

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

##### 3.1.1 Jenis Penelitian

Menggunakan *desain pra eksperimen* (Pre-experimental Design) dengan keadaan variabel luar yang masih dapat mempengaruhi proses pemeriksaan.

##### 3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan *Post Test Only Group Design* terhadap kelompok yang diberi perlakuan dan diobservasi perubahan yang ada akibat perlakuan.

#### 3.2 Subjek Penelitian

Penelitian Sari (2021) besaran sampel dengan rumus *Federer*:

$$(t - 1)(r - 1) \leq 15$$

$$(2 - 1)(r - 1) \leq 15$$

$$1(r - 1) \leq 15$$

$$r - 1 \leq 15$$

$$r \geq (15 + 1)$$

$$r \geq 16$$

*Keterangan :*

r = Jumlah Replikasi atau Pengulangan

$t$  = Jumlah Kelompok Perlakuan

15 = Derajat Kebebasan Umum

Pengulangan dalam tiap kelompok perlakuan adalah 16 kali tiap hari pemeriksaan pada larutan Turk modifikasi air perasan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan larutan Turk (Kontrol) terhadap hitung jumlah leukosit dengan 1 spesimen yang sama.

### 3.3 Variabel dan Definisi Operasional

#### 3.3.1 Variabel

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama waktu penyimpanan larutan Turk modifikasi air perasan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah hitung jumlah leukosit menggunakan larutan turk modifikasi air perasan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).

#### 3.3.2 Definisi Operasional

**Tabel 3.1** Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Pengukuran	Skala Ukur	Hasil Ukur
1.	Lama waktu penyimpanan	Larutan turk modifikasi adalah larutan pengganti komposisi larutan turk dengan air perasan belimbing wuluh yang disimpan selama 0 – 4 - 8	Kalender	Rasio	Hari

		hari pada suhu ruang (20-25°C).			
2.	Hitung Jumlah Leukosit	Sel darah putih dalam tubuh manusia yang berfungsi melawan kuman atau benda asing yang berpotensi masuk.	<i>Haemocytometer Improved Neubauer</i>	Interval	Sel/mm <sup>3</sup> Darah
3.	Uji Kualitas Fisik Reagen	Uji kualitas fisik reagen dilakukan setiap hari sebelum memulai pemeriksaan.	pH  Visual	Rasio  Ordinal	pH : 1-14  -Warna -Kejernihan -Endapan

### 3.4 Bahan Penelitian

Bahan penelitian adalah buah belimbing wuluh, sampel air perasan belimbing wuluh yang sudah disaring, serum darah EDTA, gentian violet 1%, aquadest steril, spuit 3 cc, kapas alkohol, kapas kering, kertas saring, kertas label, tissue, kaca penutup (*cover glass*), masker medis, handscoon dan larutan turk.

### 3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah *tourniquet*, tabung EDTA, tabung reaksi pyrex, tube/vial, gelas ukur pyrex, pipet ukur pipette, kamar hitung (*haemocytometer*) Marienfeld, mikroskop binokuler X SX-107BN, pump pipet, alat pemeras belimbing wuluh, pisau dapur, botol kaca gelap, rak tabung, batang pengaduk, selang, pipet leukosit.

### **3.6 Lokasi dan Waktu Pengambilan**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Borneo Lestari Banjarbaru Kalimantan Selatan pada 16 april 2024.

### **3.7 Prosedur Pengambilan Data**

#### **3.7.1 Izin Penelitian**

Izin kepada Kepala Laboratorium Universitas Borneo Lestari untuk permohonan izin melakukan penelitian di laboratorium kampus Universitas Borneo Lestari.

#### **3.7.2 Prosedur Kerja**

##### **1. Determinasi**

Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan, sehingga menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan, dengan upaya mencocokkan morfologi tanaman berdasar pustaka yang valid di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

##### **2. Pengumpulan Air Perasan Belimbing Wuluh**

Pada tahap awal, dipilih buah belimbing wuluh yang masih muda buah dikarenakan masih banyak mengandung air. Belimbing yang akan digunakan sebanyak 2 Kg terlebih dahulu dicuci. Kemudian dipisahkan biji yang terdapat pada buah belimbing wuluh dan diperas menggunakan perasan belimbing. Air perasan belimbing wuluh disaring menggunakan saringan dan dikumpulkan ke dalam gelas beaker. Air perasan belimbing wuluh didapatkan sekitar 60 mL.

### **3. Pembuatan Larutan Turk Modifikasi dengan Belimbing Wuluh**

Pembuatan larutan modifikasi air perasan belimbing wuluh yang telah disaring diencerkan dengan aquades steril dengan air perasan belimbing wuluh dipipet sebanyak 20 mL dan dilarutkan dengan 1 L aquades steril. Sediakan 1 buah gelas ukur bersih, kemudian dipipet air perasan belimbing wuluh yang telah diencerkan sebanyak 15 mL menggunakan pipet ukur masukkan ke dalam gelas ukur, setelah itu dipipet gentian violet sebanyak 10 mL menggunakan pipet ukur dimasukkan ke dalam gelas ukur yang berisi air perasan belimbing wuluh tadi, kemudian dipipet lagi aquades steril sebanyak 100 mL menggunakan pipet ukur masukkan ke dalam gelas ukur yang berisi gentian violet dan air perasan belimbing wuluh, diaduk campuran tersebut menggunakan batang pengaduk hingga tercampur rata (Hurrohmah, 2020). Dilakukan pencampuran larutan sebanyak 3x dan didapatkan 3 botol larutan modifikasi air perasan belimbing wuluh. 1 botol larutan dilakukan pengukuran jumlah leukosit untuk pemeriksaan segera (0 hari), 1 botol disimpan pada suhu ruang selama 0 hari, dan 1 botol disimpan pada suhu ruang selama 8 hari.

### **4. Koleksi Spesimen Darah**

Alat dan bahan disiapkan kemudian dipasangkan tourniquet pada lengan responden dan dilakukan palpasi, lalu dibersihkan daerah yang akan ditusuk dengan menggunakan kapas alkohol 70%. Ditusuk kulit dengan jarum suntik sampai masuk ke dalam lumen vena, kemudian

tourniquet dilepaskan dan perlahan-lahan holdernya ditarik, diambil darah sesuai dengan yang dibutuhkan, kemudian diletakkan kapas di atas jarum dan dilepaskan spuit. Dimasukkan darah ke tabung darah berisi antikoagulan EDTA melalui dinding tabung, kemudian dihomogenkan darah yang sudah bercampur dengan EDTA (Widiyawati, 2021).

## **5. Uji Mutu Larutan Turk Modifikasi Air Perasan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Berdasarkan Lama Masa Simpan**

### **a. Uji Kualitas Fisik Reagensia**

Kualitas fisik turk modifikasi belimbing wuluh dilakukan dengan parameter keadaan reagensia setelah disimpan yaitu warna larutan, ada tidaknya endapan/kristal, kekentalan, ada tidaknya pemisah reagen/larutan dan mengukur pH pada larutan modifikasi.

### **b. Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit Metode Manual**

#### **1. Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit menggunakan Larutan Turk *Control***

Larutan turk dipipet sebanyak 950  $\mu\text{L}$  menggunakan Mikropipet lalu dimasukkan ke dalam tabung, kemudian dipipet sampel darah dengan antikoagulan EDTA menggunakan Mikropipet sebanyak 50  $\mu\text{L}$  Dicampurkan dengan larutan turk. Bagian luar dibersihkan dengan tisu, lalu dihomogenkan. Diletakan *cover glass* di atas kamar hitung, diisap secukupnya campuran darah dan larutan turk yang sebelumnya sudah dihomogenkan. Dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan

menyentuh pinggiran ujung *cover glass* dan tetapkan secara perlahan hingga seluruh *chamber* kamar hitung terisi dengan tepat. Didiamkan beberapa saat, lalu diperiksa dibawah mikroskop perbesaran 10x dan 40x dengan pencatatan hasil jumlah leukosit (Nazarudin, 2019). melalui perlakuan 16 pengulangan setiap hari pemeriksaan Turk sebagai *Control*.

2. Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit menggunakan Larutan Turk Modifikasi air perasan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) yang disimpan selama 0 hari, 4 hari dan 8 hari

Larutan Turk modifikasi dipipet sebanyak 950  $\mu\text{L}$  menggunakan Mikropipet lalu dimasukkan ke dalam tabung, kemudian dipipet sampel darah dengan antikoagulan EDTA menggunakan Mikropipet sebanyak 50  $\mu\text{L}$  dan dicampurkan dengan larutan turk. Bagian luar dibersihkan dengan tisu, lalu dihomogenkan. Diletakan *cover glass* di atas kamar hitung, diisap secukupnya campuran darah dan larutan turk yang sebelumnya sudah dihomogenkan. Dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan menyentuh pinggiran ujung *cover glass* dan ditetaskan secara perlahan hingga seluruh *chamber* kamar hitung terisi dengan tepat. Didiamkan beberapa saat, lalu diperiksa mikroskop perbesaran 10x dan 40x dengan pencatatan hasil jumlah leukosit (Nazarudin, 2019) melalui perlakuan 16 pengulangan setiap hari pemeriksaan hitung jumlah leukosit.

### **3.8 Pengumpulan Data**

#### **3.8.1 Data Primer**

Data merupakan primer berupa hasil pemeriksaan leukosit dengan larutan turk modifikasi belimbing wuluh dan turk komersial sebagai control.

### **3.9 Cara Pengolahan dan Analisa Data**

#### **3.9.1 Cara Pengolahan**

Pengolahan data pada penelitian ini dilakukan dengan tahapan sebagai :

1. *Coding* data yaitu hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit diberikan kode-kode tertentu agar tidak terjadi kekeliruan dalam melakukan tabulasi data.
2. *Tabulating* data yaitu proses menempatkan data ke dalam format bentuk tabel.
3. *Entry* data yaitu memasukkan data hitung jumlah leukosit.
4. *Pengecekan Data* yaitu data yang dimasukkan akan melalui pengecekan demi memastikan tidak adanya kesalahan entry data.

#### **3.9.2 Analisa Data**

Data hasil hitung jumlah leukosit dianalisis. Hasil yang didapat di uji Normalitas dan Homogenitas untuk di analisis secara statistik. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*, data berdistribusi normal apabila  $\alpha < 0,05$  dan dilanjutkan dengan uji Homogenitas. Uji homogenitas menggunakan *Levene* dikatakan homogen apabila  $\alpha > 0,05$ . Uji

dilanjutkan dengan analisis statistic parametrik Uji *Paired t-test* pengaruh lama masa simpan larutan turk modifikasi air perasan belimbing wuluh terhadap hitung jumlah leukosit.