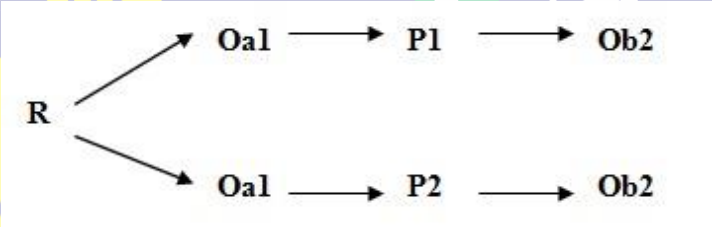
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan eksperimen yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air rebusan ikan gabus (*Channa striata*) terhadap jumlah trombosit mencit *(Mus musculus).* Adapun rancangan yang digunakan dalam penelitian eksperimental laboratoris *"Pre-Test Post-Test Control Grup Design". Design* ini melibatkan 2 kelompok subjek dengan membandingkan keadaan variabel antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Desain penelitian dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3.1 : Rancangan Penelitian
Sumber : (Notoatmodjo, 2012)

Keterangan :

R : Pemilihan sampel kelompok kontrol dan perlakuan secara acak

P1 : Perlakuan terhadap kelompok kontrol

P2 : perlakuan terhadap kelompok perlakuan

Oa1 : Observasi pertama terhadap kelompok kontrol sebelum perlakuan

Oa2 : Observasi pertama terhadap kelompok kontrol sesudah perlakuan

Ob1 : Observasi pertama terhadap kelompok perlakuan sebelum perlakuan

Ob2 : Observasi pertama terhadap kelompok perlakuan sesudah perlakuan

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Dalam penelitian ini, populasi penelitian adalah sekelompok mencit *(Mus musculus)* yang diperoleh dari Pusat Veteriner Farma Surabaya (PUSVETMA).

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mencit yang telah dibagi menjadi 2 kelompok setiap kelompok terdiri dari 16 ekor mencit dengan kriteria mencit yang berumur 2-3 bulan dengan berat antara ±60 gram yang berjenis kelamin jantan karena hormon dalam tubuhnya relatif stabil. Untuk pengulangan pada setiap perlakuan sebanyak 16 kali pengulangan, untuk keseluruhan sampel yang digunakan 16 mencit x 2 perlakuan ditemukan 32 ekor mencit. Banyaknya pengulangan diperoleh dari rumus dibawah ini :

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

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

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

$$1r-1 \geq 15$$

$$1r \geq 15+1$$

$$r \geq 16 \text{ (Notoatmodjo, 2012)}$$

Keterangan :

t : Perlakuan

r : Pengulangan

3.2.3 Teknik Sampling

Teknik sampling dalam penelitian ini dilakukan secara acak, atau disebut juga *non probability sampling* yang pengambilan sampelnya dilakukan dengan cara semua sampel yang ada memenuhi kriteria-kriteria dalam penelitian.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Pusat Veteriner Farma Surabaya (PUSVETMA). Untuk lokasi pengolahan data dilakukan di Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai juli 2019, sedangkan untuk waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan juli 2019.

3.4 Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

1. **Variabel Bebas** :Air rebusan ikan gabus (*Channa striata*)
2. **Variabel Terikat** :Jumlah trombosit mencit (*Mus musculus*)
3. **Variabel kontrol** :Semua variabel yang diduga berpengaruh misalnya jenis kelamin mencit, umur, berat badan, suhu, jenis makanan, dan tempat isolasi mencit.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. Pemberian air rebusan ikan gabus (*Channa striata*) pada kelompok perlakuan adalah memberikan air rebusan ikan gabus (*Channa striata*) pada mencit (*Mus musculus*). Air rebusan ikan gabus diberikan pada mencit sebanyak 1ml setiap hari selama 10 hari berturut-turut.
2. Tanpa pemberian air rebusan ikan gabus (*Channa striata*) pada kelompok kontrol adalah memberikan pakan standar.
3. Jumlah trombosit adalah trombosit dalam setiap mm^3 darah dan dihitung dengan alat hemocytometer dengan satuan mikroliter darah (µl).

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 pemeriksaan trombosit adalah dengan alat hemocytometer. Metode atau cara pengujian alat hemocytometer yaitu darah diencerkan dalam pipet thoma dengan menggunakan larutan yang mengandung Brilliant Cresyl Blue sehingga trombosit berwarna biru cerah, kemudian dimasukkan kedalam kamar hitung. Nilai normal trombosit 150.000 – 450.000/mm3 darah.

3.5.2 Pengumpulan dan Pengolahan Data

1. Alat Pemeriksaan

Alat-alat yang digunakan dalam pemeriksaan meliputi :

a. Timbangan
b. Pisau
c. Panci
d. Saringan
e. Kompor
f. Mikroskop
g. Hemocytometer
h. Alat sonde
i. Pipet ukur
j. Gelas ukur
k. Beaker glass
l. Plate
m. Spuit 1 cc
n. Spidol
o. Label atau etiket.

2. Bahan Pemeriksaan

a. Ikan gabus (*Channa striata*)
b. Mencit (*Mus musculus*)
c. Aquadest

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

3. Prosedur Pemeriksaan

a. Pembuatan Kloramfenikol

Pemberian kloramfenikol bertujuan untuk menghambat agregasi trombosit sehingga menyebabkan terhambatnya pembentukan thrombus dan akan menurunkan trombosit. Sebanyak 1 ml diberikan kepada mencit selama 4 hari.

1) Menimbang 53 mg kloramfenikol bubuk.
2) Melarutkan dalam 47 ml aquadest, diaduk hingga larut dan homogen

b. Pembuatan air rebusan ikan gabus (*Channa striata*)

1) Menyiapkan daging ikan gabus (*Channa striata*) ± 100 gram yang telah dicuci.
2) Memasukkan daging ikan gabus (*Channa striata*) yang telah dicuci dan menambahkan 100 ml aquadest kedalam panci.
3) Merebus selama 15-20 menit.
4) Menyaring hasil rebusan ikan gabus (*Channa striata*)

c. Pembuatan Kandang

1) Menyiapkan box kecil yang terbuat dari plastik dengan memberikan serbuk gergaji sebagai alasnya.
2) Dibagian atas ditutupi dengan kawat yang kuat.
3) Memberi tanda pada box mencit

d. Persiapan Mencit

1) Penimbangan dan Pembagian Mencit

Menimbang satu persatu mencit yang akan diberi perlakuan sebanyak 32 ekor dengan rentang berat ±60 gram dan berumur 2-3 bulan dengan

menggunakan neraca, kemudian hasil dicatat. Untuk pembagian mencit diberi tanda sesuai kode sampel.

2) Masa Adaptasi Mencit

Mencit yang telah ditimbang kemudian diletakkan di dalam kandang untuk proses adaptasi, mencit di dalam kandang selama 3 hari dengan diberi makan yang sama berupa pellet dan air minum.

e. Perhitungan Jumlah Trombosit pada Mencit (*Channa striata*)

1) Menyiapakan mencit yang berumur 2-3 bulan dengan berat ±60 gram berjenis kelamin laki-laki. Mencit dijadikan 2 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 16 mencit.

2) Setelah melakukan pengelompokan kemudian semua mencit dipuasakan selama 2 jam, setelah itu di beri larutan kloramfenikol sebanyak 1 ml selama 4 hari.

3) Setelah 4 hari periksa jumlah trombosit pada masing-masing mencit, dilakukan pengambilan darah melalui jantung mencit dengan spuit langsung ke jantung. Kemudian darah di campur dengan EDTA 10% sebanyak 5 µl dan darah 0,5 ml dihomogenkan (Gandasoebrata, 2010). Berikutnya dihisap hemocytometer sampai batas 0,5 dan dihisap larutan pengencer (larutan Rees Ecker) sampai angka 101, suspensi dikocok hingga homogen. Kamar hitung dan ruangan lembab disiapkan menggunakan kasa basah yang dimasukkan kedalam petridisk, setelah dikocok buang 4-5 tetes dan masukkan sisa cairan pada kamar hitung lalu ditempatkan pada ruang lembab 15 menit,

selanjutnya hitung trombosit di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 40X.

4) Pada kelompok perlakuan diberi air rebusan ikan gabus (*Channa striata*) sebanyak 1 ml sehari dengan pakan standart dan air minum, untuk mencit kelompok kontrol hanya diberi pakan standard dan air minum, kemudian isolasi mencit. Lakukan perlakuan seperti di atas selama 10 hari berturut-turut.

5) Setelah 10 hari perlakuan jumlah trombosit mencit diperiksa kembali menggunakan alat hemocyometer dan larutan Rees Ecker, pada pengamatan di bawah mikroskop dengan pembesaran 40X. Komposisi yang terdapat pada larutan Rees Ecker adalah Sodium citrate, Brilliant Cresyl Blue, Formalin, Aquadest.

f. Tabulasi Data

Data yang diperoleh dari pengamatan tersebut dimasukkan dalam Tabel pengamatan seperti :

Tabel 3.1 Hasil Uji Laboratorium Jumlah Trombosit Mencit (*Mus musculus*) Sebelum dan Sesudah pemberian Air Rebusan Ikan Gabus (*Channa striata*).

Kode Sampel	Jumlah Trombosit Kontrol (K) (mm3 darah)			Kode Sampel	Jumlah Trombosit Perlakuan (P) (mm3 darah)		
	Sebelum	Sesudah	Selisih		Sebelum	Sesudah	selissih
K1				P1			
K2				P2			
K3				P3			
K4				P4			
K5				P5			
↓				↓			
K16				P16			
Jumlah				Jumlah			
Rata-rata				Rata-rata			
SD				SD			

3.6 Metode Analisis Data

Setelah data terkumpul maka uji menggunakan uji T bebas dengan tingkat kesalahan 5% (0,05) terlebih dahulu di distribusi normalitas menggunakan SPSS 16.0.