

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik yang bertujuan untuk mengetahui faktor estimasi jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi pasien trombositopenia berdasarkan perhitungan jumlah trombosit menggunakan sediaan apus darah tepi dan alat otomatis.

#### **3.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **3.2.1 Populasi Penelitian**

Sebagai populasi penelitian adalah seluruh pasien rawat jalan dan rawat inap yang melakukan pemeriksaan hitung trombosit di RS Dr. H. Slamet Martodirdjo Pamekasan mulai tanggal 25 April sampai dengan 15 Mei tahun 2017.

##### **3.2.2 Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian pasien rawat jalan dan rawat inap yang melakukan pemeriksaan hitung trombosit di RS Dr. H. Slamet Martodirdjo Pamekasan dengan jumlah trombosit dibawah  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$  darah sebanyak 30 sampel yang dipilih secara selektif dari populasi mulai tanggal 25 April sampai dengan 15 Mei tahun 2017.

#### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Pengambilan dan pemeriksaan bahan uji dilakukan di Laboratorium RS Dr. H. Slamet Martodirdjo Pamekasan

### **3.3.2 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilakukan pada tanggal 25 April sampai dengan 15 Mei tahun 2017.

### **3.4 Variabel dan Definisi Operasional Variabel**

#### **3.4.1 Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : Jumlah trombosit pada alat otomatis
2. Variabel terikat : Perhitungan jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi

#### **3.4.2 Definisi Observasional Variabel**

Definisi operasional Variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Hitung jumlah trombosit dengan alat otomatis merupakan cara cepat dalam perhitungan sel. Menggunakan alat otomatis pekerjaan akan menjadi lebih cepat dan mudah terutama saat beban berat. Perhitungan jumlah trombosit dengan menggunakan alat otomatis tidak memerlukan banyak perlakuan untuk mendapatkan hasil karena alat yang akan menghitung berapa banyak jumlah sel trombosit dalam darah.
2. Perhitungan trombosit menggunakan sediaan apus darah tepi dilakukan dengan cara menentukan rata-rata jumlah trombosit perlapang pandang pada sediaan apus darah tepi yaitu menghitung trombosit pada sediaan apus darah tepi yang telah diwarnai dan dalam keadaan kering. Sediaan apus darah tepi diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x. Hitung trombosit dilakukan di daerah yang distribusi eritrositnya merata dan tidak bergerombol, dihitung sebanyak 10 lapang pandang kemudian ditentukan rata-rata trombositnya setiap kali pemeriksaan dengan sampel yang berbeda.

### **3.5 Metode Pengumpulan Data**

Penelitian ini menggunakan metode observasi atau pengamatan untuk mendapatkan sampel yang memenuhi syarat yaitu dengan kriteria jumlah trombosit dibawah  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$  darah yang diperoleh dengan cara uji laboratorium.

#### **3.5.1 Perinsip Pemeriksaan**

##### **3.5.1.1 Alat Otomatis**

Trombosit dihitung berdasar prinsip impedansi maksudnya adalah menghitung perbedaan tahanan listrik antara trombosit dengan diluent pada saat melalui celah sempit (apertura). Perubahan tahanan listrik ini dicatat sebagai penningkatan voltase antara elektrode internal dan eksternal. Setiap pulsa listrik yang terjadi sesuai dengan satu trombosit yang melalui apertura. Tingginya pulsa menunjukkan ukuran trombosit dan jumlah pulsa dapat mengidentifikasi jumlah trombosit.

##### **3.5.1.2 Sediaan Apus Darah Tepi**

Trombosit dihitung pada counting area apusan darah tepi yang dicat dengan Giemsa.

#### **3.5.2 Alat dan Bahan pemeriksaan**

##### **3.5.2.1 Alat Otomatis**

Alat :

- Sysmex XN - 1000
- Rak tabung

Bahan :

Darah EDTA dalam tabung bertutup ungu

### **3.5.3.2 Sediaan Apus Darah Tepi**

Alat :

- A. Objek Glass
- B. Korek Api
- C. Spirtus
- D. Mikro Pipet
- E. Yellow Tip
- F. Mikroskop Olympus CX 22

Bahan : Darah EDTA dalam tabung bertutup ungu

### **3.5.3 Prosedur Kerja**

#### **3.5.3.1 Alat Otomatis**

1. Klik icon regis pada monitor, tulis identitas sampel sesuai label yang ada di tabung, kemudian tekan ok
2. Letakkan tabung pada rak khusus yang sudah tersedia dan letakkan rak di rak loader
3. Klik icon start rak
4. Hasil akan keluar dari printer
5. Sampel darah dengan jumlah trombosit dibawah  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$  darah di pisahkan untuk selanjutnya dibuat sediaan apus darah tepi
6. Jumlah trombosit dibawah  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$  darah yang telah dipisah ditabulasi sesuai hasil yang keluar dari alat otomatis.

### 3.5.3.2 Sediaan Apus Darah Tepi

#### I. Pembuatan Sediaan Apus Darah Tepi

- a. Siapkan alat dan bahan.
- b. Ambil objek glass yang bersih dan kering.
- c. Nyalakan spirtus dengan korek api lalu fiksasi objek glass untuk mengurangi lemak yang menempel pada objek glass.
- d. Letakkan objek glass dengan posisi vertikal.
- e. Teteskan darah meggunakan mikro pipet di atas objek glass di disebelah kanan (tidak terlalu kepinggir), diameter tetesan darah tidak lebih dari 2mm.
- f. Ambil objek glass lain sebagai penghampar darah, pinggiran ujung harus halus dan rata.
- g. Penghampar di pegang dan ujuangnyanya diletakkan di depan (sebelah kiri) tetes darah kemudian penghampar di tarik kekanan secara perlahan sampai mengenai darah dengan sudut kemiringan antara 30 dan 45 derajat.
- h. Darah akan menyebar pada sisi penghampar, kemudian segeralah geser/dorong penghampar kekiri.
- i. Biarkan sediaan sampai mengering.
- j. Jangan lupa tulis identitas sampel pada bagian yang tebal atau dengan menggunakan etiket.

#### II. Pewarnaan Sediaan apus Darah Tepi

Pewarnaan sediaan apus darah tepi pada penelitian ini yaitu menggunakan pewarnaan giemsa.

- a. Letakkan sediaan apus darah tepi di atas jembatan pewarnaan.

- b. Genangi sediaan di dengan methanol, biarkan 5 menit.
- c. Encerkan giemsa induk dengan dengan buffer dalam botol kecil perbandingan 1:4.
- d. Buang sisa metanol pada sediaan kemudian genangi sediaan dengan giemsa yang sudah di encerkan selama 30 menit.
- e. Kemudian cat dibuang dengan cara mengangkat ujung sediaan sampai tegak, segera dicuci dengan air mengalir.
- f. Keringkan sediaan dengan cara diangin-anginkan, kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektik 100x

#### 3.5.4 Tabulasi Data

Hasil hitung trombosit dengan alat di catat satu persatu kemudian dibuat apus darah tepi. Hasil perhitungan trombosit dengan sediaan apus darah tepi di tabulasikan bersama hasil hitung trombosit dengan alat otomatis untuk mendapatkan rasio yang akan mempermudah dalam penentuan faktor estimasi.

Nomor	Jumlah trombosit dengan alat otomatis ( x 10 <sup>3</sup> /μL ) (a)	Nilai rata-rata trombosit perlapang pandang pada sediaan apus darah tepi (b)	Rasio jumlah trombosit : nilai rata-rata trombosit (a : b)
1			
2			
3			

### 3.5.5 Penentuan Faktor Estimasi Jumlah Trombosit

Masing-masing sampel ditentukan rasio jumlah trombosit menurut alat hitung sel otomatis dan rata-rata trombosit. Hasil dari langkah tersebut, dijumlah seluruhnya dan dibagi jumlah sampel yang digunakan. Angka yang diperoleh merupakan faktor estimasi (Uswatun, 2012).

### 3.6 Metode Analisa Data

Dalam penelitian ini, faktor estimasi ditentukan secara manual yaitu dengan mentabulasi data yang telah diperoleh kemudian menghitung berdasarkan rumus yang memperhitungkan jumlah trombosit sesuai alat otomatis dan rata-rata jumlah trombosit perlapang pandang pada mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x. Faktor estimasi yang diperoleh kemudian dikalikan dengan hasil hitung trombosit perlapang pandang dan hasilnya di bandingkan dengan hasil hitung alat otomatis dengan menggunakan SPSS terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov Test*. Uji ini berguna untuk melihat apakah data terdistribusi normal atau tidak. Dikatakan normal jika nilai signifikansi  $>0,05$ . Setelah data diketahui terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji T bebas untuk melihat ada atau tidak perbedaan jumlah trombosit menggunakan faktor estimasi dan hasil hitung alat otomatis. Dikatakan tidak ada perbedaan jika nilai sig. (2-tailed)  $>0,05$ .