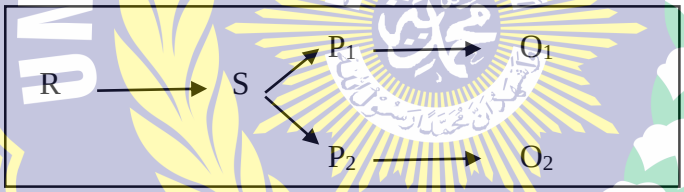
BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa perbedaan lama penundaan darah EDTA terhadap jumlah eritrosit dan indeks eritrosit.

Penelitian ini menggunakan rancangan *One Group Pretest Posttest.* Rancangan ini tidak menggunakan kelompok pembanding sebagai kontrol, tetapi menggunakan observasi pertama (*pretest)* yang memungkinkan menguji perubahan – perubahan yang terjadi setelah eksperimen dengan rancangan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian (Notoatmodjo, 2012)

Keterangan:

R : Randomisasi

S : Sample

P_1 : Kelompok *Pretest* dengan perlakuan pemeriksaan sampel darah EDTA waktu 2 jam.

P_2 : Kelompok *Posttest* dengan perlakuan pemeriksaan sampel darah EDTA penundaan waktu 24 jam.

O_1 : Observasi setelah pemeriksaan sampel darah EDTA waktu 2 jam.

O_2 : Observasi setelah pemeriksaan sampel darah EDTA dengan penundaan waktu 24 jam.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi penelitian

Dalam penelitian ini populasi yang diambil adalah mahasiswa D3 Analis Kesehatan semester 5 Universitas Muhammadiyah Surabaya yang berjumlah 116 mahasiswa.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mahasiswa D3 Analis Kesehatan semester 5 Universitas Muhammadiyah Surabaya yang berjumlah 16 mahasiswa. Dalam penelitian ini terdapat 2 perlakuan pemeriksaan yaitu pemeriksaan waktu 2 jam dan pemeriksaan dengan penundaan waktu 24 jam. Setiap perlakuan diulang sebanyak 16 kali berdasarkan rumus berikut :

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

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

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

$r - 1 \leq 15$

$r \geq 15 + 1$

$r \geq 16$

Keterangan:

r : replikasi / pengulangan

t : treatmen / perlakuan

3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai dengan Juli 2019, sedangkan waktu pengumpulan data dilaksanakan pada bulan Juni 2019.

3.3.2 Lokasi Penelitian

1. Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Prodi D3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.
2. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RS Brawijaya Surabaya.

3.4 Variabel Penelitan dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini, variabel terdiri dari :

1. Variabel bebas : Lama penundaan sampel darah EDTA.
2. Variabel terikat : Jumlah eritrosit dan indeks eritrosit.

3.4.2 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Lama penundaan pemeriksaan adalah pengukuran jumlah eritrosit dan indeks eritrosit dengan waktu 2 jam setelah sampling dan penundaan 24 jam setelah sampling dinyatakan dalam skala nominal.
2. Jumlah eritrosit dan indeks eritrosit (MCV,MCH,MCHC) adalah nilai yang menunjukkan angka dan dinyatakan dalam skala rasio dengan satuan 10^6/µl, fl, pg dan g/dl.
3. Jumlah sampel adalah banyaknya sampel yang digunakan pada setiap perlakuan. Jumlah sampel tersebut sebanyak 16 sampel yang diperlakukan sebanyak 2 kali.
4. Lama penundaan sampel darah EDTA adalah waktu penundaan selama 2 jam setelah sampling dan 24 jam setelah sampling.

5. Suhu penyimpanan adalah suhu yang di gunakan untuk menyimpan sampel adalah suhu ruang (20^0 - 25^0 C).

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data dalam penelitian ini adalah observasi, yaitu pengumpulan data dilakukan dengan cara pemeriksaan laboratorium menggunakan alat Sysmex XS-800i. Kemudian hasil pemeriksaan dapat dianalisa dengan langkah – langkah sebagai berikut :

3.5.1 Persiapan Sampel

Sampel diambil dari darah vena mahasiswa D3 Analis Kesehatan yang terdiri dari 16 orang. Setiap 1 pasien diambil darah vena sebagai bahan pemeriksaan. Langkah – langkah untuk persiapan sampel adalah sebagai berikut :

1. Identifikasi pasien meliputi :
   a. Nama lengkap pasien.
   b. Jenis kelamin pasien.
   c. Umur pasien.
2. Persiapan pasien :
   a. Menyapa pasien dengan sopan dan ramah.
   b. Menjelaskan secara singkat apa yang akan dilakukan.
   c. Bertanya pada pasien persiapan sebelum diperiksa (puasa atau minum obat).

3.5.2 Pengambilan Darah Vena

Alat : 1. Spuit 3cc.

2. Torniquet.

3. Tabung Vacum EDTA.

4. Alkohol Swab 70%.
5. Kapas kering.

Menurut (Kiswari, 2014) prosedur pengambilan darah vena dapat dilakukan sebagai berikut :

1. Menyiapkan tabung dan peralatan yang akan digunakan.
2. Menggunakan sarung tangan dan masker sebagai alat pelindung diri.
3. Mintalah lengan pasien dengan ramah lalu posisikan lengan pasien sedikit menekuk dalam posisi kebawah.
4. Melakukan pembendungan darah dengan memasang torniquet diatas lipatan lengan sekitar 5 – 7 cm.
5. Melakukan palpasi atau mencari vena kearah vertikal maupun horizontal sehingga dapat ditemukan vena terbesar.
6. Melakukan desinfektan daerah tusukan dengan swab alkohol 70% , Lalu kering anginkan diudara 1 – 2 detik.
7. Menegangkan kulit pada bagian distal vena yang akan ditusuk dengan pertolongan ibu jari, sehingga dapat dipastikan vena tidak bergerak.
8. Memposisikan tangan kanan memegang spuit, kemudian tusuk vena yang telah di tentukan dengan posisi jarum membentuk sudut 15 derajat. Dorong jarum pelan – pelan dan rasakan tekanan yang terasa berkurang, jika telah menembus vena darah akan terlihat masuk ke dalam spuit. Gunakan ibu jari tangan kiri untuk mengunci jarum sehingga tidak berubah posisi.
9. Menghisap darah dengan menarik plugger secara pelan – pelan sampai di dapatkan darah sebanyak 3 cc. Kemudian lepas torniquet.

10. Memasang kapas kering diatas tusukan, tarik jarum dari tusukan. Tekan kapas kering dengan tangan kiri.
11. Memasukkan spuit yang telah berisi darah ke dalam tabung EDTA, biarkan darah mengalir sendiri sampai seluruh darah masuk dalam tabung tersebut.
12. Memasang plester diatas kapas kering bekas tusukan.
13. Membuang jarum pada kotak sampah infeksius dan buang sampah kapas pada sampah medis.

3.5.3 Cara homogenisasi Sampel Darah

Homogenisasi dilakukan dengan meletakkan sampel pada Rotator KJMR-II ROLL MIXER selama 5 menit dengan kecepatan stabil, kemudian melakukan homogenisasi manual sebanyak 8 – 10 kali dengan cara membolak balikkan tabung selanjutnya dapat dilakukan pemeriksaan jumlah eritrosit dan indeks eritrosit dengan menggunakan alat Sysmex XS-800i.

3.5.4 Pemeriksaan Hematologi Menggunakan Alat Sysmex XS-800i

Nama Alat : SYSMEX XS-800i.

Tujuan : Untuk menghitung parameter pemeriksaan hematologi antara lain: HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-SD, RDW-CV, WBC, EO, BASO, NEUR, LYMPH, MONO, PLT, PDW, MPV, P-LCR, PCT.

Prinsip : Metode pengukuran (metri) jumlah dan sifat-sifat berbagai komponen seluler yang dibungkus oleh aliran cairan melalui celah sempit yang ditembus oleh cahaya seberkas sinar laser, sistem fluida mengarahkan sel melalui cahaya (laser) fluid dan central channel.

Bahan : Darah EDTA (*Asam Etilen Tetra Asetat*).

Reagen : 1 (satu) set reagen SISMEX XS-800i :

a) Cellpack.

b) Stromalyser 4DL.

c) Stromalyser 4DS.

d) Sulfolyser.

e) Cellclean.

Metode :

1. Metode WBC+WBC diff. fluorescence flow cytometri menggunakan semi conductor leser.
2. Metode RBC/PLT menggunakan hydrodynamic DC detection.
3. Metode HGB menggunakan SLS-Hb *method*.

Cara Kerja :

1. Menyiapkan sampel darah EDTA.
2. Cek status alat dalam keadaan ***Ready*** (lampu *ready* berwarna hijau).
3. Klik *icon Manual* (F2).
4. Memasukkan nomor sampel dan identitas pasien, pilih *discrete* (CBC + Diff).
5. Klik **OK** setelah selesai di set.
6. *Mix* sampel, buka penutup sampel.
7. Masukkan ke dalam ***aspiration port*** kemudian tekan tombol ***Start,*** maka lampu hijau akan berkedip dan tunggu sampai terdengar beep 2x lalu tarik sampel.
8. Tunggu hasil *print out* keluar.

3.6 Penetapan Hasil Akhir

Penetapan hasil akhir diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium jumlah eritrosit dan indeks eritrosit pada mahasiswa D3 Analis Kesehatan Universitas muhammadiyah Surabaya. Kemudian data yang didapatkan dimasukkan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 3.1 Contoh Tabulasi Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit dan Indeks Eritrosit waktu 2 jam.

Parameter	Penundaan waktu 2 jam		
	(N)	Rata – rata	SD
Jumlah Eritrosit			
MCV			
MCH			
MCHC			

Tabel 3.2 Contoh Tabulasi Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit dan Indeks Eritrosit Penundaan waktu 24 jam.

Parameter	Penundaan waktu 24 jam		
	(N)	Rata – rata	SD
Jumlah Eritrosit			
MCV			
MCH			
MCHC			

3.7 Metode Analisa Data

Setelah data terkumpul maka uji dengan menggunakan Uji T berpasangan dengan tingkat signifikan 5% (0,05) terlebih dahulu di uji distribusi normalitas menggunakan SPSS.