

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif dengan desain penelitian *cross sectional* yaitu mengidentifikasi keberadaan *basophilic stippling* pada petugas SPBU di Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung tahun 2024.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

1. Lokasi Penelitian ini dilakukan di SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung sebagai tempat pengambilan sampel dan di Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang sebagai tempat pemeriksaan sampel.
2. Waktu Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Juli tahun 2024.

#### **C. Populasi dan Sampel**

1. Populasi penelitian ini adalah seluruh petugas SPBU yang bekerja di SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung yang berjumlah 35 orang.
2. Sampel penelitian ini adalah seluruh populasi (35 orang) petugas SPBU yang bekerja di SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung dengan kriteria inklusi yaitu:
  - a. Petugas yang bekerja di area SPBU.
  - b. Petugas yang bersedia menjadi responden penelitian.Sedangkan kriteria eksklusinya antara lain:
  - a. Petugas yang sedang mengalami anemia.
  - b. Petugas yang menderita thalasemia.

#### D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel penelitian ini adalah keberadaan *basophilic stippling* pada petugas SPBU yang dikelompokkan berdasarkan usia, jenis kelamin, lama kerja, dan penggunaan APD (masker, sepatu keselamatan, dan sarung tangan).

2. Definisi operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional.

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Petugas SPBU	Orang yang bekerja sebagai pengisi bahan bakar kendaraan bermotor di SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung	Wawancara	Kuesioner	Jumlah petugas SPBU	Rasio
Usia	Lama waktu hidup seseorang sejak dilahirkan sampai menjadi responden penelitian pada petugas SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung	Wawancara	Kuesioner	a. 17-25 tahun b. 26-35 tahun c. 36-45 tahun (Kemenkes RI, 2021)	Ordinal
Jenis Kelamin	Perbedaan biologis antara laki-laki dan perempuan yang didapat sejak lahir pada petugas SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung	Wawancara	Kuesioner	a. Laki-laki b. Perempuan	Nominal
Lama kerja	Lamanya pekerja telah bekerja di suatu tempat sampai menjadi responden penelitian pada petugas SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung	Wawancara	Kuesioner	a. $\leq 3$ tahun b. $> 3$ tahun (Handoko, 2007)	Ordinal
Penggunaan APD	Seperangkat alat yang dipakai oleh pekerja sebagai perlindungan tubuh dari adanya kemungkinan bahaya dan kecelakaan di	Wawancara	Kuesioner	a. Lengkap (menggunakan masker, sepatu keselamatan, dan sarung tangan)	Nominal

	tempat kerja pada petugas SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung			b. Tidak lengkap (tidak menggunakan salah satu APD atau lebih)	
<i>Basophilic stippling</i>	Benda inklusi dalam eritrosit berupa titik-titik berwarna biru gelap yang terdistribusi merata ke seluruh sitoplasma sel pada petugas SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung	SAD dengan pengecatan Giemsa	Mikroskop	a. (+), terdapat <i>basophilic stippling</i> b. (-), tidak terdapat <i>basophilic stippling</i>	Nominal

### E. Pengumpulan Data

Data diperoleh dengan langkah sebagai berikut.

1. Peneliti mengajukan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjungkarang yang kemudian ditujukan kepada Pimpinan 5 SPBU Kecamatan Rajabasa, Labuhan Ratu, dan Kedaton Kota Bandar Lampung.
2. Setelah diizinkan penelitian, kemudian peneliti membagikan lembar penjelasan sebelum persetujuan (PSP) dan membagikan lembar *informed consent* kepada petugas SPBU tujuan penelitian yang bersedia menjadi responden penelitian.
3. Lalu peneliti melakukan pengambilan sampel darah petugas SPBU sekaligus membagikan kuesioner. Sampel darah yang telah didapatkan dimasukkan ke tabung antikoagulan kemudian langsung dibuat sediaan apus darah (SAD) dan difiksasi pada saat itu juga.
4. Lalu SAD dibawa ke Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang untuk diwarnai dan diamati dengan mikroskop untuk melihat keberadaan sel *basophilic stippling* dari darah petugas SPBU tersebut.

Prosedur pemeriksaan *basophilic stippling* adalah sebagai berikut.

1. Alat dan bahan pemeriksaan

a. Alat

Handscoon, spuit, torniquet, bantalan, alkohol swab 70%, plester, tabung antikoagulan K<sub>3</sub>EDTA, ice box, kaca objek, pipet tetes, rak pengecatan, dan mikroskop.

b. Bahan

Darah vena, antikoagulan, metanol absolut, pewarna Giemsa stock, buffer pH 6,4, dan minyak imersi.

c. Bahan pemeriksaan

Darah vena + K<sub>3</sub>EDTA.

2. Metode pemeriksaan *basophilic stippling*

Sediaan Apus Darah (SAD) dengan pewarnaan Giemsa.

3. Prinsip pemeriksaan *basophilic stippling*

a. Prinsip Sediaan Apus Darah (SAD)

Dibuat apusan darah pada *object glass*.

b. Prinsip pewarnaan Giemsa

Dua zat warna yang terkandung dalam Giemsa akan mewarnai sel-sel darah berdasarkan kecenderungan sel tersebut mengikat salah satu zat, sehingga sel terwarnai dan dapat dilihat di mikroskop (Nugraha, 2021).

4. Cara kerja

a. Teknik flebotomi

- 1) Alat dan bahan disiapkan.
- 2) Letakkan bantalan di bawah siku dan pasang torniquet di atas lekukan lengan lalu minta pasien untuk mengepalkan tangan supaya vena terlihat. Pemasangan torniquet sebaiknya tidak terlalu lama.
- 3) Raba kulit pasien untuk memastikan bagian vena yang ditusuk.
- 4) Bersihkan kulit daerah pembuluh vena yang akan ditusuk dengan alkohol swab dan biarkan kering.

- 5) Regangkan kulit agar vena tidak bergerak.
  - 6) Tusuk kulit sampai lubang jarum memasuki pembuluh vena dan darah terlihat masuk ke ujung spuit.
  - 7) Tarik penghisap spuit sampai mendapatkan volume darah yang diinginkan dan lepas tourniquet secara perlahan.
  - 8) Letakkan alkohol swab di atas jarum dan tekan sedikit agar darah tidak meluber.
  - 9) Cabut spuit, dan segera tutup jarum dengan penutupnya.
  - 10) Tutup bekas tusukan tadi dengan plester dan pasien diminta untuk tidak menekuk lengannya selama beberapa saat agar tidak terjadi hematoma.
  - 11) Lepaskan jarum dari spuit, lalumasukkan darah kedalam tabung antikoagulan K<sub>3</sub>EDTA dan homogenkan.
- b. Persiapan sampel darah
- 1) Minimal volume darah yang diambil adalah 1 mL dan maksimal 3 mL, lalu masukkan kedalam tabung antikoagulan K<sub>3</sub>EDTA. Perbandingan antikoagulan dan darah yaitu 10  $\mu$ L per 1 mL darah.
  - 2) Homogenkan darah dalam tabung.
  - 3) Masukkan tabung darah ke dalam ice box untuk mencegah darah lisis dan membeku dalam perjalanan menuju laboratorium.
- c. Pembuatan SAD
- 1) Pilih kaca objek yang bersih, kering, bebas lemak sebagai kaca preparat.
  - 2) Pilih kaca objek lain dengan tepian rata sebagai kaca pembuat apusan.
  - 3) Homogenkan kembali tabung darah dan teteskan darah setetes kecil di ujung kaca preparat.
  - 4) Posisikan kaca pembuat apusan membentuk sudut 30-45° dengan kaca preparat di depan tetesan darah tadi.

- 5) Geser kaca pembuat apusan kebelakang sampai menyentuh tetesan darah, biarkan darah menyebar ke kedua sudut kaca preparat.
  - 6) Dengan gerakan perlahan tapi pasti, dorong kaca pembuat apusan ke depan hingga terbentuk apusan darah.
  - 7) Biarkan apusan darah kering di udara.
  - 8) Beri identitas di balik kaca preparat.
- d. Pewarnaan Giemsa
- 1) Letakkan SAD diatas rak pengecatan dengan posisi apusan darah menghadap ke atas.
  - 2) Teteskan metanol absolut sampai menutupi seluruh permukaan apusan untuk memfiksasi sel darah, biarkan selama 2-5 menit.
  - 3) Buang sisa metanol absolut.
  - 4) Genangi SAD dengan larutan Giemsa selama 10-15 menit dengan perbandingan:  
Giemsa stock (4 tetes) : Buffer pH 6,4 (1 mL)
  - 5) Bilas sisa larutan Giemsa langsung dengan air mengalir secara perlahan.
  - 6) Letakkan SAD dengan posisi vertikal dan biarkan kering di udara.
- e. Pemeriksaan *basophilic stippling*
- 1) Letakkan SAD di mikroskop dengan lensa objektif 4x untuk mencari lapangan pandang penyebaran eritrosit yang merata.
  - 2) Lalu ganti lensa objektif menjadi 100x dan teteskan minyak imersi di bagian SAD yang tipis untuk memeriksa morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit.
  - 3) Amati keberadaan *basophilic stippling* dengan ciri adanya titik-titik berwarna biru gelap yang tersebar merata ke seluruh sitoplasma sel eritrosit dalam 100 lapangan pandang. Dalam keadaan normal, tidak ditemukan adanya *basophilic stippling*

dalam eritrosit. Adanya *basophilic stippling* menunjukkan kelainan morfologi eritrosit yaitu benda inklusi dalam eritrosit.

## **F. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Pengolahan Data**

Penelitian ini menggunakan data primer yaitu keberadaan *basophilic stippling* pada darah petugas SPBU. Lalu data disusun dalam bentuk tabel.

### **2. Analisis Data**

Data diperoleh dari pemeriksaan *basophilic stippling* pada SAD kemudian dianalisa menggunakan analisis univariat dengan menghitung persentase keberadaan *basophilic stippling* pada petugas SPBU yang dikelompokkan berdasarkan usia, jenis kelamin, lama kerja, dan penggunaan APD yang disajikan dengan tabel.