

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan *desain pre eksperimen (Pre experiment design)* yaitu eksperimen terhadap darah yang diberi filtrat seledri sebagai pemeriksaan hitung jumlah sel eritrosit. Dalam penelitian ini rancangan yang dipakai yaitu *post test only controlled group design*.

3.2. Subjek Penelitian

Menurut Tumpuk (2022) besar sampel ditentukan dengan spesimen yang sama setiap perlakuan didapatkan berdasarkan rumus Federeer sebagai berikut:

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

Keterangan :

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

r = Jumlah Replikasi atau Pengulangan

$$2r-1 \leq 15$$

t = Jumlah Kelompok Perlakuan

$$1r \geq 15 + 1$$

(Perlakuan Filtrat daun seledri)

$$1r \geq 16/1$$

$$r \geq \frac{16}{1} = 16$$

Jadi, besar sampel minimal yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 16 sampel.

3.3. Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1. Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan filtrat daun seledri dan Antikoagulan EDTA.
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hitung jumlah sel eritrosit pada sampel darah.

3.3.2. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Filtrat daun Seledri	Seledri (<i>Apium Graveolens</i>) juga mengandung flavonoid yang memiliki sifat yang sama dengan antikoagulan EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan.	100 µl	Rasio
2.	Antikoagulan EDTA	EDTA mempunyai sifat mengikat ion dan logam sekaligus menghambat semua aktivitas protein pada darah agar tidak terjadi pembekuan.	-	-
3.	Hitung Jumlah sel Eritrosit	Hitung jumlah sel eritrosit pada kamar hitung dalam spesimen menggunakan filtrat daun seledri dan di hitung pada 5 kotak lapang pandang (LP) sel sel eritrosit pada kamar hitung.	1. Pria : Nilai normal pada laki-laki : 4,5 – 6,0 juta sel/mm ³ 2. Wanita : Nilai normal pada wanita : 4,0 – 5,5 juta sel/mm ³	Rasio

3.4. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah darah vena, filtrat daun seledri, larutan *Hayem*, kapas alkohol, kapas kering, lebel, dan kertas saring.

3.5. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan adalah jarum vacutainer, holder, torniquet, tabung EDTA, tabung vacum warna merah, tabung reaksi, rak tabung, mikroskop, mokropipet, kamar hitung, cover glass, pipet tetes, white tip, yellow tip dan botol reagen gelap.

3.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.6.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di kampus Universitas Borneo Lestari Banjarbaru Kalimantan Selatan.

3.6.2. Waktu Penelitian

Waktu Penelitian dilakukan pada tanggal 20 April tahun 2024

3.7. Prosedur Pengambilan Data

3.7.1. Izin Penelitian

Setelah memperoleh surat perizinan 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. Persiapan Sampel

a. Persiapan daun seledri (*Apium graveolens*)

Pada tahap awal, seledri segar sebanyak 500 gr dicuci bersih sampai tidak ada kotoran menggunakan air mengalir dan ditiriskan menggunakan tampah, kemudian diamkan daun seledri sampai tidak ada sisa air pada seledri tersebut.

b. Pembuatan filtrat daun seledri (*Apium graveolens*)

Seledri yang sudah siap dilakukan perlakuan dihaluskan menggunakan juicer sehingga hanya tersisa sari daun seledri dan kemudian saring menggunakan kertas saring sehingga yang tersisa hanya filtrat daun seledri yang berwarna kecoklatan. Dari 500 gr seledri di dapatkan filtrat seledri sebanyak 20 ml, Masukkan filtrat daun seledri kedalam botol reagen gelap agar tidak terjadi penguapan.

3.7.3. Prosedur Kerja

1. Koleksi Spesimen

- a) Menyiapkan alat dan bahan
- b) Memasang tourniquet pada lengan pasien dan lakukan palpasi
- c) Membersihkan daerah yang akan ditusuk dengan menggunakan kapas alkohol 70%.
- d) Menusuk kulit dengan jarum suntik sampai jarum masuk kedalam lumen vena

- e) Melepaskan tourniquet/pembendung dan perlahan-lahan ditarik holdernya, diambil darah sebanyak 19 ml, 16 ml darah dimasukkan kedalam tabung bebas antikoagulan dan 3 ml darah dimasukkan kedalam tabung EDTA.
- f) Meletakkan kapas diatas jarum dan lepaskan spuit
- g) Menyiapkan tabung bebas antikoagulan sebanyak 32 tabung untuk perlakuan filtrat sebanyak 16 tabung, setiap tabung berisi 1 ml darah untuk dilakukan uji perlakuan menggunakan filtrat seledri dan 16 tabung untuk pengulangan antikoagulan EDTA.

2. Uji perlakuan EDTA sebagai *control positif*

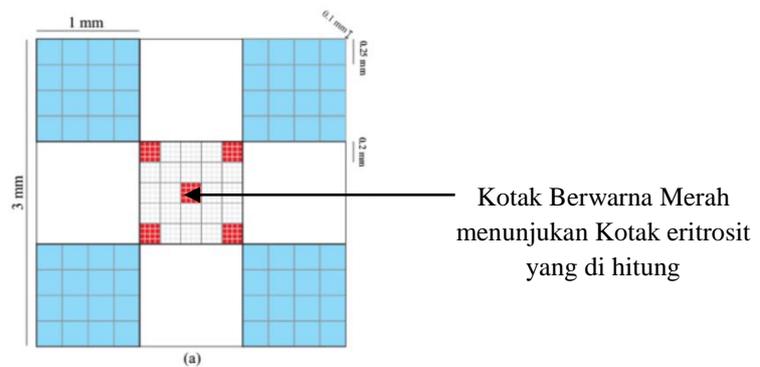
- a) Mempipet larutan *hayem* sebanyak 995 μ l ke dalam tabung reaksi
- b) Mempipet sampel darah dengan antikoagulan EDTA menggunakan mikropipet sebanyak 5 μ l ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan *hayem*
- c) Meneteskan sampel yang sudah tercampur di atas kamar hitung yang sudah diletakkan *cover glass* hingga memenuhi bagian kamar hitung.
- d) Menginkubasi sampel diatas kamar hitung selama 2 – 3 menit
- e) Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x
- f) Memosisikan kamar hitung dibawah lensa kecil, menurunkan kondensor dan mengecilkan diafragma untuk memperoleh cahaya yang diinginkan
- g) Menghitung semua eritosit yang ada pada kamar eritrosit.

3. Uji efektivitas dan perlakuan pengulangan filtrat daun seledri 100 μ l

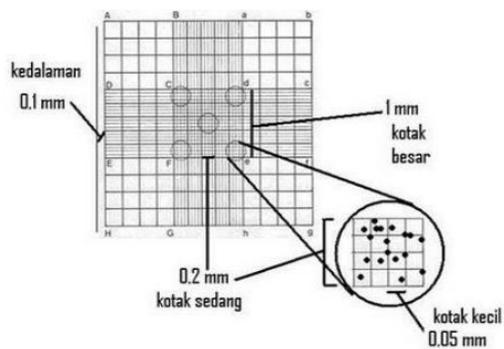
- a) Mempipet antikoagulan alternatif filtrat daun seledri sebanyak 100 μ l pada 16 tabung bebas antikoagulan dan ditambahkan sampel darah sebanyak 1 ml setiap tabung nya dan di homogenkan.
- b) Mempipet larutan *hayem* sebanyak 995 μ l, lap dengan tisu bagian luar pipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi
- c) Sampel darah dengan antikoagulan alternatif filtrat daun seledri dipipet sebanyak 5 μ l ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan *hayem* dan di homogenkan
- d) Meneteskan sampel di atas kamar hitung hingga memenuhi bagian kamar hitung
- e) Menginkubasi sampel diatas kamar hitung selama 2 – 3 menit
- f) Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x
- g) Memposisikan kamar hitung dibawah lensa kecil, Menurunkan kondensor dan Mengecilkan diafragma untuk memperoleh cahaya yang diinginkan
- h) Menghitung semua eritrosit yang ada pada kamar eritrosit
- i) Hal ini dilakukan sebanyak 16 kali pengulangan.

4. Hitung Jumlah Sel Eritrosit (Metode Manual)

Jumlah eritrosit dapat dihitung dengan menggunakan 5 bidang berukuran sedang yang terletak di bidang besar palung tengah. Bidang tersebut terdiri dari 4 bidang di pinggir dan 1 bidang di tengah-tengah (bertanda R). Setiap dari bidang ini dibagi menjadi 16 kotak yang lebih kecil dengan masing-masing luasnya 1 400 mm² (Bryan, 2021).



Gambar 3.1 Kamar Hitung Eritrosit Metode Manual
(Sumber : Herdian, 2020)



Gambar 3.2 Kotak Sel Eritrosit Pada Kamar Hitung
(Sumber : Bryan, 2021)

Tabel 3.2. Rumus Hitung Jumlah Sel Eritrosit :

$$\text{Hitung Jumlah Sel Eritrosit} = \text{Total cell} \times \text{dillution} \times \text{volume corrections} \quad (\text{Sel/mm}^3)$$

(Sumber : Nabil, 2020)

Keterangan :

Total cell : Total Sel

Dillution : Pengenceran (200)

Volume correction : Koreksi Volume (50)

3.8. Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini menggunakan data primer yang diperoleh secara langsung dari hasil pemeriksaan penggunaan filtrat daun seledri dan antikoagulan EDTA terhadap hitung jumlah sel eritrosit.

3.9. Cara Pengolahan dan Analisis Data

3.9.1. Pengolahan Data

Langkah pertama pengolahan data adalah *Tabulasi* data yaitu pengelompokkan data dalam suatu data tertentu menurut sifat yang dimiliki sesuai dengan tujuan penelitian. Langkah selanjutnya adalah *Entry* data yaitu dimasukkan data atau hasil penelitian dengan bantuan komputer. Setelah selesai tahap kedua dilakukan lah *Pengecekan Data* yaitu data yang sudah dimasukkan kemudian dilakukan pengecekan Kembali untuk mengetahui ada atau tidaknya kesalahan dalam *Entry* data.

3.9.2. Analisis Data

Pengujian hipotesis dengan menggunakan statistik *parametrik*. Metode analisis data statistik *parametrik* dalam penelitian ini adalah uji *Independent sample T Test*. Uji T mempunyai syarat yaitu data harus terdistribusi normal maka dari itu dilakukan Uji Normalitas menggunakan Uji *Shapiro Wilk*, untuk Uji Homogenitasnya menggunakan uji *Levene* dengan taraf signifikan (0,05).

