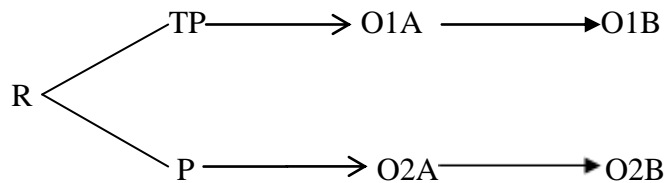


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimen, yang dilakukan untuk meneliti gejala yang tampak pada kondisi tertentu sehingga dapat diketahui apa benar air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*) menyebabkan meningkatnya kadar hemoglobin (g/dl). Dengan rancangan penelitian sebagai berikut:



Gambar 3.1: Rancangan Penelitian (Alimul, 2010)

Keterangan :

R : Random

TP : Tanpa pemberian air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*)

P : Dengan pemberian air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*)

O1A : Observasi kadar Hb setelah pemberian NaNO₂

O1B : Observasi peningkatan kadar Hb tanpa pemberian air rebusan buncis
(*Phaseolus vulgaris Linn*)

O2A : Observasi kadar Hb setelah pemberian NaNO₂

O2B : Observasi peningkatan kadar Hb dengan pemberian air rebusan buncis
(*Phaseolus vulgaris Linn*)

3.2 Populasi dan Sampel Pemeriksaan

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah sekelompok mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari Instalasi Kandang Hewan Percobaan (IKHP) Pusat Veteriner Farma Surabaya.

3.2.2 Sampel Pemeriksaan

Sampel dalam penelitian ini terdapat 2 kelompok mencit setiap kelompok terdiri dari 16 mencit (*Mus musculus*) yang berumur 4-5 minggu dengan berat badan 20 gram yang berjenis kelamin betina dan berjenis (*Mus musculus*). Jumlah 16 sampel diperoleh dari rumus di bawah ini :

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

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

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

$$1r -1 \leq 15$$

$$1r \geq 15 + 1$$

$$1r \geq 16$$

$$r \geq 16/1$$

$$r = 16 \text{ (Aziz, 2010).}$$

Keterangan:

t : Banyak kelompok perlakuan.

r : Jumlah replikasi.

Berdasarkan perhitungan jumlah sampel diatas maka jumlah pengulangan dari setiap perlakuan diambil 16 ekor mencit sehingga jumlah sampel 32 mencit jantan.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Veteriner Farma Jl. A.Yani 68 – 70 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan bulan Juni 2015, sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Mei 2015.

3.4 Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

- 3.4.1.1 Variabel bebas : Pemberian air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*)
- 3.4.1.2 Variabel terikat : Kadar Hemoglobin (g/dl) mencit (*Mus musculus*)
- 3.4.1.3 Variabel kontrol : Semua variabel yang diduga berpengaruh misalnya jenis kelamin mencit, umur, berat badan, suhu, jenis makanan, dosis pemberian NaNO₂ (Natrium Nitrit) dan tempat isolasi mencit.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

- 3.4.2.1 Pemberian air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*) adalah memberikan air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*) pada mencit yang sudah diturunkan kadar Hb dengan NaNO₂. Air rebusan buncis diberikan ke mencit sebanyak 0,3ml x 3 sehari selama 3 hari berturut-turut.
- 3.4.2.2 Tanpa pemberian air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*) adalah memberikan aquadest yang sudah diturunkan kadar Hb dengan NaNO₂.

Aquadest diberikan ke mencit sebanyak 0,3ml x 3 sehari selama 3 hari berturut-turut.

3.4.2.3 Kadar hemoglobin adalah angka yang menunjukkan banyaknya hemoglobin dalam setiap g/dL dan dihitung dengan menggunakan Hb stik.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data penelitian diperoleh dengan uji laboratorium dengan tahap pemeriksaan sebagai berikut :

3.5.1 Prinsip pemeriksaan

Metode yang digunakan untuk pemeriksian hemoglobin adalah *QUIK-CHECK Hb Hemoglobin testing system*. Metode atau cara pengujian *QUIK-CHECK Hb* ditunjukkan untuk menentukan nilai kuantitatif dari hemoglobin. Cara mudah untuk melakukannya dengan menggunakan poertable meter yang menggunakan intensitas dan warna cahaya yang terpantul pada reagen yang ada pada tes strip. Nilai normal Hb pada laki-laki adalah 13,0 – 17,0 g/dl sedangkan pada wanita 12,0 – 15,0 g/dl.

3.5.2 Alat pemeriksaan

1. Timbangan
2. Gelas ukur
3. Beaker glass
4. Panci
5. Kompor
6. Saringan
7. Pipet ukur

8. Sduit
9. Kapas alcohol
10. Mikropipet
11. Stik Hb
12. Gunting

3.5.3 Bahan pemeriksaan

1. Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn)
2. Mencit (*Mus musculus*)
3. Aquades
4. NaNO₂ (Natrium Nitrit)

3.5.4 Prosedur pemeriksaan

3.5.4.1. Perlakuan patologis Anemia pada Mencit :

Perlakuan patologis Anemia pada mencit adalah melalui pemberian Natrium Nitrit (NaNO₂) dengan ketentuan LD50 rata – rata dari NaNO₂ secara oral pada tikus adalah 250 mg/kg berat badan (Munawaroh, 2009). Pada penelitian ini, berat badan mencit 20 g, sehingga kadar NaNO₂ setiap ekor adalah :

Kadar NaNO₂ mencit = Kadar NaNO₂ tikus

$$\begin{aligned} \frac{\text{Xmg}}{20 \text{ g}} &= \frac{250\text{mg}}{1000\text{g}} \\ \text{Xmg} &= \frac{20\text{g} \times 250\text{mg}}{1000\text{g}} \\ &= 5 \text{ mg} \end{aligned}$$

Perlakuan Patologis anemia yang efektif yaitu, $LD50 = \frac{1}{2} \times 5 \text{ mg}$
 $= 2,5 \text{ mg}$.

1. Sehingga dosis yang digunakan pada setiap ekor yaitu 2,5 mg yang dilarutkan dalam 1 ml aquades.
2. Natrium nitrit diberikan sebanyak 0,1 ml/10 g BB/hari Lisminingsih (1996 *dalam* Hutapea, 2006). Natrium nitrit diberikan kepada mencit sebanyak 0,3 ml/gBB.

3.5.4.2 Persiapan Air Rebusan Buncis

- a. Membeli buncis yang masih segar
- b. Di cuci hingga bersih, lalu timbang hingga 100 gr
- c. Masukkan kedalam panci dan tambahkan 100 ml aquadest
- d. Rebus dengan suhu 90°C selama 15 menit
- e. Ambil air rebusan buncis.

3.5.4.3 Pengukuran kadar Hb pada Mencit (*Mus musculus*)

- a. Sebelum dilakukan penyuntikan dan pengambilan darah mencit (*Mus musculus*) terlebih dahulu disiapkan mencit yang berumur 4-5 minggu, berat 20 gram, yang berjenis kelamin betina. Mencit (*Mus musculus*) dijadikan 2 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 16 mencit.
- b. Setelah dilakukan pengelompokan, kemudian semua mencit (*Mus musculus*) dipuaskan selama 2 jam. Setelah 2 jam kemudian diberi Natrium Nitrit (NaNO_2).

- c. Setelah 4 hari kemudian dilakukan pengambilan darah mencit (*Mus Musculus*) melalui ekor, kemudian diperiksa dengan menggunakan metode langsung dengan menggunakan Hb stik.
- d. Setelah di ambil darahnya kemudian semua mencit (*Mus musculus*). Untuk mencit (kelompok kontrol dan perlakuan) dipuasakan 2 jam, setelah 2 jam kemudian dalam kelompok perlakuan diberi air rebusan buncis sebanyak 0,3ml sebanyak 3x dalam sehari dan untuk mencit kelompok kontrol di sediakan aquadest. Setelah 3 hari kemudian dilakukan pengambilan darah mencit (*Mus musculus*) melalui ekornya sebanyak 10 mikroliter.
- e. Darah diperiksa dengan menggunakan Hb stik (*QUIK-CHECK Hb Hemoglobin testing system*). Komposisi pada reagen Hb stik yaitu Natrium dexycolat (3%), Natrium nitrit (1,5%) dan bahan-bahan Non-reaktif.

3.6 Tabulasi Data

Adapun data yang diperoleh dari pengamatan tersebut dimasukkan dalam tabel pengamatan seperti dibawah.

Tabel 3.1 Contoh Tabel Hasil Uji Laboratorium Kadar Hb Mencit

Kadar Hemoglobin ($\frac{g}{dl}$)						
Kode Sampel	Tanpa Pemberian Air Rebusan Buncis (Kontrol)			Dengan Pemberian Air Rebusan Buncis (Perlakuan)		
	Kondisi Sebelum	Kondisi Sesudah	Selisih Kadar Hb ($\frac{g}{dl}$)	Kondisi Sebelum	Kondisi Sesudah	Selisih Kadar Hb ($\frac{g}{dl}$)
M1						
M2						
M3						
M4						
M5						
M6						
M7						
M8						
M9						
M10						
M11						
M12						
M13						
M14						
M15						
M16						

Keterangan :

Kondisi Awal (Kontrol) : Pada Kondisi ini mencit sudah dilakukan pemberian NaNO_2

Kondisi Akhir (Kontrol) : Pada Kondisi ini mencit diberi Aquadest

Kondisi Awal (Perlakuan) : Pada Kondisi ini mencit sudah dilakukan pemberian NaNO_2

Kondisi Akhir (Perlakuan) : Pada Kondisi ini mencit diberi Air Rebusan Buncis

Selisih Kadar Hb ($\frac{g}{dl}$) : Kondisi Akhir – Kondisi Awal

Data yang diperoleh pada Tabulasi data diatas, pada penelitian ini diuji dengan menggunakan uji T bebas. Dengan tingkat kesalahan 5% (0,05).