrasi yang sudah jadi digunakan untuk mewarnai preparat sediaan apus tipis malaria. Pengamatan warna konsentrasi dilakukan secara mikroskopis dengan hasil dibandingkan dengan pewarnaan Giemsa. Pengamatan dilihat berdasarkan warna pada sitoplasma, inti *Plasmodium* eritrosit dan latar belakang sediaan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Organik FMIPA Universitas Lampung dan Laboratorium Parasitologi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang bulan Januari-April 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah buah murbei dalam keadaan segar, berwarna hitam pekat. Buah murbei yang digunakan berumur 6 bulan sudah bisa dipanen dalam keadaan bersih agar mencegah berkurangnya rendaman antosianin serta menghilangkan kotoran yang menempel pada buah. Buah murbei yang digunakan juga harus dalam keadaan halus untuk mempercepat proses penyerapan pelarut, dalam hal ini dipilih etanol sebagai pelarut (Susanti, 2020).

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah ekstrak buah murbei lalu diencerkan dalam konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% yang akan digunakan

untuk pengecatan pada sediaan apus tipis malaria. Darah yang digunakan diambil dari Puskesmas Sukamaju Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung.

Konsentrasi sampel pada penelitian ini ada 5 dan Giemsa 3% sebagai kontrol disetiap konsentrasi dengan 4 kali pengulangan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

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

Keterangan :

t : Perlakuan

n : Pengulangan

$$(5) (n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

D. Variable dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	skala
1.	Variabel bebas: ekstrak buah murbei (<i>Morus alba L</i>)	Buah murbei (<i>Morus alba L</i>) diekstrak menggunakan pelarut etanol dan diencerkan dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30% dan 35%.	Pipet ukur dan pengenceran	gelas ukur	konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30% dan 35%.	Rasio
2.	Variabel bebas : pengecatan Giemsa	Menggunakan Giemsa 3% dengan cara mencampur 3	Pengenceran	Pipet ukur	Giemsa 3%	Rasio

	bagian <i>Giemsa</i> <i>stock</i> dan 97 bagian larutan <i>buffer</i>				
3.	Variabel terikat : Kualitas pewarnaan sediaan apus darah: - Sitoplasma - Inti <i>Plasmodium</i> - Eritrosit - Latar belakang sediaan	Kualitas sediaan apus darah yang di periksa di mikroskop. sitoplasma Berwarna biru, inti <i>Plasmodium</i> berwarnamerah Eritrosit berwarna merah muda. Bersih bebas dari sisa cat.	Identifikasi	Mikroskop	Skor 6-8 baik dan skor 4-5 kurang baik (Kusumawati, 2018 yang dimodifikasi)
					Ordinal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur penelitian

- a. Pembuatan surat izin penelitian dari Poltekkes Tanjungkarang
Pembuatan surat izin pengambilan sampel malaria di Puskesmas Sukamaju Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung.
- b. Pembuatan simplisia dengan menyiapkan buah murbei (*Morus alba L*) yang masi segar memiliki umur 6 bulan untuk siap dipanen dan berwarna hitam, kemudian buah murbei di cuci lalu dihaluskan. Hasil penghalusan ini disebut simplisia.
- c. Pembuatan ekstrak buah murbei di laboratorium teknologi laboratorium medis dengan proses pengekstraksian simplisia buah murbei dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol.
 - 1) Simplisia kering buah murbei di blender hingga halus.
 - 2) Dimasukkan 250 gram simplisia yang telah halus ke dalam botol berwarna hitam. Ditambahkan larutan etanol sebanyak 750 ml hingga simplisia terendam etanol.

- 3) Simplisia di maserasi selama 3 hari.
 - 4) Setelah dimaserasi, kemudian disaring hingga di dapatkan maserat.
 - 5) Maserat yang didapat kemudian di pekatkan dengan rotary evaporator selama 4 jam dengan kecepatan 60 rpm, suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak agak kental.
- d. Pembuatan konsentrasi bahan uji
- a. Larutan ekstrak 100% yang sudah di panaskan lalu diencerkan menjadi konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35%.
 - b. Rumus pengenceran ekstrak buah murbei yang digunakan adalah $V_1 \times \%_1 = V_2 \times \%_2$.
- e. Pengambilan sampel malaria di Puskesmas Sukamaju Teluk Betung Bandar Lampung lalu sampel dibuat sediaan apus tipis kemudian dikeringkan.
- f. Ekstrak buah murbei konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% dilakukan pengecatan pada sediaan apus tipis dengan berbagai konsentrasi.
- Cara kerja
- a. Persiapan alat dan bahan
 - 1) Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur, beaker glass, kertas saring, toples kaca, objek glass, mikroskop, gelas plastik, Pipet tetes, gelas ukur, botol coklat, rotary evaporator dan sendok plastik.
 - 2) Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Giemsa stock*, *buffer*, etanol, aquadest, buah murbei (*Morus alba L*), sampel darah positif malaria.
 - b. Pembuatan simplisia

Buah murbei dicuci hingga bersih dan di keringkan menggunakan tissue. Selanjutnya di timbang 250 gram lalu buah murbei dikeringkan dengan cara di tutup kain hitam dan di jemur dibawah sinar matahari secara tidak langsung. Buah murbei yang telah kering lalu dihaluskan menggunakan blender serta diayak sehingga menjadi bentuk serbuk dan disimpan dalam wadah yang kering dan tertutup (Handoyo dan Pranoto, 2020).

c. Pembuatan ekstrak buah murbei

Pembuatan ekstrak ini menggunakan pendekatan metode yang telah dilakukan oleh Yobi (2018).

- 1) Siapkan 5 beaker glass 1000 ml.
- 2) Simplisia buah murbei (*Morus alba L*) ditimbang sebanyak 250 gram lalu dimasukkan kedalam beaker glass.
- 3) Kemudian direndam dengan pelarut etanol sebanyak 750 ml sampai serbuk terendam sempurna.
- 4) Simplisia dimaserasi selama 3 hari
- 5) Setelah di maserasi, kemudian di saring hingga didapatkan maserat.
- 6) Maserat yang didapat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator selama 4 jam dengan kecepatan 60 rpm, suhu 50 c hingga diperoleh ekstak agak kental.
- 7) Ekstak di encerkan dengan varian konsentrasi menggunakan aquadest steril dengan rumus pengenceran :

(Manu, 2013)

$$V_1 \times \%_1 = V_2 \times \%_2$$

Keterangan :

V_1 = volume larutan uji yang dipipet (ml)

$\%_1$ = konsentrasi larutan uji (100%)

V_2 = volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest steril

$\%_2$ = konsentrasi yang akan dibuat (%)

d. Pewarnaan sediaan apus tipis

Sampel darah malaria di peroleh di Puskesmas Sukamaju Teluk Betung Bandar Lampung. Sampel di buat apusan darah tipis lalu dikeringkan kemudian dilakukan pengecatan menggunakan ekstrak buah murbei yang telah di tentukan sebagai berikut :

- 1) Sediaan tipis yang sudah kering difiksasi dengan methanol.
- 2) Letakkan pada rak pewarna dengan posisi darah berada di atas
- 3) Siapkan ekstrak buah murbei konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% tuang larutan ekstrak buah murbei dari tepi hingga

menutupi seluruh permukaan object glass. Biarkan 45-60 menit.

- 4) Kemudian bilas di air mengalir secara perlahan-lahan. Angkat dan keringkan sediaan. Setelah kering, sediaan siap diperiksa di mikroskop.

F. Analisis Data

Data hasil skoring yang diperoleh dari hasil penilaian ditotal lalu dihitung rerata skoring. Nilai skor yang diberikan pada 4 parameter yaitu 1-2 dengan total skor dikategorikan baik apabila skor 6-8 dan tidak baik dengan skor 4-5 (Kusumawati, 2018 yang dimodifikasi). Hasil skoring dari penilaian parameter dianalisis dengan *Kruskal Wallis Test* dengan nilai signifikan $p < 0,05$.