

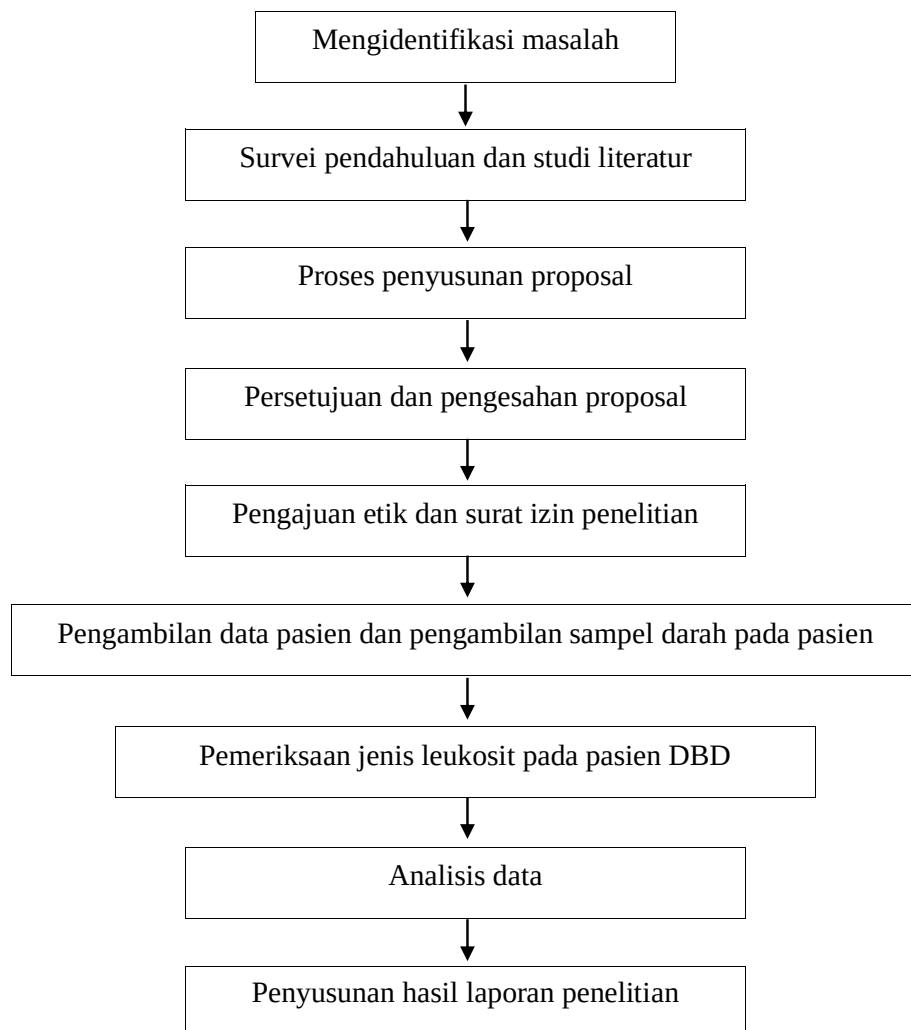
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif, yang dimana penelitian ini dilakukan untuk mengetahui gambaran jumlah dan jenis leukosit pada pasien demam berdarah dengue di Rumah Sakit Tingkat II Udayana Denpasar.

B. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat penelitian ini akan dilakukan di Rumah Sakit Tingkat II Udayana Denpasar.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dari penyusunan proposal sampai dengan penyetoran KTI setelah dilakukannya ujian akhir bulan Oktober 2023 – Mei 2024.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien yang menderita penyakit demam berdarah dengue di Rumah Sakit Tingkat II Udayana Denpasar pada bulan Maret 2024 – April 2024.

2. Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini adalah pasien positif demam berdarah dengue di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar yang dimana sampel tersebut memenuhi kriteria sebagai berikut :

a. Kriteria inklusi

- 1) Pasien yang telah terkonfirmasi positif DBD di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar.
- 2) Pasien yang dirawat inap di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar.
- 3) Pasien yang bersedia menjadi responden untuk melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit dan jenis leukosit meliputi basofil, eosinofil, monosit, neutrofil dan limfosit.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Pasien yang terinfeksi selain infeksi dengue seperti demam tifoid, cikungunya, malaria dan hepatitis.
- 2) Pasien yang tidak bersedia menjadi responden.

3. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah Jumlah dan Jenis Leukosit pada penderita Demam Berdarah Dengue di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar.

4. Besar Sampel

Banyak sampel yang akan digunakan pada penelitian ini mengenai pemeriksaan jumlah dan jenis leukosit pada pasien DBD di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar yaitu sebesar 65 sampel.

5. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu menggunakan teknik nonprobability sampling. Teknik ini dilakukan dengan mengambil anggota populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer pada penelitian ini diperoleh dari data hasil pemeriksaan jumlah dan jenis leukosit pada pasien Demam Berdarah Dengue di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar.

b. Data sekunder

Data sekunder pada penelitian ini diperoleh dari data rekam medis pasien Demam Berdarah Dengue di RSAD Tingkat II Udayana Denpasar dan beberapa

studi literatur seperti jurnal, artikel, dan e-book yang dimana dapat menunjang dalam penelitian ini.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini yaitu meliputi observasi pada rekam medis pasien penderita Demam Berdarah Dengue yang dimana meliputi umur dan jenis kelamin serta data hasil dari pemeriksaan laboratorium jenis leukosit pada pasien Demam Berdarah Dengue.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat yang dipergunakan untuk mendapatkan dan mengumpulkan data. Instrumen tersebut diantaranya :

- a. Alat tulis
- b. Lembar observasi rekam medis
- c. Alat dokumentasi (kamera handphone)
- d. APD (Alat Pelindung Diri)

4. Prosedur penelitian

- a. Pemeriksaan jenis leukosit menggunakan hematology analyzer :
 - 1) Pra analitik
 - a) Persiapan sampel :
 - (1) Pastikan sampel darah yang akan digunakan sudah tercampur dengan antikoagulan yang tepat (EDTA).
 - (2) Homogenkan sampel dengan cara diputar dengan lembut beberapa kali.
 - (3) Biarkan sampel mencapai suhu ruangan sebelum diperiksa.
 - (4) Periksa label sampel untuk memastikan informassi pasien sudah benar.

b) Persiapan alat :

- (1) Nyalakan hematology analyzer dan tunggu hingga siap digunakan.
- (2) Kalibrasi alat sesuai dengan instruksi manual.
- (3) Pastikan semua reagen dan diluent dalam jumlah yang cukup dan masih dalam masa kadaluarsa.
- (4) Lakukan kontrol kualitas internal untuk memastikan akurasi alat.

2) Analitik

- a) Pilih mode “Whole Blood” pada layar analyzer.
- b) Masukkan ID sample (optional).
- c) Buka port sampel dan masukkan tube sampel dengan hati – hati.
- d) Tutup port sampel dan tekan tombol “RUN”.
- e) Analyzer akan secara otomatis melakukan analisis sampel darah.

3) Post analitik

- a) Setelah analisis selesai, hasil akan ditampilkan pada layar analyzer.
- b) Perhatikan adanya flag atau peringatan yang muncul pada hasil.
- c) Catat hasil dan jika ada hasil dalam kategori tidak normal, konsultasikan kepada dokter untuk lebih lanjut.

b. Pembuatan, pewarnaan sediaan apus dan hitung jenis leukosit :

1) Pra analitik

- a) Prinsip SADT : suatu apusan darah tipis dibuat dengan meneteskan darah pada kaca objek , kemudian diratakan dan terbentuk suatu apusan yang tipis.

Prinsip pewarnaan: didasarkan pada sifat kimiawi dalam sel. Zat warna yang bersifat asam akan bereaksi dengan komponen sel yang bersifat alkalis, demikian pula sebaliknya. Pewarnaan sediaan apus menggunakan prinsip

Romanosky yaitu menggunakan dua zat warna yang berbeda yang terdiri dari Azure B (*trimethylthionin*) yang bersifat basa dan eosin Y (*tetrabromoflourescein*) yang bersifat asam seperti dianjurkan oleh *The International Council for Standardization in Hematology*, dan pewarnaan yang dianjurkan adalah *Wright-Giemsa* dan *May Grunwald-Giemsa* (MGG).

Prinsip Hitung Jenis Leukosit : menghitung jumlah relatif masing-masing jenis leukosit dan satu jenis leukosit dinyatakan dalam bentuk % dari 100 buah leukosit.

b) Persiapan pasien : pasien tidak memerlukan persiapan.

c) Persiapan alat :

(1) Kaca objek 25x75 mm

(2) Batang gelas

(3) Rak kaca objek

(4) Pipet pasteur

(5) Mikroskop

d) Persiapan bahan :

(1) Darah EDTA

(2) Metanol absolut

(3) Zat warna wright

(4) Zat warna giemsa

(5) Zat warna May-grunwald giemsa

(6) Larutan dapar pH 6,4

(7) Oil imersi

2) Analitik

a) Cara membuat sediaan apus :

- (1) Pilih kaca objek yang bertepi rata untuk digunakan “kaca penghapus”, sudut kaca objek yang dipatahkan.
- (2) Satu tetes kecil darah diletakkan pada $\pm 2 - 3$ mm dari ujung kaca objek. Kaca penghapus diletakkan dengan sudut $30 - 45$ derajat terhadap kaca objek didepan tetes darah.
- (3) Kaca penghapus ditarik ke belakang hingga mengenai tetes darah, tunggu darah sampai menyebar di daerah sudut tersebut.
- (4) Dengan gerak yang baik, kaca penghapus didorong sehingga terbentuk apusan darah sepanjang $3 - 4$ cm pada kaca objek. Apusan darah tidak boleh terlalu tipis atau terlalu tebal.
- (5) Apusan darah dibiarkan mengering di suhu udara, kemudian isi identitas pasien pada bagian tebal apusan dengan pensil.

b) Cara mewarnai sediaan apus :

(1) Pewarnaan wright

- (a) Letakkan sediaan apusan di dua batang gelas.
- (b) Fiksasi sediaan apus dengan metanol absolut hingga 2-3 menit.
- (c) Genangi sediaan apus dengan zat warna wright biarkan $3 - 5$ menit.
- (d) Tambahkan larutan daper yang tercampur rata dengan zat warna. Lalu biarkan selama $5 - 10$ menit.
- (e) Kemudian bilas dengan air ledeng, mula menggunakan air lambat lalu lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan dari zat warna. Lalu letakkan sediaan apus dalam rak dalam posisi tegak dan biarkan mengering.

(2) Pewarnaan giemsa

- (a) Letakkan sediaan apus pada dua batang gelas di atas bak tempat pewarnaan.
- (b) Fiksasi sediaan apus dengan metanol absolut 2 – 3 menit.
- (c) Genangi sediaan apus dengan zat warna Giemsa yang baru diencerkan. Larutan Giemsa yang dipakai adalah 5%, diencerkan terlebih dahulu dengan larutan dapar. Lalu biarkan selama 20 – 30 menit.
- (d) Bilas dengan air ledeng, mula – mula dengan aliran lambat kemudian aliran lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna. Letakkan sediaan hapus dalam rak dalam posisi tegak dan biarkan mengering.

(3) Pewarnaan May grunwald-giemsa (MGG)

- (a) Letakkan sediaan apus yang telah difiksasi di atas rak pewarnaan.
- (b) Genangi sediaan apus dengan zat warna May Grunwald yang telah siap pakai, biarkan 2 menit.
- (c) Bilas dengan air (buang kelebihan zat warna).
- (d) Genangi dengan larutan Giemsa 5%) larutan buffer pH 6,4 10 ml + Giemsa 0,5 ml) biarkan selama 10 – 15 menit.
- (e) Bilas dengan air ledeng, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna. Letakkan sediaan dalam posisi vertikal dan biarkan mengering sendiri.

c) Hitung jenis leukosit

- (1) Sediaan apus diletakkan di mikroskop.
- (2) Diperiksa dengan perbesaran lemah (lensa obyektif 10x dan lensa okuler 10x) untuk mendapatkan gambar menyeluruh.
- (3) Pada daerah yang eritrositnya saling berdekatan adalah daerah yang paling baik untuk melakukan hitung jenis leukosit. Dengan pembesaran sedang (lensa

obyektif 40x dan lensa okuler 10x) dilakukan hitung jenis leukosit. Bila diperlukan bisa menggunakan lensa obyektif 100x dengan mintak imersi.

3) Pasca analitik

Evaluasi Leukosit :

Leukosit adalah sel berinti. Di SADT paling banyak ditemukan adalah polimorfonuklear netrofil (PMN). Jenis leukosit yang normal yang ditemukan dalam Apusan darah adalah eosinofil (1 – 3 %), basofil (0 -1 %), neutrofil batang (0 – 5 %), netrofil segmen atau sel PMN (50 – 65 %), limfosit (25 – 35 %) dan monosit (4 – 6 %). Dalam keadaan normal diperkirakan terdapat 1 leukosit per 500 eritrosit.

Pada Apusan Darah ditemukan tanda infeksi seperti presentase jumlah netrofil, limfosit meningkat, hipersegmentasi, granulasitoksis dan vakuolisasi sitoplasma (Arif, M, 2015).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

a. Editing atau pemeriksaan data

Data pasien demam berdarah dengue didapatkan dari rekam medik dan data hasil dari pemeriksaan laboratorium yang meliputi jenis leukosit pada pasien demam berdarah dengue akan diperiksa kelengkapannya.

b. Tabulating atau penyusunan data

Data pasien akan disusun secara berurutan berdasarkan umur, jenis kelamin, jenis leukosit yang terdiri dari eosinofil, basofil, monosit, neutrofil dan limfosit dalam bentuk tabel.

2. Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis statistik deskriptif yakni presentase (%). Data yang disajikan yaitu usia, jenis kelamin dan hasil dari pemeriksaan jenis leukosit pasien demam berdarah dengue.

G. Etika Penelitian

Etika penelitian merupakan pedoman etika yang berlaku pada setiap kegiatan penelitian yang termasuk peneliti, subjek penelitian, bahkan masyarakat yang mempengaruhi hasil penelitian (Notoatmodjo, 2010). Untuk penelitian ini, mengajukan persetujuan kepada instansi terkait untuk mendapatkan otorisasi. Setelah disetujui, data dikumpulkan sesuai dengan etika berikut :

1. Informed consent (Lembar persetujuan)

Informed consent diberikan kepada subyek sebelum penelitian dilakukan. Subyek akan dijelaskan mengenai maksud dan tujuan penelitian. Apabila subyek bersedia, maka responden akan menandatangani formulir persetujuan.

2. Anonimity (Tanpa nama)

Responden tidak harus menuliskan identitasnya pada lembar pendataan. Untuk menjamin kerahasiaan identitas, cukup tuliskan nomor responden atau inisial responden.

3. Confidentiality (Kerahasiaan)

Privasi data yang diterima dari responden dijamin oleh peneliti dan penyajian data atau hasil penelitian akan ditampilkan dalam lembaga ilmiah.