

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah menggunakan penelitian eksperimen.

3.2 Desain penelitian

Desain penelitian yaitu cross sectional adalah penelitian untuk melihat gambaran fenomena yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (*Masturoh dan Anggita T, 2008*).

3.3 Populasi dan sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua pasien perempuan dewasa yang melakukan pemeriksaan darah rutin ke Klinik Anatya Medika.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah 1 orang pasien perempuan dewasa yang melakukan pemeriksaan darah rutin.

Untuk menentukan banyaknya pengulangan yang dilakukan maka ditentukan dengan menggunakan rumus federer:

Rumus federer:

$$(r-1)(t-1) > 15$$

Dimana:

r= banyaknya pengulangan

t= kelompok perlakuan

$$(r-1)(t-1) > 15$$

$$(r-1)(4-1) > 15$$

$$(r-1)3 > 15$$

$$3r > 18$$

$$r > 6$$

Berdasarkan hasil perhitungan rumus federer diatas, diperoleh banyaknya pengulangan adalah 6 kali.

3.4 Lokasi dan waktu penelitian

3.4.1 Lokasi penelitian

Tempat penelitian bertempat di Laboratorium Klinik Anatya Medika.

3.4.2 Waktu penelitian

Dilaksanakan pada bulan Januari 2024.

3.5 Alat, bahan, metode, dan prosedur pemeriksaan

3.5.1 Alat pemeriksaan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

Torniquet, tabung serologi, rak tabung serologi, mikropipet beserta tip, kamar hitung Improved Neubauer, mikroskop, beaker glass 100 ml, corong glass, cover glass.

3.5.2 Bahan pemeriksaan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

Asam asetat glasial 2%, gentian violet 1%, EDTA 10%, aquadest, air perasan jeruk nipis 1,5%, 2,5%, 3,5 %, darah vena, kapas kering, alkohol swab, tissu, kertas saring.

3.5.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode manual (*direct counting*) menggunakan mikroskop.

3.5.4 Prosedur pemeriksaan

Pra analitik

- a) Persiapan pasien: menjelaskan kepada pasien terhadap tindakan yang akan dilakukan.
- b) Persiapan sampel: diambil sampel darah vena dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA dengan perbandingan 1:1.

Analitik

- a. Pengambilan darah vena
 1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 2. Diberi label pada tabung dan letakkan pada rak tabung.
 3. Bersihkan area pembuluh vena yang akan diambil darah dengan alkohol 70% dan biarkan kering.
 4. Pasang torniquet 3-5 jari diatas vena yang akan diambil.
 5. Diambil darah dengan spuit sebanyak 5 ml.

6. Diberi kapas kering pada tempat tusukan, buka torniquet yang sudah dipasang, dan spuit dikeluarkan.
 7. Kemudian darah dimasukkan kedalam tabung yang telah diberikan antikoagulan.
 8. Dialirkan darah secara perlahan pada dinding tabung lalu dihomogenkan sebelum digunakan dalam pemeriksaan.
- b. Pembuatan air perasan jeruk nipis
1. Dicuci jeruk nipis dengan air mengalir hingga bersih.
 2. Dipotong jeruk nipis sebanyak $\frac{1}{4}$ kg dibagi menjadi dua bagian, kemudian tiap jeruk nipis diperas menggunakan alat untuk peras.
 3. Ditampung air perasan jeruk nipis dalam beaker glass.
 4. Kemudian saring menggunakan kertas saring sebanyak dua kali.
 5. Konsentrasi 100% diperoleh tanpa penambahan larutan apapun.
- c. Pembuatan larutan turk
1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 2. Tambahkan gentian violet 100 ul ke dalam beaker glass.
 3. Tambahkan asam asetat glasial 200 ul ke dalam beaker glass.
 4. Tambahkan aquadest 10.000 ul dan homogenkan.
 5. Pindahkan ke dalam labu ukur dan homogenkan.
- d. Pembuatan air perasan jeruk nipis konsentrasi 1,5%
1. Disiapkan alat dan bahan yang digunakan.
 2. Masukkan 100 ul gentian violet ke dalam beaker glass.
 3. Tambahkan 150 ul air perasan jeruk nipis.

4. Dan tambahkan 10.000 ul aquadest ke dalam beaker glass.
 5. Homogenkan.
 6. Dipindahkan ke dalam beaker glass baru dan saring.
- e. Pembuatan air perasan jeruk nipis konsentrasi 2,5%
1. Siapkan alat dan bahan yang digunakan.
 2. Masukkan 100 ul gentian violet ke dalam beaker glass.
 3. Tambahkan 250 ul air perasan jeruk nipis.
 4. Dan tambahkan 10.000 ul aquadest ke dalam beaker glass.
 5. Homogenkan.
 6. Dipindahkan ke dalam beaker glass baru dan saring.
- f. Prosedur pembuatan air perasan jeruk nipis konsentrasi 3,5%
1. Siapkan alat dan bahan yang digunakan.
 2. Masukkan 100 ul gentian violet ke dalam beaker glass.
 3. Tambahkan 350 ul air perasan jeruk nipis.
 4. Dan tambahkan 10.000 ul aquadest ke dalam beaker glass.
 5. Homogenkan.
 6. Dipindahkan ke dalam beaker glass baru dan saring.
- g. Pemeriksaan leukosit
- a) Pengenceran darah 20 kali metode tabung
1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 2. Dihisap 380 ul larutan pengencer dengan mikropipet.
 3. Dimasukkan larutan pengencer ke dalam tabung serologi.

4. Dihisap 20 ul darah dengan mikropipet, dimasukkan ke dalam tabung serologi yang sudah di isi larutan pengencer.
5. Dibilas darah yang tersisa di dalam tip mikropipet sebanyak tiga kali dengan larutan pengencer.
6. Dihomogenkan.

b) Mengisi kamar hitung

1. Disiapkan kamar hitung, dibasahi sedikit dengan air pada bagian pinggir kaca penutup sehingga dapat menempel dengan kuat.
2. Ditutup kamar hitung dengan kaca penutup atau cover glass.
3. Dihisap larutan dengan mikropipet, kemudian ujung tip mikropipet dengan sudut 30° diletakkan pada kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup dan kamar hitung akan terisi cairan dengan daya kapilaritasnya.
4. Dibiarkan kamar hitung selama 2-3 menit agar leukosit mengendap. Jika tidak segera dihitung, kamar hitung disimpan dalam cawan petri yang di isi segumpal kapas atau tissu basah dan ditutup.

c) Menghitung jumlah sel

1. Diletakkan kamar hitung pada meja preparat mikroskop dengan posisi mendatar.
2. Dilakukan pemeriksaan hitung jumlah sel leukosit dengan lensa 10x dengan kondensor diturunkan dan iris diafragma ditutup dan lensa 40x.

3. Dihitung sel leukosit pada keempat bidang besar leukosit pada sudut-sudut kamar hitung.
4. Dihitung sel-sel yang menyinggung garis sebelah kiri dan atas sedangkan sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan dan bawah tidak dihitung.

Perhitungan:

- Pengenceran pada pipet leukosit= 20x
- Luas bidang leukosit= $1 \times 1 \text{ mm}^2 = 1 \text{ mm}^2$
- Luas ke empat bidang besar leukosit= $4 \times 1 \text{ mm}^2 = 4 \text{ mm}^2$
- Tinggi kamar hitung= $1/10 \text{ mm}$
- Jumlah leukosit per mm^2 darah yaitu:

Jumlah leukosit= $P \times KV \text{ (koreksi volume)} \times N \text{ (jumlah sel)}$

$P = \text{pengenceran} = 20x$

$KV = \text{koreksi volume} = p \times l \times \text{jumlah kotak}$

$$= \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{10} \times 64$$

$$= \frac{64}{160} \text{ mm}^3 = \frac{1}{2,5} \text{ mm}^3$$

$$= 2,5/ \text{ mm}^3$$

$N = \text{jumlah sel} = 20 \times 2,5 \times \text{jumlah sel 4 kotak besar}$

$$= 50 \times \text{jumlah sel 4 kotak besar}$$

3.6 Alur penelitian

