

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis Penelitian ini adalah *true eksperimental* dengan variabel bebas ekstrak buah naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, dengan 4 kali pengulangan, dan variabel terikat adalah kualitas pewarnaan sediaan apus darah pada pemeriksaan mikroskopis malaria. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan apakah ekstrak buah naga dapat digunakan sebagai pengganti giemsa untuk pemeriksaan malaria. Dengan menggunakan buah naga yang masih segar berwarna merah keunguan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, dan dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. 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 eritrosit, inti *Plasmodium*, sitoplasma, dan latar belakang sediaan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juni 2025. Determinasi dan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Botani FMIPA Universitas Lampung, pewarnaan sediaan apusan darah dilakukan di Laboratorium Parasitologi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah buah naga merah (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt dengan keadaan segar, berwarna merah keunguan yang didapatkan di Toko buah “Metro Naga” Jl. P. Senopati, Jatimulyo, Kec. Jati Agung, Kab. Lampung Selatan.

2. Sampel

Ekstrak buah naga yang digunakan dalam penelitian ini kemudian diencerkan dalam konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Konsentrasi ini digunakan untuk mengecat sediaan apus tipis malaria. Sumber darah

penderita malaria didapat di Puskesmas Puskesmas Hanura Kec. Teluk Pandan Kab. Pesawaran Lampung. Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi sampel 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

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$5n \geq 20$$

$$N \geq 20/5$$

$$N \geq 4$$

total sampel: $n \times t = 4 \times 6 = 24$ preparat

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap konsentrasi

t = banyaknya konsentrasi

D. Variabel 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 naga (<i>Selenicereus monacanthus</i>) (Lem) D.R.Hunt	Buah naga (<i>Selenicereus monacanthus</i>) (Lem) diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dan diencerkan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%	Pipet ukur dan pengenceran	Gelas ukur	Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%	Rasio
2.	Variabel bebas : pengecatan Giemsa	Menggunakan Giemsa 3% dengan cara mencampur 3 bagian Giemsa stock dan 97 bagian larutan buffer	Pengenceran	Pipet Ukur	Giemsa 3%	Rasio
3.	Variabel terikat : Kualitas pewarnaan sediaan apus darah: a. Eritrosit b. Inti <i>Plasmodium</i> c. Sitoplasma d. Latar Belakang Sediaan	Kualitas sediaan apus darah yang diperiksa di mikroskop. sitoplasma Berwarna biru, inti <i>Plasmodium</i> berwarna merah Latar Belakang Sediaan 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. Membuat surat izin penelitian dari Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang dan surat izin pengambilan sampel malaria di Puskesmas Puskesmas Hanura Kec. Teluk Pandan Kab. Pesawaran Lampung.

- b. Disiapkan alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ekstrak buah naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt.
 - c. Pembuatan simplisia dan ekstrak buah naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt di Laboratorium Botani FMIPA Universitas Lampung.
 - d. Pembuatan pengenceran ekstrak buah naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%.
 - e. Pembuatan dan pewarnaan sediaan apusan darah tipis dengan 4 kali pengulangan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes TanjungKarang.
 - f. Dilakukan pemeriksaan mikroskopis sediaan apusan darah tipis malaria menggunakan mikroskop di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes TanjungKarang.
2. Persiapan Alat dan Bahan
- a. Dalam penelitian ini, alat-alat berikut digunakan: mikroskop, gelas plastik, pipet tetes, gelas ukur 100 ml, labu ukur 100 ml, kertas saring, toples kaca, objek kaca, botol coklat, evaporator putar, dan batang pengaduk.
 - b. Bahan yang dipakai pada penelitian ini yakni Giemsa stock, buffer, etanol 96%, aquades, buah naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt, sampel darah positif malaria.
3. Pembuatan Ekstrak Buah Naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt
- a. Pembuatan Simplisia Buah Naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt

Disiapkan buah naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem) D.R.Hunt sebanyak 10 Kg yang masih segar siap dipanen dan berwarna merah keunguan, kemudian buah naga di cuci lalu dipotong dengan ukuran 2cm. Setelah itu buah yang sudah dipotong dimasukkan ke oven suhu 50°C kemudian buah yang sudah kering dihaluskan hasil yang diperoleh sebanyak 650 gram, hasil penghalusan ini disebut simplisia (Nuraini, 2023).

b. Pembuatan Ekstrak Buah Naga (*Selenicereus monacanthus*) (Lem)

D.R.Hunt

Serbuk simplisia yang sudah halus ditimbang sebanyak 650 gram lalu dimasukkan kedalam botol gelap, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 5000ml sampai serbuk simplisia terendam sempurna dan diamkan selama 3 hari. Setelah didiamkan larutan disaring hingga mendapatkan maserat yang diinginkan, kemudian dilakukan remaserasi selama 2 hari untuk menarik senyawa yang belum yang mungkin belum terlarut sepenuhnya lalu disaring kembali. Maserat yang didapat dipisahkan menggunakan rotary evaporator kecepatan 60 rpm, suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak agak kental (Athailah, 2023).

4. Pengenceran Konsentrasi dan Pengenceran Giemsa

a. pengenceran konsentrasi 100%

Hasil dari evaporasi ekstrak buah naga diperoleh ekstrak agak kental (pasta), dilakukan pengenceran dengan rumus :

$$d\% = \frac{\text{massa}}{\text{volume}} \times 100$$

1) Dihitung massa yang akan dipakai, lalu didapatkan :

$$d\% = \frac{\text{massa}}{\text{volume}} \times 100$$

$$100 = \frac{\text{massa}}{100} \times 100$$

$$\text{Massa} = 100 \text{ gr (pasta)}$$

2) Ekstrak kental (pasta) ditimbang 100 gram lalu dilarutkan menggunakan aquades 100 ml.

3) Dihomogenkan menggunakan batang pengaduk.

b. pengenceran variasi konsentrasi

Ekstrak di encerkan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% menggunakan aquadest dengan rumus pengenceran :

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

Keterangan :

V_1 = Volume larutan uji (ml) yang dipipet

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

V_2 = volume larutan uji yang akan dibuat dengan aquadest

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

- 1) Dipipet larutan ekstrak dari konsentrasi 100 %.
- 2) Dilarutkan menggunakan aquades.
- 3) Dihomogenkan menggunakan batang pengaduk.

c. Pengenceran Giemsa

- 1) pembuatan larutan giemsa 3% adalah 0,3 ml Giemsa : 9,7 larutan buffer (Kemenkes, 2016).

5. Pembuatan Sediaan Apusan Darah Tipis

a. Pembuatan Sediaan Apusan Darah Tipis

- 1) Diteteskan 1 tetes kecil darah ($\pm 2\mu\text{l}$) dibagian tengah object glass
- 2) Diletakkan object glass yang berisi tetesan darah diatas meja atau permukaan yang rata.
- 3) Ambil object glass baru (Object glass kedua) Tempelkan ujungnya pada tetes darah kecil sampai darah tersebut menyebar sepanjang object glass.
- 4) Dengan sudut 45° dorong object glass kedepan sehingga didapatkan sediaan hapus tipis (seperti bentuk lidah).
- 5) Object glass diberi label pada bagian atas.
- 6) Diamkan sediaan apusan darah tipis di tempat yang datar (Kemenkes, 2017).

b. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah

- 1) Sediaan apusan darah yang sudah kering difiksasi dengan methanol
- 2) Diletakkan sediaan apusan darah pada rak pewarnaan dengan posisi darah berada diatas
- 3) Disiapkan ekstrak buah naga konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan larutan giemsa stok. Tuang larutan ekstrak buah naga dan giemsa stok dari tepi hingga menutupi seluruh permukaan object glass. Biarkan 45-60 menit.
- 4) Kemudian bilas di air mengalir secara pelan. Angkat dan keringkan sediaan. Pembacaan preparat dilakukan di bawah mikroskop lensa objektif 100x secara horizontal, dengan minimal 100 Lp untuk menjamin kualitas pewarnaan (Kemenkes, 2017).

F. Analisis Data

Data hasil skoring yang diperoleh dari hasil penilaian ditotal lalu dihitung rerata skoring. Nilai yang diberikan pada 4 kali pengulangan 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 $p < 0,05$.