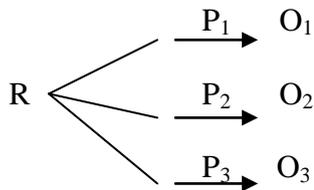


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan jumlah trombosit dengan menggunakan kamar Hitung, hapusan darah tepi dan hematology analyzer. Sedangkan untuk rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



Keterangan :

R : Random

P₁ : Menggunakan Kamar Hitung

P₂ : Menggunakan Hapusan Darah Tepi (HDT)

P₃ : Menggunakan Hematology Analyzer Sysmex XT - 2000

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Mahasiswa D-3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mahasiswa D-3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya dengan kriteria sampel yang jumlah trombositnya normal. Besar sampel pada penelitian ini adalah 27 sampel yang ditentukan dengan rumus berikut (Hidayat, 2010) :

$$(R-1) (T-1) \geq 15$$

$$(R-1) (3-1) \geq 15$$

$$(R-1) (2) \geq 15$$

$$2R - 2 \geq 15$$

$$2R \geq 17$$

$$R \geq 8,5 \sim 9$$

Jumlah sampel : $9 \times 3 = 27$ sampel dengan perlakuan menggunakan kamar hitung, hapusan darah tepi dan hematology analyzer.

Keterangan :

R : Jumlah ulangan atau jumlah sampel

T : Jumlah kelompok

Sampel darah yang diperiksa untuk hitung trombosit dilakukan di RSUD.Dr. M. Soewandi Surabaya dan laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dan pemeriksaan dilaksanakan di RSUD.Dr.M Soewandi Jalan Tambak Rejo 45-47, Surabaya dan Laboratorium Universitas Muhammadiyah Jalan Sutorejo 59, Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Juni 2015, dan pemeriksaan sampel dilakukan pada bulan April 2015.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : kamar hitung, hapusan darah tepi dan hematologi analyzer
2. Variabel Terikat : Jumlah Trombosit
3. Variabel Kontrol : EDTA, *Rees Ecker*, Giemsa, dan Metanol

3.4.2 Definisi Operasional

1. Definisi operasional variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemeriksaan menggunakan kamar hitung adalah cara perhitungan jumlah trombosit dengan *improve neubaur I* dengan satuan (sel/mm^3 darah), pemeriksaan menggunakan hapusan darah tepi adalah cara perhitungan jumlah trombosit dengan melakukan hitung kesan jumlah trombosit dengan satuan sel/Lapang pandang dan pemeriksaan menggunakan hematology *analyzer* adalah cara perhitungan jumlah trombosit dengan menggunakan alat *analyzer sysmex 2000* dengan satuan $/\text{mm}^3$ darah.

2. Definisi operasional variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah trombosit dalam 3 ml darah pada tabung vacum EDTA yang jumlahnya dinyatakan dengan per mm^3 darah.
3. Definisi operasional variabel kontrol dalam penelitian ini adalah EDTA (*Ethylene Diamineter Tetra Acetat*) mencegah trombosit bergumpal karena itu EDTA sangat baik digunakan sebagai antikoagulan pada hitung trombosit, *Rees Ecker* adalah larutan pengencer yang tidak melisiskan trombosit dan digunakan untuk mengecat trombosit yang di hitung menggunakan hemositometer, giemsa adalah larutan yang digunakan sebagai cat trombosit pada hapusan darah tepi karena dapat memberikan warna komponen polikromasi dan metanol digunakan untuk memfiksasi hapusan darah tepi sebelum di cat dengan Giemsa.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data penelitian ini diperoleh dengan cara eksperimental dari perhitungan jumlah trombosit dengan menggunakan kamar hitung, hapusan darah tepi, dan hematology analyzer.

3.5.1 Prinsip Pemeriksaan

3.5.1.1 Prinsip Pemeriksaan dengan kamar hitung

Darah dengan antikoagulan dilarutkan dengan larutan pengencer *Rees Ecker* untuk mengecat trombosit dan dihitung dalam hemositometer. Larutan harus disaring sebelum dipakai (R Gandosoebata, 2001).

3.5.1.2 Prinsip Pemeriksaan dengan HDT (Hapusan Darah Tepi)

Bersihkan ujung jari dengan alkohol dan bairkan mengering lagi, tusuk ujung jari dengan lancet, setelah jumlah darah keluar menjadi kira-kira $\frac{1}{4}$ teteskan pada objek glass, buatlah sedian apusan dan cat menggunakan Giemsa, hitung jumlah trombosit yang dilihat bersama dengan 1000 eritrosit, lakukan tindakan menghitung jumlah eritrosit per μl darah, perhitungkan jumlah trombosit per μl darah atas dasar kedua angka itu (R Gandosoebrata, 2001).

3.5.1.3 Prinsip Pemeriksaan hematology analyzer sysmex XT - 2000

XT - 2000 dapat menganalisis dan output hasil untuk 32 parameter sampel darah. Ini menggunakan teknologi aliran *cytometry fluoresensi* menduga jumlah standar lima bagian diferensial , granulosit matang (*metamyelocyte, mielosit dan promyelocytes*), sel darah merah berinti (NRBC) , jumlah retikulosit , fraksi retikulosit dewasa dan optik jumlah trombosit neon . Kombinasi sisi pencar (kompleksitas dalam sel), pencar ke depan (volume) dan intensitas *fluoresensi* dari sel berinti memberikan gambar yang ringkas namun tepat dari setiap sel yang terdeteksi dalam darah perifer. Sebuah deskripsi fisik didefinisikan dengan baik dari populasi leukosit yang berbeda (*cluster*) diperoleh. Sel-sel abnormal dan belum dewasa, dengan volume yang lebih besar nuklir mereka menunjukkan intensitas fluoresensi yang jauh lebih tinggi daripada sel normal, dan mudah dibedakan dalam *scattergram DIFF* (SOP Sysmex).

3.5.2 Alat – Alat

Alat - alat yang digunakan adalah kamar hitung, pipet thoma eritrosit, cover glass kamar hitung, petridish, mikroskop, kertas saring, objek glass dan symex analyzer hematolgi XT - 2000

3.5.3 Bahan Pemeriksaan

Bahan pemeriksaannya adalah darah dengan anti koagulan EDTA

3.5.4 Reagen

Reagen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Rees Eker*, EDTA, giemsa dan reagen sysmex hematologi.

3.5.5 Prosedur Pemeriksaan Sampel

3.5.5.1 Menggunakan Kamar Hitung

Prosedur penggunaan dengan kamar hitung yaitu :

1. Bagian dalam pipet harus dibilas dulu dengan larutan *Rees Ecker*
2. Darah dihisap samapai tanda “0,5” kemudian larutan *Rees Ecker* sampai tanda “101”
3. Homogenkan dalam pipet selama 3 menit
4. Empat tetes pertama dibuang
5. Masukkan dalam 2 kamar hitung atau 1 kamar hitung
6. Inkubas kira-kira 15-30 menit agar trombosit mengendap, untuk mencegah kekeringan selama menunggu kamar hitung dimasukkan dalam petridish yang diberi kertas saring basah atau kasa basa
7. Baca dibawah mikroskop

3.5.5.2 Menggunakan Hapusan Darah Tepi

Prosedur penggunaan dengan hapusan darah tepi yaitu :

1. Setetes darah tanpa atau dengan antikoagulan diletakkan pada salah satu ujung gelas objek, jika menggunakan darah kapiler langsung gelas objek disentuh pada darah kapiler tanpa menyentuh kulit.
2. Gelas penghapus dipegang antar ibu jari dan telunjuk, membentuk sudut 30° dengan gelas objek yang berisis tetesan darah.
3. Gelas penghapus digeserkan ke arah tetesan darah sehingga menyentuh darah tadi akan merata antara ujung gelas objek penghapus dengan gelas objek.
4. Dengan cepat gelas penghapus digeserkan ke arah yang bertentangan dengan arah pertama, sehingga darah akan merata diatas gelas objek sebagai lapisan tipis.
5. Hapusan segera dikeringkan dengan menggerakkan di udara atau dengan kipas angin (jangan ditiup), supaya sel-sel tidak mengalami perubahan (berupa eritrosit rusak/krenasi yang memudahkan terjadinya rouleaux dan leukosit akan mengkerut).
6. Pada bagian hapusan darah tebal ditulis dengan pencil kaca nama penderita dan tanggal pemeriksaan
7. Lakukan pengecatan dengan cat *Romanowsky* (merah eosin dan biru metil) seperti Wright, Giemsa, May Grundwald, Leishman.
8. Keringkan lalu amati dibawah mikroskop.

3.5.5.3 Menggunakan Hematology Analyzer

Prosedur penggunaan hematology analyzer yaitu :

1. Periksa Alat : Periksa larutan pembilas (air suling) untuk memastikan bahwa analisa tersebut siap untuk operasi.

2. Tekan tombol power : Nyalakan alata 30 menit sebelum menganalisis.
3. Persiapan analisis : Melarutkan reagen 30 menit sebelum analisis. Masukkan reagen ke tempat reagen. Lakukan juga kalibrasi alat.
4. Analisis : Set sampel untuk sampler. Masukkan pesanan sampel untuk dianalisis. Tekan [Start] untuk memulai analisis.
5. Hasil : Hasil analisis akan ditampilkan di LCD dan dicetak di atas kertas printer.
6. Pasca Analisis : Keluarkan reagen dan sampel. Bilas pipet dan hidupkan daya alat OFF. Jalankan pemeliharaan alat untuk analisis berikutnya (SOP Sysmex).

3.5.6 Tabulasi Data

Setelah diketahui hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit menggunakan 3 metode berbeda yaitu metode langsung, tidak langsung dan Hematology Analyzer, maka ditabulasikan sebagai berikut :

Tabel 3.1. Contoh Tabulasi Data

Kode Sampel	Jumlah Trombosit (per mm ³)		
	Kamar Hitung	Hapusan darah Tepi	Hematology Analyzer
A ₁			
A ₂			
A ₃			
Jumlah			

Dengan Keterangan :

Normal : Jumlah trombosit 150.000 – 400.000 / mm³ darah

Abnormal : Jumlah trombosit < 150.000 / mm³ darah

3.6 Metode Analisis data

Setelah diperoleh hasil dalam bentuk tabel, data kemudian dianalisis dengan uji Anova untuk mengetahui perbandingan jumlah trombosit dengan metode langsung, tidak langsung dan hematologi analyzer dengan tingkat kesalahan 0.05.