

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan jenis *desain pra eksperimen (Pre experimental design)*. Pada laboratorium memakai rancangan *post test only group design* dengan perlakuan yaitu variasi lama masa simpan untuk larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*). Hasil penelitian ini didapat setelah perlakuan masa simpan larutan Turk modifikasi selama 0 hari, 5 hari, dan 10 hari, lalu masing-masing perlakuan diulangi sebanyak 16 kali pada masing-masing pemeriksaan.

3.2 Jumlah Pengulangan

Sampel penelitian ini adalah larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*). Air perasan dari buah jeruk nipis akan di gunakan untuk menjadi salah satu komposisi larutan Turk modifikasi yang dilakukan untuk hitung jumlah leukosit. Menurut (Sari & Nurbidayah, 2021), jumlah replikasi masing-masing perlakuan didapatkan berdasarkan rumus Federer berikut :

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

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

$$1r - 1 \leq 15$$

$$1r \geq 16$$

$$r \geq 16/1$$

$$r \geq 16$$

Keterangan :

r = Jumlah replikasi

t = Jumlah kelompok perlakuan

15 = Derajat kebebasan umum

Pengulangan dalam tiap kelompok perlakuan adalah 16 kali tiap hari pemeriksaan.

3.3 Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1 Variabel

- a. Variabel Bebas : Lama waktu penyimpanan larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*).
- b. Variabel Terikat : Daya tahan larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*).

3.3.2 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Skala Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur
1	Lama waktu penyimpanan	Larutan Turk modifikasi disimpan selama waktu 0 hari, 5 hari, dan 10 hari.	Rasio	Kalender	Hari
2	Daya tahan	Kemampuan larutan Turk modifikasi untuk menjadi larutan alternatif sehingga memberikan hasil yang sama dengan larutan Turk (kontrol)	Interval	Hitung Jumlah Leukosit dengan Haemocytometer Improved Bauer	Sel/mm ³

3.4 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*), spesimen darah EDTA, larutan Turk (kontrol), gentian violet, aquadest, cover glass, kapas alcohol, kapas kering, kertas saring, dan kertas label.

3.5 Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah bilik hitung, mikroskop binokuler, mikropipet, pipet tips, pipet ukur, ball pipet, labu ukur, gelas ukur, batang pengaduk, vacutainer, rak tabung, tube/vial, botol kaca gelap, alat pemeras jeruk nipis, dan pisau dapur.

3.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) di ambil pada Sungai Besar, Kecamatan Banjarbaru Selatan Kalimantan Selatan. Lokasi penelitian ini dilaksanakan pada Laboratorium Patologi Klinik Universitas Borneo Lestari. Penelitian ini dilaksanakan di bulan April 2024.

3.7 Prosedur Pengambilan Data

3.7.1 Izin Penelitian

1. Izin Determinasi

Peneliti meminta surat izin kepada prodi Diploma III Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Teknologi Universitas Borneo Lestari untuk melakukan uji determinasi di Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat.

2. Izin Menggunakan Laboratorium

Penelitian meminta surat izin kepada Diploma III Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Teknologi di Kampus Universitas Borneo Lestari untuk melakukan penelitian di Laboratorium Patologi Klinik.

1.7.2 Prosedur Kerja

1. Determinasi Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*)

Tanaman jeruk nipis yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji determinasi di Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat.

2. Pengumpulan Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*)

Pada tahap awal, jeruk nipis yang akan dijadikan sampel penelitian dicuci terlebih dahulu. Pilihlah jeruk nipis muda yang masih banyak mengandung air. Lalu peras menggunakan air jeruk. Biji yang terkandung dalam air jeruk nipis dipisahkan. Kemudian air jeruk nipis dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam gelas beaker.

3. Pembuatan Larutan Turk Modifikasi

Menurut Hurrohmah, (2020), cara pembuatan larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 2% yaitu, disediakan 1 buah gelas ukur yang bersih, kemudian air perasan jeruk nipis yang telah disaring diencerkan dengan aquades steril dengan memipet air perasan jeruk nipis sebanyak 20 ml dan

dilarutkan dalam 1 liter aquades steril. Setelah itu dipipet gentian violet sebanyak 10 ml memakai pipet ukur serta dimasukkan kedalam gelas ukur yang berisi air perasan jeruk nipis dan aquadest steril tadi, kemudian diaduk campuran tersebut menggunakan batang pengaduk hingga tercampur rata.

Larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang telah dibuat dipisah menjadi 3 bagian di dalam botol berwarna gelap yaitu sebagai berikut :

- a. Botol gelap yang pertama berisi 343 ml larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang akan diperiksa langsung pada hari ke 0 atau segera sewaktu pemeriksaan hitung jumlah leukosit.
- b. Botol gelap yang kedua berisi 343 ml larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang akan disimpan pada suhu dingin untuk dilakukan pemeriksaan pada hari ke 5. Sebelum dilakukan pemeriksaan larutan Turk modifikasi didiamkan terlebih dahulu pada suhu ruang.
- c. Botol gelap yang ketiga berisi 343 ml larutan Turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang akan disimpan pada suhu dingin untuk dilakukan pemeriksaan pada hari ke 10. Sebelum dilakukan pemeriksaan larutan Turk modifikasi didiamkan terlebih dahulu pada suhu ruang.

4. Pengambilan Spesimen Darah

Disiapkan alat serta bahan, kemudian dekati pasien dengan ramah dan tenang, pastikan pasien merasa nyaman. Pasien diminta untuk meluruskan lengannya, kemudian pasien diminta mengepalkan tangan. Pasang tourniquet sekitar 10 cm di atas lipatan siku. Dipilih vena median cubiti atau cephalic, dipalpasi guna menjamin posisi vena, jika vena terasa seperti pipa kecil, elastis dan berdinding tebal. Jika vena tidak teraba, pijat mulai asal pergelangan tangan hingga siku, atau dilakukan pengkompresan menggunakan air hangat hingga 5 menit di area lengan. Bersihkan kulit yang akan diambil dengan kapas yang diberi alkohol 70% serta biarkan hingga kering, dengan syarat kulit yang telah disterilkan tidak boleh disentuh lagi. Vena ditusuk menggunakan lubang jarum mengarah ke atas. Jika jarum sudah berada di pembuluh darah, nampak darah masuk ke dalam spuit (flash). Spesimen darah diambil sebanyak 3 ml setiap waktu ingin pemeriksaan. Setelah specimen darah sudah terisi, diminta pasien untuk membuka genggamannya. Di tempatkan kapas di lokasi suntikan dan segera ditarik jarum dengan perlahan. Di tekan kapas di tempat suntikan selama beberapa detik, lalu di plester area tersebut selama ± 15 menit. Spesimen darah yang telah diambil dimasukkan pada tabung antikoagulan EDTA lalu dihomogenkan, jika sudah homogen, spesimen darah dibagi menjadi dua tabung.

Dimana tabung pertama berisi 1,5 ml spesimen darah untuk menghitung jumlah sel leukosit menggunakan larutan Turk modifikasi dan tabung kedua berisi 1,5 ml spesimen darah untuk pemeriksaan menggunakan larutan Turk kontrol yang akan digunakan pada pemeriksaan hari ke 0 (segera). Pada pemeriksaan hari ke 5 dan hari ke 10 spesimen darah diambil lagi dengan menggunakan responden yang sama sebanyak 3 ml dan dipisah lagi menjadi dua tabung.

5. Uji Mutu Larutan Turk Modifikasi Berdasarkan Lama Masa Simpan

a. Uji Kualitas Fisik Reagen

Keadaan fisik larutan Turk modifikasi dilihat setiap hari pemeriksaan dengan mengamati warna reagen, mengamati ada tidaknya endapan dan mengamati ada tidaknya penggumpalan reagen.

b. Hitung Jumlah Leukosit Menggunakan Larutan Turk Modifikasi Berdasarkan Variasi Lama Masa Simpan

Larutan perasan jeruk nipis termodifikasi Turk dipipet menggunakan mikropipet 950 μ l. Kemudian dipipet sebanyak 50 μ l spesimen darah yang diberi antikoagulan EDTA. Lalu dihomogenkan. Bagian luar dibersihkan dengan tisu, kaca penutup diletakkan diatas kamar hitung, kemudian ditetaskan pada kamar hitung dengan menggunakan mikropipet hingga

memenuhi ruang hitung. Amati di bawah mikroskop menggunakan lensa 10x dan 40x pada kamar besar leukosit dan catat hasil yang didapatkan. Pemeriksaan dikerjakan sebanyak 16 kali pengulangan untuk menghasilkan hasil yang lebih akurat.

c. Cara Perhitungan Jumlah Leukosit

Menggunakan lensa objektif perbesaran 40x, kondensor dikebawahkan serta diafragma diperkecil. Kamar hitung yang wilayahnya ada garis diletakkan pada bawah lensa objektif serta fokus mikroskop diarahkan ke arah yang bergaris. Maka sel leukosit akan terlihat jelas. Hitung semua sel leukosit yang ada di empat area besar di seluruh permukaan yang terbagi.

Penghitungan diawali pada sudut kiri atas, melanjutkan ke kanan, lalu turun serta dimulai kembali dari kanan ke kiri, kemudian turun lagi untuk diulang kembali dimulai dari kiri ke kanan. Metode ini dilakukan di empat bidang besar.

Dihitung jumlah sel leukosit yang ditemukan dengan rumus berikut :

$$\text{Jumlah sel} = \frac{\text{Jumlah sel yang ditemukan} \times \text{Faktor pengencer}}{\text{Volume}}$$

Contoh jika diketahui :

Jumlah sel yang ditemukan 150 sel

Pengenceran 20 x

Kamar besar yang dihitung sebanyak 4 buah

Maka :

$$\text{Jumlah Sel} = \frac{150 \text{ sel} \times 20}{4 \times 0,1} = 7.500 \text{ sel/mm}^3$$

* 0,4 didapat dari konversi volume kamar tengah.

3.8 Pengumpulan Data

Data yang diperoleh oleh peneliti yaitu data primer, yaitu data yang didapatkan secara langsung dari hasil pemeriksaan.

3.9 Cara Pengolahan dan Analisa Data

3.9.1 Cara Pengolahan Data

Data hasil hitung jumlah leukosit yang diperoleh melalui eksperimen pengujian penyimpanan larutan Turk modifikasi dilakukan pengolahan data yang meliputi tahapan sebagai berikut :

1. Pemeriksaan Data

Data yang sudah terkumpul di periksa apakah sudah cukup, lengkap, benar, sesuai, dan relevan dengan hasil penelitian.

2. Penginputan Data

Data hasil penelitian yang sudah benar dilakukan penginputan data untuk memindahkan data dan informasi dari bentuk fisik ke bentuk digital dengan cara mengetikkannya dan memasukkan ke dalam komputer pada program SPSS.

3. Pengolahan Data

Data yang telah diinput dilakukan secara otomatis oleh komputer di dalam program SPSS untuk mengetahui dan memberikan hasil dari data yang telah diinput.

4. Pengecekan Data

Hasil data yang telah diolah dilakukan pengecekan data untuk memastikan ketiadaan kesalahan, kelengkapan, dan sejenisnya pada data yang telah diinput dan diproses.

3.9.2 Analisa Data

Hasil yang didapatkan perhari pemeriksaan akan dilakukan diuji statistik, uji tersebut meliputi tahapan sebagai berikut :

1. Uji Normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk memperlihatkan bahwa data yang diinput mempunyai distribusi yang normal atau tidak agar dapat dilanjutkan dengan uji lanjutannya. Pada masing-masing hari pemeriksaan yaitu hari 0, 5, dan 10 akan dilakukan masing-masing uji normalitas. Uji normalitas data pada perlakuan dilakukan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk*, data terdistribusi normal apabila $\alpha > 0,05$.

2. Uji Homogenitas Data

Uji homogenitas bertujuan untuk memperlihatkan data dari beberapa varian yang menunjukkan sama atau tidak. Pada masing-masing hari pemeriksaan yaitu hari 0, 5, dan 10 akan dilakukan masing-masing uji homogenitas. Uji homogenitas data ini bertujuan untuk mengetahui apakah varian data bersifat homogen atau tidak, yang mana akan dilaksanakan menggunakan Uji *Levene's test*, uji homogenitas dikatakan homogen apabila $\alpha > 0,05$.

3. Uji *Paired-Sample T-Test*

Pada masing-masing hari pemeriksaan yaitu hari 0,5, dan 10 akan dilakukan masing-masing uji *Paired-Sample T-Test*. Uji *Paired-Sample T-Test* ini digunakan untuk memeriksa perbandingan rata-rata dua variabel dalam satu kelompok, atau digunakan untuk menguji dua sampel yang memiliki keterkaitan atau bersifat berpasangan. Sampel berpasangan dapat diartikan sebagai kumpulan data yang berasal dari subjek yang sama, tetapi menjalani dua perlakuan yang berbeda, yaitu pengukuran sebelum dan setelah penerapan treatment.