

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan desain Pre-experimental (*Pre-Experimental Design*) karena pada penelitian ini masih terdapat variabel luar yang dapat mempengaruhi pemeriksaan.

3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *Post test only group design* dengan perlakuan yaitu larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis disimpan pada suhu ruang dan suhu dingin selama 0 hari, 7 hari dan 14 hari.

3.2 Besar Sampel

Menurut Sudigdo (2012) dalam Sari dan Nurbidayah (2021), menentukan besar sampel dapat menggunakan rumus *Federer*, sebagai berikut:

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

Keterangan :

r : Jumlah replikasi atau pengulangan

t : Jumlah kelompok perlakuan

a) Jumlah Pengulangan Hari Ke-0

Pada pemeriksaan hari ke-0, banyaknya kelompok yaitu ada 2 perlakuan, sehingga hasilnya:

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

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

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

$$1r - 1 \leq 15$$

$$r \leq \frac{15+1}{1}$$

$$r \leq 16$$

Jadi, total jumlah pengulangan sampel terhadap 2 kelompok perlakuan pada hari ke-0 yaitu sebanyak 16 replikasi dengan 1 spesimen yang sama.

b) Jumlah Pengulangan Hari Ke-7 dan 14

Pada pemeriksaan hari ke-7 dan 14, banyaknya kelompok yaitu ada 3 perlakuan, sehingga hasilnya:

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

$$(r-1) \times (3-1) \leq 15$$

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

$$2r - 2 \leq 15$$

$$r \leq \frac{15+2}{2}$$

$$r \leq 8,5 / 9$$

Jadi, total jumlah pengulangan sampel terhadap 3 kelompok perlakuan pada hari ke-7 dan 14 yaitu sebanyak 9 replikasi dengan 1 spesimen yang sama

3.3 Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1 Variabel

Variabel bebas (independen) pada penelitian ini adalah suhu penyimpanan dan lama waktu penyimpanan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*). Variabel terikat (dependen) pada penelitian ini adalah 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.	Suhu penyimpanan	Larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia Swingle</i>) disimpan pada suhu ruang (15-25°C) dan suhu dingin (2-8°C)	Interval	Thermohygro meter	°C
2.	Lama waktu penyimpanan	Larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia Swingle</i>) disimpan selama 0 hari, 7 hari, dan 14 hari	Rasio	Kalender	Hari
3.	Daya tahan	Kemampuan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia Swingle</i>) untuk dapat menjadi larutan alternatif dan memberikan hasil yang sama dengan larutan standar	Interval	Hitung jumlah leukosit dengan kamar hitung	Sel/mm ³

3.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah air perasan jeruk nipis, gentian violet 1%, aquades steril, darah EDTA, vacutainer holder, tabung vacutainer ungu, kaca penutup (*cover glass*), kapas alkohol, kapas kering, kertas saring, kertas label.

3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop binokuler, tabung reaksi, *Haemocytometer* kamar hitung (*improved neubauer*), tourniquet, peralatan gelas, *ball pipet*, pipet volume, mikropipet, alat pemeras jeruk, saringan teh, pisau dapur, sendok, botol kaca gelap, rak tabung, batang pengaduk, pH meter, tube/vial, dan *Thermohygrometer*.

3.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi pengambilan buah jeruk nipis yaitu di Sungai Besar, Kecamatan Banjarbaru Selatan, Kalimantan Selatan dan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2024 bertempat di Laboratorium Universitas Borneo Lestari.

3.7 Prosedur Pengambilan Data

3.7.1 Izin Penelitian

Peneliti meminta izin penelitian di kampus Universitas Borneo Lestari Banjarbaru, setelah mendapatkan perizinan oleh pihak kampus kemudian meminta izin kepada Kepala Laboratorium Universitas Borneo Lestari untuk menggunakan Laboratorium.

3.7.2 Prosedur Kerja

3.7.2.1 Determinasi Tanaman

Tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*), yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan determinasi di Laboratorium dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

3.7.2.2 Pengumpulan Air Perasan Jeruk Nipis

Pada tahap awal, jeruk nipis yang akan digunakan sampel penelitian terlebih dahulu dicuci. Dipilih buah jeruk nipis yang masih muda, buah tersebut yang masih banyak mengandung air. Kemudian diperas menggunakan perasan jeruk. Biji yang terdapat diatas perasan jeruk nipis tersebut dipisahkan. Selanjutnya disaring menggunakan saringan teh dan disaring kembali menggunakan kertas saring agar didapatkan sari perasan jeruk nipis yang bening dan bersih. Kemudian air perasan jeruk nipis tersebut dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam beaker glass.

3.7.2.3 Pembuatan Larutan Turk Modifikasi dengan Jeruk Nipis

Menurut Hurrohmah *et al*, (2020) cara pembuatan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis 2% yaitu, yang pertama 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 menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam gelas ukur yang berisi air perasan jeruk nipis dan aquades tadi, kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk hingga tercampur rata dan ukur pH. pH pada larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis harus mirip dengan pH pada larutan turk pabrik. Larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang telah dibuat dipisah menjadi 5 bagian dan dimasukkan dalam botol kaca gelap seperti berikut :

- a) Botol kaca gelap pertama berisi larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis sebanyak 206 ml yang akan digunakan untuk hitung jumlah leukosit pada hari ke 0.
- b) Botol kaca gelap kedua berisi larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis sebanyak 206 ml yang akan disimpan pada suhu ruang (15-25°C) selama 7 hari
- c) Botol kaca gelap ketiga berisi larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis sebanyak 206 ml yang akan disimpan pada suhu ruang (15-25°C) selama 14 hari.
- d) Botol kaca gelap keempat berisi larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis sebanyak 206 ml yang akan disimpan pada suhu dingin (2-8°C) selama 7 hari.
- e) Botol kaca gelap kelima berisi larutan turk modifikasi air

perasan jeruk nipis sebanyak 206 ml yang akan disimpan pada suhu dingin (2-8°C) selama 14 hari.

3.7.2.4 Pengambilan Spesimen Darah

Siapkan alat dan bahan, kemudian lakukan pendekatan kepada pasien dengan tenang dan ramah, pasien dibuat nyaman mungkin. Pilih tangan yang banyak melakukan aktivitas. Pasien diminta untuk mengepalkan tangannya. Kemudian pasang tourniquet kira-kira 10 cm di atas lipatan siku. Pilih bagian *vena mediana cubiti* atau *cephalic*, dan lakukan perabaan (*palpasi*) untuk memastikan posisi *vena*, apabila *vena* teraba seperti sebuah pipa kecil, elastis dan memiliki dinding yang tebal. Jika *vena* tidak teraba, lakukan pengurutan dari arah pergelangan ke siku, atau kompres hangat selama 5 menit pada daerah lengan. Bersihkan kulit pada bagian yang akan diambil darahnya dengan kapas alkohol 70% dan biarkan kering, dengan catatan kulit yang sudah dibersihkan jangan dipegang kembali. S spuit mengarah ke bagian *vena* dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas. Jika jarum telah masuk ke dalam *vena*, maka akan terlihat darah masuk kedalam semprit (*flash*). Sebaiknya sekali tusuk *vena*, lalu tourniquet dilepas. Setelah volume darah dianggap cukup, kepalan tangan pasien dibuka. Kemudian kapas diletakan di tempat suntikan lalu segera lepaskan/tarik jarum dan tekan kapas beberapa saat lalu plester

selama ± 15 menit. Volume darah yang diambil pada hari ke-0 yaitu 3 ml yang kemudian dibagi menjadi 2 tabung EDTA dengan masing-masing tabung berisi 1,5 ml. Spesimen darah pada tabung pertama diperiksa menggunakan turk kontrol, sedangkan spesimen darah pada tabung kedua diperiksa menggunakan turk modifikasi. Cara yang sama dalam pengambilan spesimen darah dilakukan pada hari ke-7, dan hari ke-14 dengan volume darah yang diambil yaitu 4 ml yang kemudian dibagi menjadi 3 tabung EDTA dengan masing-masing tabung berisi 1,3 ml. Spesimen darah pada tabung pertama diperiksa menggunakan turk kontrol. Spesimen darah pada tabung kedua diperiksa menggunakan turk modifikasi yang disimpan pada suhu ruang ($15-25^{\circ}\text{C}$) sedangkan spesimen darah pada tabung ketiga diperiksa menggunakan turk modifikasi yang disimpan pada suhu dingin ($2-8^{\circ}\text{C}$).

3.7.2.5 Uji Mutu Larutan Turk Modifikasi Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) Berdasarkan Suhu Penyimpanan dan Lama Masa Simpan

1) Uji Kualitas Fisik Reagensia

Kualitas fisik larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) dapat dilakukan dengan mengamati parameter keadaan reagensia setelah disimpan

yaitu warna larutan, ada tidaknya endapan/kristal, kekentalan, ada tidaknya pemisahan reagen/larutan.

2) Hitung Jumlah Leukosit Menggunakan Larutan Turk Pabrik

Sampel darah dengan antikoagulan EDTA dibuat pengenceran tabung sebanyak 20x dengan cara pipet darah EDTA menggunakan mikropipet sebanyak 50 ul/0.05 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian pipet larutan turk kontrol sebanyak 950 ul/0,95 ml dan masukan ke dalam tabung tadi, kemudian homogenkan. Pipet larutan tersebut menggunakan mikropipet dan bagian luar tip dilap dengan tisu. Kemudian teteskan sampel di atas kamar hitung sampai memenuhi bagian kamar hitung. Amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x di kotak besar leukosit serta dicatat hasil jumlah leukosit. Pemeriksaan ini dilakukan sebanyak 16 kali pengulangan yang dilakukan pada hari ke 0 dan dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali pada hari ke 7, dan ke 14, untuk larutan turk pabrik sebagai pembanding dari larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis.

3) Hitung Jumlah Leukosit Menggunakan Larutan Turk Modifikasi Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) Yang Disimpan Pada Suhu Ruang (15-25°C).

Sampel darah dengan antikoagulan EDTA dibuat pengenceran tabung sebanyak 20x dengan cara pipet darah

EDTA menggunakan mikropipet sebanyak 50 ul/ 0.05 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian pipet larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) sebanyak 950 ul/0,95 ml dan masukan ke dalam tabung tadi, kemudian homogenkan. Larutan tersebut dipipet menggunakan mikropipet dan bagian luar tip dilap dengan tisu. Kemudian teteskan sampel di atas kamar hitung sampai memenuhi bagian kamar hitung. Amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x di kotak besar leukosit serta dicatat hasil jumlah leukosit. Pemeriksaan ini dilakukan pengulangan sebanyak 16 kali pada hari ke 0 dan dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali pada hari ke 7, dan ke 14, untuk larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang disimpan pada suhu ruang (15-25°C).

4) Hitung Jumlah Leukosit Menggunakan Larutan Turk Modifikasi Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) Yang Disimpan Pada Suhu Dingin (2-8°C).

Sampel darah dengan antikoagulan EDTA dibuat pengenceran tabung sebanyak 20x dengan cara pipet darah EDTA menggunakan mikropipet sebanyak 50 ul/ 0.05 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) yang telah disimpan pada suhu dingin.

Tetapi sebelum digunakan larutan tersebut didiamkan pada suhu ruang. Larutan turk modifikasi dipipet sebanyak 950 ul/0,95 ml dan masukan ke dalam tabung tadi, kemudian homogenkan. Larutan tersebut dipipet menggunakan mikropipet dan bagian luar tip dilap dengan tisu. Kemudian teteskan sampel di atas kamar hitung sampai memenuhi bagian kamar hitung. Amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x di kotak besar leukosit serta dicatat hasil jumlah leukosit. Pemeriksaan ini dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali pada hari ke 7, dan ke 14, untuk larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang disimpan pada suhu dingin (2-8°C).

3.8 Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini yaitu menggunakan data primer dari hasil percobaan (*eksperimen*) yang dilakukan dan didapatkan langsung oleh peneliti melalui pemeriksaan hitung jumlah leukosit.

3.9 Cara Pengolahan dan Analisa Data

3.9.1 Cara Pengolahan Data

Pengelolaan data dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Pengkodean data, yaitu hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit menggunakan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang

disimpan selama 0 hari, 7 hari dan 14 hari diberikan kode-kode tertentu agar tidak terjadi kekeliruan dalam pembuatan tabel data.

- 2) Pembuatan tabel data, yaitu proses menempatkan data yang diperoleh dari hasil hitung jumlah leukosit menggunakan larutan turk kontrol dan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang disimpan selama 0 hari, 7 hari dan 14 hari dalam bentuk tabel.
- 3) Penginputan data, yaitu proses pemindahan data dari fisik menjadi digital yang diketik dan dimasukkan kedalam komputer.
- 4) Pengecekan data, yaitu proses pemeriksaan data yang sudah diinput dan diproses untuk memastikan tidak ada kesalahan atau ketidaklengkapan.

3.9.2 Analisa Data

Data yang telah diolah kemudian dianalisis dengan uji statistik sebagai berikut:

- 1) Uji Normalitas, untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak, sebab dalam uji statistik parametrik data harus berdistribusi normal. Uji normalitas yang digunakan yaitu *Shapiro Wilk* dimana data berdistribusi normal apabila $\alpha > 0,05$.
- 2) Uji Homogenitas, digunakan untuk menunjukkan bahwa dua atau lebih kelompok sampel data diambil dari populasi yang memiliki varians yang sama. Sama halnya dengan uji normalitas, uji homogenitas digunakan sebagai syarat dalam uji statistik parametrik. Data dikatakan homogen apabila $\alpha < 0,05$.

- 3) Uji *Paired T-test*, jika data yang didapat berdistribusi normal maka dilanjutkan uji parametrik yaitu uji *Paired T-test* untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata jumlah leukosit pada larutan turk kontrol dengan larutan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang disimpan pada hari ke-0
- 4) Uji ANOVA, digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata jumlah leukosit yang diperiksa menggunakan turk kontrol, turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang disimpan pada suhu ruang dan turk modifikasi air perasan jeruk nipis yang disimpan pada suhu dingin. Jenis ANOVA yang digunakan adalah *One Way ANOVA* (analisis ragam satu arah).
- 5) Uji *Post Hoc Test*, digunakan untuk mengetahui perbedaan kelompok mana saja yang berbeda rata-ratanya bila pada pengujian ANOVA dihasilkan ada perbedaan bermakna (H_0 ditolak).