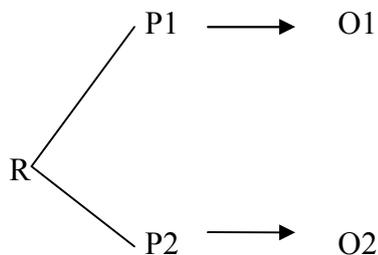


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental, yang dilakukan untuk meneliti gejala yang tampak pada kondisi tertentu sehingga dapat diketahui apa benar sari daun bayam merah menyebabkan meningkatnya kadar hemoglobin (%). Dengan rancangan penelitian sebagai berikut:



Gambar 3.1: Rancangan Penelitian (Aziz, 2010)

Keterangan :

R : Random

P1 : Tanpa pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*)

P2 : Dengan pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*)

O1 : Observasi peningkatan kadar hemoglobin tanpa pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*)

O2 : Observasi peningkatan kadar hemoglobin dengan pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*)

3.2 Populasi Dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

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

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini terdapat 2 kelompok setiap kelompok terdiri dari 16 mencit (*Mus musculus*) yang berumur 12-16 minggu dengan berat badan 30-40 gram yang berjenis kelamin jantan dan berjenis (*Mus musculus*). Jumlah 16 sampel diperoleh dari rumus di bawah ini :

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

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

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

$$1r - 1 \geq 15$$

$$1r \geq 15 + 1$$

$$1r \geq 16$$

$$r \geq 16/1$$

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

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 tiga puluh dua ekor mencit jantan.

3.3 Lokasi Dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dan pemeriksaannya dilakukan di Pusat Veteriner Farma (PusVetMa) Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juli 2014, sedangkan Waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2014.

3.4 Variabel dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

- 3.4.1.1 Variabel bebas : Pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*)
- 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 NaNO_2 (Natrium Nitrit) dan tempat isolasi mencit.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

- a. Sari daun bayam diperoleh dari daun bayam merah 100gr diblender dengan ditambahkan aquades sebanyak 100ml, kemudian disaring untuk mendapatkan sari daun bayam merah.
- b. Kadar hemoglobin adalah angka yang menunjukkan banyaknya hemoglobin dalam setiap g/dL dan dihitung dengan menggunakan Hb stik .
- c. Mencit berspesies *Mus musculus*, berjenis kelamin jantan, beratnya 30-40 gram, berumur 12-16 minggu.
- d. Pemberian larutan Natrium Nitrit (NaNO_2) sebanyak 0,3 ml/g BB kepada mencit (Sianturi dan Tanjung, 2012) selama 4 hari berturut – turut (Yuni Lestari's Undergraduate Theses, 2007)
- e. Pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) sebanyak 0,3 ml kepada mencit (Sianturi dan Tanjung, 2012). Pemberian sari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) diberikan sebanyak 3x sehari dengan cara diminumkan selama 3 hari berturut – turut (Yuni Lestari's Undergraduate Theses, 2007)
- f. Kadar hemoglobin dihitung setelah pemberian NaNO_2 dan perlakuan setelah pemberian sari daun bayam merah selama 3 hari.

3.5 Metode Pengumpulan Data

3.5.1 Persiapan Penelitian

3.5.1.1 Persiapan Alat

- a. Timbangan
- b. Gelas ukur

- c. Beaker glass
- d. Blender
- e. Saringan
- f. Kapas alcohol
- g. Mikropipet
- h. Stik Hb
- i. Objek Glass
- j. Gunting

3.5.1.2 Persiapan Bahan

- a. Daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus*)
- b. Mencit (*Mus musculus*)
- c. Aquades
- d. NaNO₂ (Natrium Nitrit)

3.5.2 Prosedur Penelitian

3.5.2.1 Pembuatan Larutan NaNO₂

- a. Perlakuan patologis 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 tikus 30g, sehingga kadar NaNO₂ setiap ekor adalah :

Kadar NaNO₂ mencit = Kadar NaNO₂ tikus

$$\frac{X\text{mg}}{25\text{g}} = \frac{250\text{mg}}{1000\text{g}}$$

$$\begin{aligned} \text{Xmg} &= \frac{25\text{g} \times 250\text{mg}}{1000\text{g}} \\ &= 6,25 \text{ mg} \end{aligned}$$

Perlakuan Patologis anemia yang efektif yaitu, $LD50 = \frac{1}{2} \times 6,25 \text{ mg}$
 $= 3,125 \text{ mg}$.

b. Jadi, dosis yang digunakan pada setiap ekor yaitu 3,125 mg yang dilarutkan dalam 1 ml akuades.

c. 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.

3.5.2.2 Pembuatan Sari Daun Bayam Merah

1. 100 gr daun bayam merah yang tidak muda atau tidak terlalu tua diambil dari tangkainya.

2. Kemudian dicuci hingga bersih, masukkan ke dalam blender

3. Lalu menambahkan 100 ml aquadest

4. Kemudian diblender hingga halus dan saring

5. Ambil sarinya

3.5.2.3 Penyuntikan dan Pengambilan Darah Mencit (*Mus musculus*)

a. Sebelum dilakukan penyuntikan dan pengambilan darah mencit (*Mus musculus*) terlebih dahulu disiapkan mencit yang berumur 4-5 minggu, berat 20-30 gram, yang berjenis kelamin jantan. Mencit (*Mus musculus*) dijadikan 2 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 16 mencit.

- b. Setelah dilakukan pengelompokkan, kemudian semua mencit (*Mus musculus*) dipuasakan selama 2 jam. Setelah 2 jam kemudian diberi Natrium Nitrit (NaNO_2).
- c. Setelah 3 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 sari daun bayam merah sebanyak 0,3ml sebanyak 3X dalam sehari untuk setiap ekor mencit 16 ml dengan cara di masukkan dalam tempat air minumnya selama 3 hari, dan untuk mencit kelompok kontrol di sediakan aquadest. Setelah 3 hari kemudian dilakukan pengambilan darah mencit (*Mus musculus*) melalui ekornya sebanyak 10 mikroliter.
- e. Kadar Hb diperiksa dengan menggunakan Hb stik.

3.6. Teknik Analisis Data

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

Tabel 3.1. Pengamatan percobaan pemberian sari daun bayam merah terhadap peningkatan kadar hemoglobin mencit

Kode Sampel	Kadar Hemoglobin kontrol (K) (gr/dL)		Kode Sampel	Kadar Hemoglobin kontrol (K) (gr/dL)	
	Sebelum	Sesudah		Sebelum	Sesudah
TP1			P1		
TP2			P2		
TP3			P3		
TP4			P4		
TP5			P5		
TP6			P6		
TP7			P7		
TP8			P8		
TP9			P9		
TP10			P10		
TP11			P11		
TP12			P12		
TP13			P13		
TP14			P14		
TP15			P15		
TP16			P16		

Setelah data terkumpul maka diuji dengan menggunakan uji T bebas dengan tingkat kesalahan 5% (0,05).