

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif dengan design *Cross-Sectional* tentang Gambaran Pemeriksaan Parasitemia Pada Penderita Malaria di Puskesmas Sukamaju Kecamatan Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung pada bulan Oktober-Desember 2024.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Puskesmas Sukamaju Kecamatan Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung.

2. Waktu

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2025

C. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah seluruh pasien yang melakukan pemeriksaan malaria dan tercatat dalam rekam medik di Laboratorium Puskesmas Sukamaju Kecamatan Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung pada bulan Oktober-Desember 2024 sebanyak 1.152 orang.

2. Sampel

Sampel penelitian ini diambil dari populasi yaitu semua penderita yang di diagnosa positif terinfeksi malaria berdasarkan dari pemeriksaan mikroskopis di Laboratorium Puskesmas Sukamaju pada bulan Oktober-Desember 2024 sebanyak 77 penderita.

3. Kriteria sampel

a) Inklusi

Sediaan Apusan Darah yang masih bagus pengecatannya dan masih bisa dibaca dengan mikroskop tanpa adanya kerusakan pada SAD seperti goresan dan kotoran yang menempel pada SAD.

b) Eksklusi

Sediaan Apusan Darah dengan pewarnaan yang sudah rusak, SAD pecah dan hilang.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Variabel penelitian ini yaitu jumlah penderita malaria, Derajat parasitemia, dan persentase penderita malaria berdasarkan distribusi frekuensi spesies *Plasmodium*, di Puskesmas Sukamaju Kecamatan Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung pada bulan Oktober-Desember 2024.

Tabel 3. 1 Variabel dan Data Operasional Penelitian

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Penderita Malaria	Penderita malaria yang dinyatakan positif malaria berdasarkan pemeriksaan mikroskopis di Puskesmas Sukamaju	Pengamatan dan Pencatatan	Mikroskop	Positif jika ditemukan <i>Plasmodium</i> pada pemeriksaan mikroskopis dan Negatif jika tidak ditemukan <i>Plasmodium</i> pada pemeriksaan mikroskopis	Ordinal
2.	Derajat parasitemia	Ditemukan spesies parasit dan jumlah eritrosit yang terinfeksi pada sediaan darah tipis di Puskesmas Sukamaju	Pengamatan, pencatatan secara mikroskopis, dan perhitungan dengan rumus	Mikroskop	Low (<5% eritrosit yang terinfeksi), <i>Medium</i> (5-10% eritrosit yang terinfeksi), <i>High</i> (>10% eritrosit yang terinfeksi), (Firhat, dkk. 2015)	Ordinal
3.	Spesies Plasmodium	Spesies parasit yang ditemukan pada sediaan apus darah positif saat pemeriksaan secara mikroskopis	Pengamatan, pencatatan secara mikroskopis, dan perhitungan dengan rumus	Mikroskop	Jenis <i>Plasmodium</i> malaria, antara lain: a. <i>Plasmodium falciparum</i> b. <i>Plasmodium vivax</i> c. <i>Plasmodium falciparum</i> dan <i>Plasmodium vivax</i> (mix)	Nominal

E. Pengumpulan Data

1. Persiapan Penelitian

- a) Peneliti melakukan penelusuran pustaka mengenai kasus malaria dengan membaca buku dan artikel ilmiah.
- b) Melakukan pra-survey untuk mendapatkan informasi tentang kasus penderita malaria.
- c) Mengurus surat izin penelitian dari Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk diajukan ke Puskesmas Sukamaju Kecamatan Teluk Betung Timur Kota Bandar Lampung.
- d) Setelah mendapat surat izin dari Poltekkes Tanjungkarang peneliti mengurus surat izin penelitian ke bagian administrasi Puskesmas Sukamaju.
- e) Setelah mendapat balasan izin penelitian dari Puskesmas, selanjutnya peneliti mengumpulkan data dari rekam medik untuk mengetahui jumlah pasien yang positif terinfeksi malaria dari keseluruhan pasien yang melakukan pemeriksaan antara lain: nama, dan hasil pemeriksaan secara mikroskopis dengan ada tidaknya bentuk dari *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*+*Plasmodium vivax*(mix).
- f) Melakukan pemeriksaan secara mikroskopis untuk mengetahui distribusi frekuensi spesies *Plasmodium*, dan menghitung derajat parasitemia dengan menggunakan Sediaan Apus Darah Tipis pada spesimen penderita yang telah disediakan di Laboratorium Puskesmas Sukamaju.
- g) Mengkonfirmasi hasil penelitian kemudian meminta validasi dari enumerator hasil pemeriksaan yang tercatat dalam buku register Laboratorium Puskesmas Sukamaju.

2. Prosedur kerja

Berdasarkan "Pedoman Teknis Pemeriksaan Parasit Malaria" yang diterbitkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2017, berikut adalah prosedur pemeriksaan malaria secara mikroskopis.

A. Alat dan Bahan

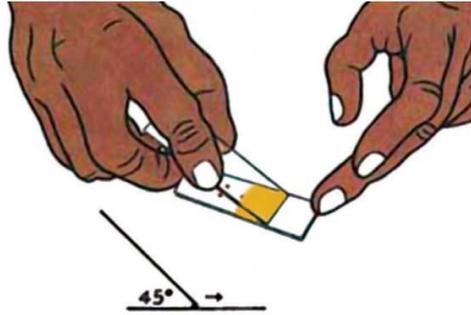
1. Alat
 - a. Mikroskop
2. Bahan
 - a. Objek *glass*
 - b. Minyak imersi (*immersion oil*)
 - c. Bufer *solution* (7,2)
 - d. Giemsa *stock*
 - e. Methanol *absolute*

B. Prosedur kerja

1. Jenis sediaan darah
 - a. SD tebal

Di dalamnya terdapat sel eritrosit yang terhemolisis dengan jumlah besar. Parasit yang ada lebih mudah dilihat di bawah mikroskop karena terkonsentrasi di area yang lebih kecil.
 - b. SD tipis

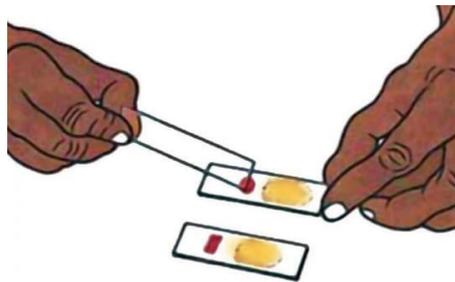
Setelah ditemukan dalam SAD tebal, lapisan sel eritrosit yang tersebar digunakan untuk identifikasi morfologi parasit *Plasmodium*.
2. Cara membuat SAD
 - a. Mengambil object glass yang bersih (kemudian dipegang bagian tepi object glass)
 - b. Memipet darah dari tabung EDTA dan meneteskan 1 tetes darah ($\pm 2\mu\text{l}$) di bagian tengah kaca sediaan untuk SAD tipis. Kemudian, untuk SAD tebal, teteskan 2-3 tetes darah kecil ($\pm 6\mu\text{l}$) di bagian ujung kaca sediaan.
 - c. Diletakkan kaca slide yang ada tetesan darah tadi diatas meja.
 - d. Membuat SAD tipis, gunakan kaca sediaan baru (atau kaca sediaan kedua) dan kaca sediaan ditempelkan dengan tetes darah tadi hingga darah tersebar pada kaca sediaan.



Sumber : (Kementerian Kesehatan, 2017)

Gambar 3. 1 Pembuatan SAD Tipis

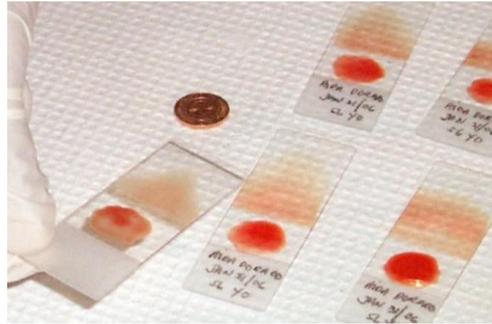
- e. Kaca sediaan digeser dengan cepat dengan berlawanan arah dengan tetes darah tebal dengan sudut 45° untuk menghasilkan sediaan apus seperti lidah.
- f. Membuat SAD yang tebal, tempelkan ujung kaca sediaan kedua pada tiga tetes darah tebal. Membentuk bulatan diameter 1 cm dibuat dengan memutar ujung kaca searah jarum jam.



Sumber : (Kementerian Kesehatan, 2017)

Gambar 3. 2 Pembuatan SAD Tebal

- g. SAD di beri label dengan menggunakan kertas label atau *object glass frosted* dengan menuliskan nama dan tanggal dari sampel darah tersebut di ambil.

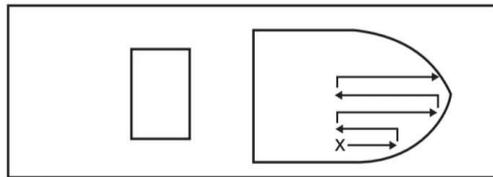


Sumber : (Kementerian Kesehatan, 2017)

Gambar 3. 3 Pemberian label pada SAD

- h. SAD harus dikeringkan dengan perlahan dan hati-hati pada tempat yang rata. Tidak disarankan untuk menggunakan lampu, seperti lampu mikroskop, atau pengering rambut, karena dapat menyebabkan retakan pada SAD, yang dapat memengaruhi hasil pemeriksaan.
 - i. Setelah SAD kering harus segera diwarnai.
3. Pewarnaan SD
 - a. SAD tipis yang telah mengering difiksasi menggunakan methanol. hindari kontak dengan SAD tebal.
 - b. Membuat larutan giemsa 3% yaitu mencampur 3 bagian giemsa stock dan 97 bagian larutan buffer solution 7,2%. Menuangkan larutan giemsa 3% dimulai dari pinggir hingga semua permukaan SAD tertutup dan tunggu dalam waktu 45-60 menit.
 - c. Mengalirkan air bersih dengan pelan-pelan dengan ujung jari dimulai dari ujung object glass hingga larutan giemsa hilang. Lalu angkat lalu keringkan SAD. Jika SAD sudah kering siap untuk dilakukan pemeriksaan.
4. Pemeriksaan mikroskop SAD
 - a. Pemeriksaan SAD tipis
 - 1) Meletakkan SAD pada meja sediaan mikroskop.
 - 2) Mengamati SAD menggunakan lensa objektif pembesaran 10x lalu memfokuskan lapang pandang pada bagian bertanda "x" (dalam gambar).

- 3) Meneteskan immersion oil pada bagian yang bertanda “x”. Lensa objektif diganti dengan pembesaran 100x.
- 4) Memfokuskan lapang pandang dengan cara memutar mikrometer hingga sel darah merah terlihat jelas. Pemeriksaan SAD dengan menggerakkan meja sediaan sediaan kekiri lalu ke kanan sesuai arah panah, seperti yang ditunjukkan dalam gambar.



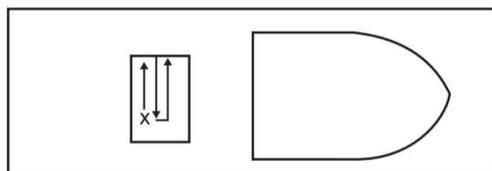
Sumber : (Kementerian Kesehatan, 2017)

Gambar 3. 4 Pembacaan SAD Tipis

- 5) Lakukan pemeriksaan hingga 100 lapang pandang memastikan hasil negatif. Bila perlu, diperiksa hingga 400 lapang pandang.

b. Pemeriksaan SAD tebal

- 1) Meletakkan SAD pada meja sediaan mikroskop.
- 2) Mengamati SAD dengan lensa objektif 10x lalu memfokuskan lapang pandang di bagian tepi SAD tebal (ditunjukkan tanda “x” dalam gambar).
- 3) Meneteskan immersion oil pada bagian yang ditunjukkan dengan tanda “x”.
- 4) Mengganti lensa objektif menjadi pembesaran 100x.
- 5) Memfokuskan lapang pandang dengan cara memutar mikrometer hingga sel leukosit jelas. Pemeriksaan SAD dengan menggerakkan meja sediaan kekiri lalu ke kanan sesuai arah panah, seperti yang ditunjukkan dalam gambar.



Sumber : (Kementerian Kesehatan, 2017)

Gambar 3. 5 Pembacaan SAD Tebal

6) Diagnosa SAD tebal dikatakan negatif jika tidak ditemukannya parasit dalam 100 lapang pandang. Jika ditemukannya parasit, kemudian pemeriksaan dilanjutkan hingga 100 lapang pandang lagi tambahan sebelum diagnosis dibuat. Ini dilakukan agar memastikan ada tidaknya infeksi campuran (Kemenkes, 2017).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Pengolahan data diperoleh dari data primer yaitu hasil pemeriksaan yang telah dilakukan peneliti di Laboratorium Puskesmas Sukamaju, selanjutnya data yang diperoleh diolah dan disajikan dalam bentuk tabel.

2. Analisis Data

Data yang sudah di dapat kemudian di analisis menggunakan analisis univariat dengan tujuan agar memperoleh distribusi frekuensi masing-masing variable penelitian dalam bentuk tabel persentase.

a. Persentase Derajat parasitemia pada penderita malaria

$$\text{SD Tipis}/\mu\text{l darah} = \frac{\text{Jumlah eritrosit yang terinfeksi}}{1.000} \times 100\%$$

Setelah dilakukan perhitungan parasit, kepadatan parasit dikategorikan sebagai berikut:

- 1) *Low* (<5% eritrosit yang terinfeksi)
- 2) *Medium* (5-10% eritrosit yang terinfeksi)

3) *High* (>10% eritrosit yang terinfeksi) (Firhat, E., Rahman, D.A. and Fitriyani, N., 2015)

b. Persentase penderita malaria berdasarkan dari spesies *Plasmodium*

$$\text{Persentase} = \frac{\text{Jumlah spesies yang ditemukan}}{\text{Jumlah sampel positif}} \times 100\%$$