

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif menggunakan *desain pre eksperimen (Pre experimental design)* yaitu eksperimen terhadap darah yang diberi filtrat bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) dan melakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit. Jadi, penelitian ini rancangan yang di pakai yaitu *post test only controlled group design*.

3.2. Besar Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah filtrat bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) dengan kelompok perlakuan yaitu 10 μ l, 30 μ l, 50 μ l, 70 μ l, 90 μ l dan kontrol positif dengan menggunakan antikoagulan (K3EDTA). Jumlah pengulangan masing–masing perlakuan dapat ditentukan menggunakan rumus *Federer* yaitu:

Rumus *Federer*:

$$(t - 1) \cdot (r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1) \cdot (r - 1) \geq 15$$

$$5 \cdot (r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$r \geq (15 + 5) / 5$$

$$r \geq \frac{20}{5}$$

$$r \geq 4$$

Keterangan:

r: Jumlah Pengulangan

t: Jumlah kelompok perlakuan

Jadi, jumlah perlakuan pada penelitian ini ada 6, yaitu perlakuan variasi 10 μ l, 30 μ l, 50 μ l, 70 μ l, 90 μ l dan kontrol positif dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Penelitian ini menggunakan 1 orang subjek dengan kondisi sehat dan tidak memiliki riwayat penyakit yang berhubungan dengan gangguan pembekuan darah. 1 orang subjek mewakili 4 pengulangan yang digunakan. Darah vena yang digunakan sebanyak 24 ml untuk 6 perlakuan (1 perlakuan membutuhkan 1 ml darah vena).

3.3. Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1. Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi penambahan filtrat bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*).
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kondisi spesimen pada darah yang tidak membeku.

3.3.2. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Variasi volume filtrat bawang dayak (<i>Eleutherine bulbosa</i>)	Filtrat Bawang dayak (<i>Eleutherine bulbosa</i>) yang dibuat dengan variasi volume 10 μ l, 30 μ l, 50 μ l, 70 μ l, dan 90 μ l	Mikropipet	Mikroliter darah (μ l)	Rasio
2.	Kondisi spesimen	Lamanya darah mengalami pembekuan dengan pemberian filtrat bawang dayak (<i>Eleutherine bulbosa</i>) dalam waktu 24 jam	Hitung jumlah eritrosit	Juta sel/mm ³	Rasio

3.4. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah darah vena, K3EDTA, bawang dayak, kain bersih, filtrat bawang dayak, aquadest, kapas alkohol, kapas kering, label, tisu dan hayem.

3.5. Instrument Penelitian

Instrument penelitian yang digunakan adalah *juicer*, jarum *vacutainer*, *holder*, *tourniquet*, tabung EDTA, tabung vacum warna merah, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, mikroskop, kamar hitung, cawan petri, pipet tetes, *white tip*, *yellow tip*, *blue tip*, *stopwatch* dan botol reagen gelap.

3.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Universitas Borneo Lestari Banjarbaru Kalimantan Selatan pada bulan April 2024.

3.7. Prosedur Pengambilan Data

3.7.1. Izin Penelitian

Setelah memperoleh surat perijinan pemakaian laboratorium, selanjutnya surat dilengkapi dengan meminta tanda tangan kepala laboratorium, dosen pembimbing dan kepala depo Universitas Borneo Lestari, surat izin yang telah dilengkapi tersebut di berikan kepada staff laboratorium dan depo, mahasiswa dinyatakan sudah terdaftar jika mendapatkan kartu merah dari depo dan telah menerima arahan dari petugas depo.

3.7.2. Prosedur Kerja

1. Persiapan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*)

- a) Bawang dayak segar dicuci bersih sebanyak 500 gr dengan air mengalir.
- b) Sampai tidak ada sisa air pada bawang dayak tersebut.

2. Pembuatan filtrat bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*)

- a) Bawang dayak yang sudah siap dilakukan perlakuan dihaluskan menggunakan *juicer*.
- b) Diperas dengan kain yang bersih sehingga hanya tersisa filtrat bawang dayak.
- c) Dan di dapatkan ± 40 mL filtrat bawang dayak.

3. Persiapan Tabung

- a) Disiapkan 20 tabung reaksi, setiap 4 tabung di isi dengan filtrat bawang dayak dengan variasi penambahan 10 μ l, 30 μ l, 50 μ l, 70 μ l, dan 90 μ l.
- b) Disiapkan 4 tabung reaksi yang tidak berisi filtrat bawang dayak.

4. Sampling darah (Jarum *Vacutainer*)

- a) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b) Dipasang jarum *posterior vacutainer* pada holder dengan kuat.
- c) Dipasang *tourniquet* 3-4cm di atas lipatan siku dan dilakukan palpasi.
- d) Dilakukan desinfeksi menggunakan kapas alkohol 70%
- e) Ditusukkan jarum *anterior vacutainer* pada pembuluh darah vena, setelah darah terlihat pada pangkal jarum *anterior vacutainer*, tabung *vacutainer* dengan tutup merah sebanyak 20 mL dan tabung EDTA sebanyak 3 mL dimasukkan pada jarum *posterior vacutainer* secara bergantian, dan ditunggu hingga tabung terisi darah sesuai dengan batas yang ditentukan, untuk tabung EDTA langsung dihomogenkan.
- f) Dilepas *tourniquet*, kemudian, tabung yang sudah terisi darah dilepaskan dari jarum *posterior vacutainer*, dan jarum *anterior vacutainer* ditarik keluar dari tempat tusukan.g) Ditunggu bekas tusukan dengan kapas kering dan plester.

(Dwiantara, 2018).

4. Pengujian Waktu Pembekuan Darah (*Clotting Time*)

- a) Darah yang telah diambil dibagi ke 20 tabung merah yang sudah berisi filtrat bawang dayak dan 4 tabung EDTA sebagai kontrol.
- b) Dituangkan 1 cc secara perlahan kedalam setiap tabung.
- c) Darah dan filtrate dihomogenkan dengan cara melakukan gerakan cepat membentuk angka delapan selama 7-8 menit.
- d) Diamati tabung dengan cara diangkat dan dimiringkan untuk memeriksa apakah darah tetap bergerak atau mengalami pembekuan. Tabung dimiringkan setiap 30 menit dengan cara diangkat. (Ramadhani, 2023).

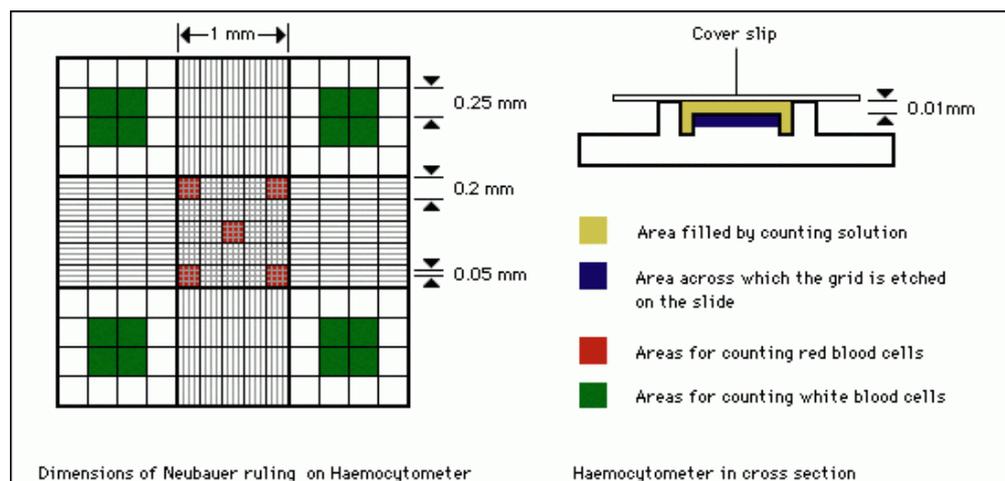
5. Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit Menggunakan Filtrat Bawang Dayak

- a) Disiapkan alat dan bahan, lalu mempipet reagen hayem sebanyak 955 μl dan dimasukkan kedalam tabung reaksi steril dan bersih.
- b) Ditambahkan 5 μl darah yang telah bercampur filtrat bawang dayak kedalam tabung yang sudah berisi hayem menggunakan mikropipet.
- c) Dihomogenkan, kemudian larutan dari tabung dipipet dan dimasukkan kedalam kamar hitung yang sudah diberi *cover glass*.
- d) Inkubasi kamar hitung pada cawan petri selama 2-5 menit agar eritrosit mengendap.
- e) Lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Hal ini dilakukan perlakuan pengulangan sebanyak 4 kali (Sausan, 2022).

6. Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit Menggunakan Kontrol EDTA

- Disiapkan alat dan bahan, lalu memipet reagen hayem sebanyak 955 μl dan dimasukkan kedalam tabung reaksi steril dan bersih.
 - Ditambahkan 5 μl darah yang telah bercampur antikoagulan EDTA kedalam tabung yang sudah berisi hayem menggunakan mikropipet.
 - Dihomogenkan, kemudian larutan dari tabung dipipet dan dimasukkan kedalam kamar hitung yang sudah diberi *cover glass*.
 - Inkubasi kamar hitung pada cawan petri selama 2-5 menit agar eritrosit mengendap.
 - Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x.
- Hal ini dilakukan perlakuan pengulangan sebanyak 4 kali.

(Sausan, 2022)



Gambar 3.1. Kotak eritrosit yang dihitung (Noercholis *et al.*, 2015)

3.8. Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini menggunakan data primer yang diperoleh langsung dari variasi penambahan filtrat bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) sebagai antikoagulan alternatif untuk hitung jumlah eritrosit.

3.9. Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data yang telah terkumpul dari hasil penelitian kemudian dilakukan pengolahan data dalam bentuk tabel menggunakan aplikasi IBM *Statistics SPSS 24*. Data dianalisis normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, untuk uji homogenitasnya menggunakan uji *Levene* dengan taraf signifikan (0,05). Hipotesis dilakukan dengan menggunakan *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

