

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penyusunan adalah desain penelitian Deskriptif dengan pendekatan Eksperimental. Penelitian ini dilakukan dengan cara pengambilan data primer secara mikroskopis. Variabel penelitian ini yaitu variasi waktu penundaan pengecatan sediaan darah setelah fiksasi dan pengaruh morfologi parasit malaria dan morfologi sel eritrosit pada penundaan pengecatan sediaan darah setelah fiksasi.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeriksaan mikroskopis dan pembuatan preparat pada penelitian ini dilakukan di Puskesmas Padang Cermin. Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian yaitu pasien yang melakukan pemeriksaan malaria di Puskesmas Padang Cermin Kabupaten Pesawaran Provinsi Lampung pada bulan Maret-April 2024.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah bagian dari populasi yaitu pasien yang terdiagnosa positif malaria yang berjumlah 8 sampel, dan berasal dari wilayah kerja Puskesmas Padang Cermin Kabupaten Pesawaran Provinsi Lampung pada bulan Maret-April 2024.

D. Definisi Oprasional

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Waktu pemeriksaan 0 jam dan 1 jam	Pengaruh lama penundaan pengecatan setelah fiksasi sediaan darah malaria pada morfologi parasit dengan variasi waktu 1 jam di wilayah Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung pada bulan Maret-April 2024.	Mikroskopis sediaan darah tipis	Stopwatch	0 jam dan 1 jam	Nominal
2	Morfologi parasit malaria	Morfologi <i>Plasmodium</i> dimulai dari trophozoit muda sampai skizon tua dan diakhiri pembentukan gametosit. Untuk mendiagnosanya perlu dilakukan pembuatan sediaan darah di wilayah Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung pada bulan Maret-April 2024.	Mikroskopis darah tipis	Pewarnaan Giemsa dan mikroskop	Ditemukan morfologi parasit malaria normal yaitu trophozoit muda berbentuk cincin, skizon sitoplasma berwarna biru, diakhiri gametosit berbentuk bulat besar.	Nominal
3	Morfologi sel eritrosit	Morfologi sel eritrosit dinilai dari bentuk, warna, dan ukuran. Untuk mendiagnosanya perlu dilakukan pembuatan sediaan darah di wilayah Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung pada bulan Maret-April 2024.	Mikroskopis darah tipis	Pewarnaan Giemsa dan mikroskop	Ditemukan morfologi eritrosit normal yaitu bentuk cakram bikonkaf, berwarna merah berdiameter atau ukuran yang sama dengan eritrosit normal	Nominal

E. Pengumpulan Data

Langkah awal yang diambil adalah melakukan pencarian literatur sebagai dasar teoritis. Peneliti melakukan observasi di lokasi, yaitu wilayah

Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung. Pengumpulan data dilaksanakan melalui tiga tahap sebagai berikut:

1. Prosedur Penelitian

Mengajukan permohonan izin penelitian kepada Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, dengan maksud untuk melakukan penelitian di Puskesmas Padang Cermin, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung..

2. Pengambilan Sampel

Pengambilan dari ke 8 sampel dilakukan dengan mengambil darah kapiler dari pasien yang telah dikonfirmasi positif malaria. Setelah itu, pembuatan sediaan darah malaria dilakukan di Laboratorium Kesehatan Puskesmas Padang Cermin. Selama proses tersebut, sediaan darah diidentifikasi secara mikroskopis untuk mendeteksi morfologi pada *Plasmodium* nya dan pada eritrosit.

3. Identifikasi *Plasmodium*

Langkah identifikasi *Plasmodium* dilaksanakan untuk mengidentifikasi morfologi parasit malaria dalam pemeriksaan sediaan darah. Proses ini dilakukan dengan dua metode, yaitu pengecatan segera setelah fiksasi dan pengecatan yang ditunda selama 1 jam setelah fiksasi, yang diimplementasikan pada sampel darah kapiler. Pemeriksaan secara mikroskopis kemudian dilakukan untuk mengevaluasi morfologi *Plasmodium*.

4. Prosedur Pemeriksaan Sampel

a. Persiapan alat dan bahan

Mikroskop, lanset, kaca objek, minyak imersi, kapas, alkohol 70%, Giemsa 3%, metanol absolut, tempat pembuangan, perban, pipet tetes, dan rak pengecatan.

b. Cara kerja pengambilan sediaan darah kapiler

- 1) Bersihkan lokasi pengambilan darah menggunakan kapas beralkohol untuk menghapus kotoran dan minyak, lalu pastikan area tersebut kering.

- 2) Setelah area mengering, tusukkan dengan cepat pada lokasi tersebut menggunakan lanset. Setelahnya, buang lanset dengan aman.
 - 3) Buang tetes darah pertama yang muncul dan lap dengan tisu untuk menghilangkan bekuan darah dan residu alkohol.
 - 4) Tempatkan tetes darah berikutnya diatas kaca objek, dengan 1 tetes kecil darah ($\pm 2 \mu\text{L}$ /diameter 1-2 mm) ditengah untuk sediaan darah tipis.
 - 5) Bersihkan sisa darah di lokasi pengambilan.
 - 6) Letakkan kaca objek yang telah diberi tetesan darah di atas meja atau permukaan datar.
 - 7) Untuk membuat sediaan darah tipis, tempelkan ujung kaca objek yang lain (bukan cover glass) pada tetes darah kecil, memastikan darah merata sepanjang ujung kaca objek tersebut.
 - 8) Dengan membentuk sudut 45 derajat, geser kaca objek dengan cepat ke arah yang berlawanan dengan tetes darah tebal, sehingga membentuk sediaan apus berbentuk lidah.
 - 9) Biarkan sediaan darah tipis mengering dipermukaan datar. Proses pengeringan sebaiknya dilakukan pada suhu yang tidak terlalu tinggi, karena suhu tinggi dapat menyebabkan sediaan darah retak.
 - 10) Selama proses pengeringan, hindari paparan sediaan darah tipis terhadap serangga (semisal semut, lalat, kecoa), debu, kelembaban tinggi, dan getaran.
 - 11) Setelah mengering, segera warnai sediaan dengan larutan Giemsa. Jika tidak memungkinkan, sebaiknya sediaan darah tipis diwarnai dalam waktu maksimal 24 jam setelah pembuatannya (Kemenkes, 2020).
- c. Langkah-langkah Pewarnaan Sediaan Darah Segera
- 1) Setelah sediaan darah tipis mengering, lakukan fiksasi dengan menggunakan methanol absolut.

- 2) Letakkan kaca sediaan pada rak pewarnaan dengan posisi darah berada di bagian atas.
 - 3) Persiapkan larutan Giemsa 3%.
 - 4) Tuangkan larutan Giemsa 3% secara merata dari tepi hingga meliputi seluruh permukaan kaca objek, lalu biarkan selama 45–60 menit.
 - 5) Saat mencuci, tambahkan air bersih secara perlahan dari tepi kaca objek hingga larutan Giemsa yang terbuang menjadi jernih. Sediaan darah tipis kemudian dikeringkan dan siap untuk diperiksa dibawah mikroskop (Kemenkes, 2020).
- d. Langkah-langkah Pewarnaan Sediaan Darah Yang Ditunda
- 1) Setelah sediaan darah tipis mengering, lakukan fiksasi menggunakan methanol.
 - 2) Biarkan sediaan darah tipis tetap selama 1 jam setelah proses fiksasi.
 - 3) Setelah satu jam, lakukan pewarnaan dengan meletakkan kaca sediaan pada rak pewarnaan, dengan posisi darah berada di atas.
 - 4) Persiapkan larutan Giemsa 3%.
 - 5) Tuangkan larutan Giemsa 3% secara merata dari tepi hingga meliputi seluruh permukaan kaca objek, lalu biarkan selama 45-60 menit.
 - 6) Saat mencuci, tambahkan air bersih secara perlahan dari tepi kaca objek hingga larutan Giemsa yang terbuang menjadi jernih.
 - 7) Sediaan darah tipis dikeringkan dan siap untuk diperiksa di bawah mikroskop.
- e. Interpretasi hasil mikroskop
- 1) Sampel darah yang digunakan untuk pemeriksaan sediaan darah berasal dari darah kapiler.
 - 2) Morfologi sel eritrosit dinilai dari bentuk seperti cakram, berwarna merah ditengahnya tampak lebih pucat, dan memiliki diameter/ukuran variasi yang sama dengan eritrosit normal.

- 3) Tahap-tahap perkembangan parasit malaria mencakup trophozoit, skizon, dan gametosit.
- 4) *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* adalah spesies parasit malaria yang telah terdeteksi (Kemenkes, 2020).

F. Pengolahan dan Analisa Data

Dalam penelitian ini, setelah data terkumpul, dilakukan analisis data untuk mengevaluasi efek penundaan pewarnaan setelah proses fiksasi terhadap morfologi parasit malaria dan morfologi eritrosit. Pendekatan analisis yang diterapkan adalah deskriptif, dengan tujuan untuk mengetahui dampak yang muncul terhadap morfologi parasit malaria dan morfologi eritrosit sebagai akibat dari variasi waktu dalam pemberian pewarnaan.