

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen murni. Penelitian ini disebut eksperimen murni karena peneliti ini menggunakan kontrol sebagai pembandingnya yaitu serum yang diberi perlakuan *High Speed* Sentrifugasi (Sugiyono, 2010). Dalam penelitian ini peneliti hanya mengambil sisa serum pasien kemudian serum dikelompokkan berdasarkan tingkat kelipemikan tinggi, sedang dan rendah berdasarkan kadar trigliserida. Sampel yang digunakan untuk kelompok eksperimen yaitu serum lipemik yang diolah dengan flokulan Alfa Siklodekstrin 200 g/L dan sebagai kelompok kontrol yaitu sampel lipemik yang ditangani dengan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg selama 15 menit pada suhu 25°C.

Desain penelitian ini menggunakan rancangan *Pretest-Posttest Control Group Design*. *Pretest* digunakan untuk mengetahui keadaan awal. Desain ini membandingkan kadar trigliserida pada serum lipemik yang diolah dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi. Sampel diambil bukan secara acak atau *nonrandom* karena sampel serum lipemik sulit untuk didapatkan sehingga peneliti menggunakan metode pengambilan sampel *Quota Sampling*. Teknik sampling ini dilakukan dengan cara menetapkan jumlah anggota sampel secara *quotum* atau

jatah kemudian dijadikan dasar untuk menentukan jumlah sampel yang diperlukan. Semua sampel lipemik yang didapatkan dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito akan dijadikan objek penelitian kemudian penelitian dilakukan sampai *quotum* atau jatah yang ditetapkan telah tercapai. Desain penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 7.

	Pretest	Perlakuan	Posttest
(Kelompok Eksperimen)	O ₁	X	O ₂
(Kelompok Kontrol)	O ₁		O ₃

Gambar 7. Desain Penelitian

Sumber : Sugiyono, 2010

Keterangan:

X : Perlakuan

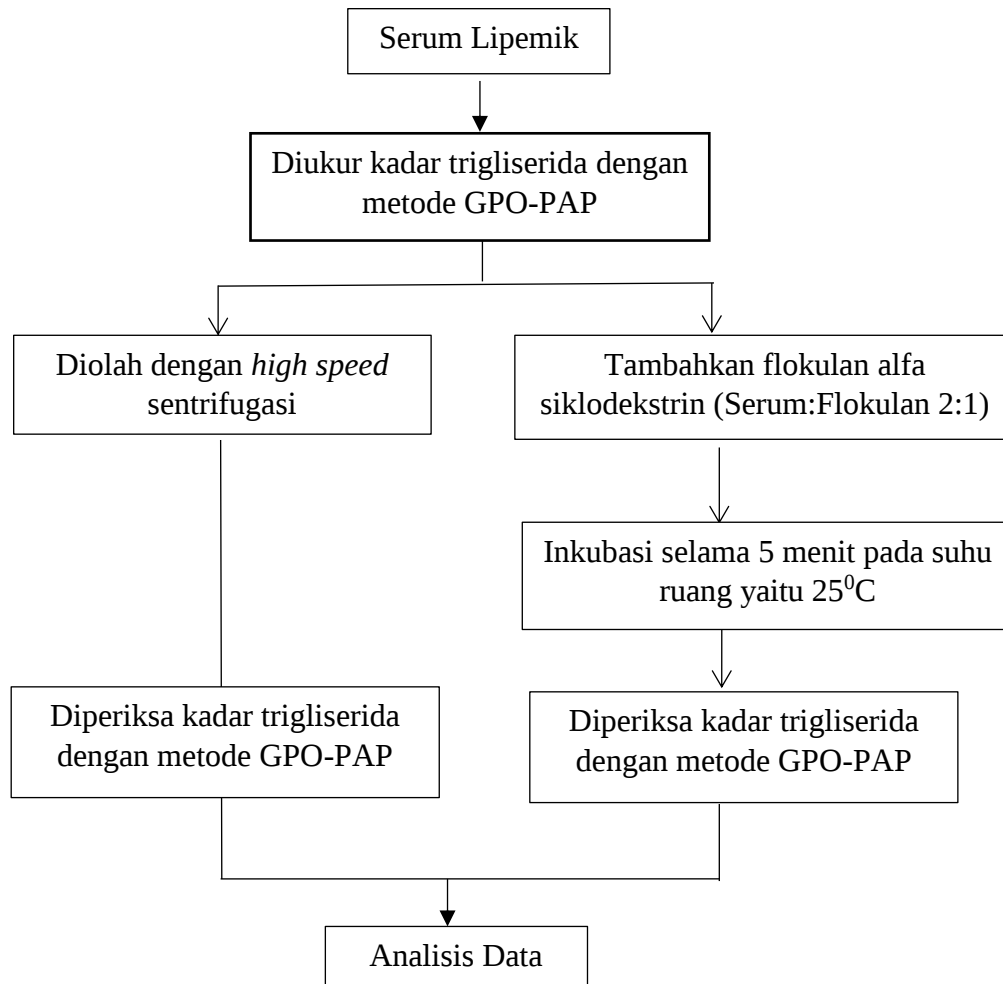
O₁ : Perhitungan kadar trigliserida sebelum diberi perlakuan dengan
Alfa Siklodektrin dan *High Speed* Sentrifugasi

O₂ : Perhitungan kadar trigliserida yang telah diolah dengan penambahan
Alfa Siklodektrin

O₃ : Perhitungan kadar trigliserida yang telah ditangani dengan *High Speed*
Sentrifugasi

B. Alur Penelitian

Alur penelitian dari penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Alur Penelitian

C. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah sisa serum lipemik yang berasal dari pasien di laboratorium RSUP Dr. Sardjito yang dikumpulkan selama 1 bulan dengan kriteria:

1. Kriteria Inklusi

- a. Serum lipemik dengan 3 tingkatan kekeruhan yaitu rendah, sedang, dan tinggi berdasarkan kadar trigliserida
- b. Semua umur
- c. Laki-laki dan perempuan

2. Kriteria Eksklusi

- a. Serum Hemolisa
- b. Serum Ikterik

Menurut Sari (2017) pada penelitian yang berjudul “*Perbedaan Kadar Kreatinin pada Serum Lipemik yang Diolah dengan Polyehlyene Glycol 6000 8% dan High Speed Sentrifugasi*”, sampel yang digunakan untuk penelitian eksperimen sederhana berjumlah 30 sampel terdiri dari 30 sampel kelompok kontrol dan 30 sampel kelompok eksperimen. Jadi jumlah anggota sampel pada penelitian ini adalah 30 serum lipemik yang masing-masing kelompok sebanyak 500 μ L yang berasal dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2019.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengolahan serum lipemik dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan kadar trigliseria yang diolah dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi.

3. Variabel Pengganggu Terkendali

Variabel pengganggu terkontrol dalam penelitian ini adalah serum hemolisis dan serum ikterik.

F. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengolahan serum lipemik dengan flokulan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi. Pengolahan serum lipemik dengan flokulan Alfa Siklodekstrin 200 g/L dan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg selama 15 menit pada suhu 25°C adalah suatu cara yang digunakan untuk menghilangkan lipemik pada serum.

Satuan : -

Skala : nominal

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida yang diolah dengan flokulan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi. Kadar trigliserida adalah jumlah mg trigliserida per 100 mL serum dan dinyatakan dalam satuan miligram per desiliter. Dalam penelitian ini peneliti mengukur kadar trigliserida yang telah dijernihkan dengan flokulan Alfa Siklodekstrin 200 g/L dan yang telah dilakukan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg selama 15 menit pada suhu 25°C.

Satuan : mg/dL

Skala : rasio

3. Variabel Pengganggu Terkendali

a. Serum Hemolisis

Serum hemolisis terjadi karena adanya pelepasan isi intraseluler eritrosit atau sel darah lainnya ke dalam plasma atau serum. Hal ini bisa disebabkan karena gangguan integritas membran sel darah merah yang menyebabkan pelepasan hemoglobin sehingga serum berwarna merah muda sampai merah (Piyophiprapong, 2010).

b. Serum Ikterik

Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning yang diakibatkan oleh deposisi dari bilirubin (serum sudah teroksidasi menjadi biliverdin) (Lisnawati, 2018).

G. Instrumen Penelitian

1. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah serum lipemik sebanyak 30 sampel dan masing-masing kelompok sampel sebanyak 500 μ L.

2. Reagen

a. Akuades

b. Alfa Siklodekstrin

c. Reagen kit Triglicerida

1) Good's buffer pH 7,2 50 mmol/L

2) 4-chlorphenol 4 mmol/L

3) ATP 2 mmol/L

4) Mg^{2+} 15 mmol/L

5) Glycerokinase $\geq 0,4$ kU/L

6) Peroksidase (POD) ≥ 2 kU/L

7) Lipoprotein lipase (LPL) ≥ 2 kU/L

8) 4-aminoantipyrine 0,5 mmol/L

9) Glycerol-3-phosphatase-oxidase $\geq 0,5$ kU/L

10) Standar trigliserida 200 mg/dL (2,3 mmol/L)

3. Alat

- a. Mikropipet
- b. Tip biru
- c. Tip kuning
- d. Tube serum
- e. Neraca analitik
- f. Botol timbang
- g. Batang pengaduk
- h. Sentrifuge
- i. VWR Micro Star 17 / 17R
- j. *Automated Clinical Analyzer Respons 920*

H. Uji Validitas Instrumen

Quality Control (QC) alat *Automated Clinical Analyzer Respons 920* menggunakan reagen kontrol sebelum memeriksa sampel pasien dengan metode “*day to day*” yaitu QC dilakukan setiap hari sebanyak 1 kali pada pagi hari, kemudian dibuat grafik Levey Jenning. Grafik harus menunjukkan tidak adanya penyimpangan menurut aturan *westgard (in control)*. Jika terdapat penyimpangan hasil (*out of control*), maka harus dilakukan evaluasi alat dan reagen hingga hasil dapat *in control* kembali.

I. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan data primer, yaitu data yang didapat dengan cara melakukan penelitian sendiri oleh peneliti yaitu dengan melakukan pengukuran kadar trigliserida. Data diperoleh melalui tahap-tahap sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan

- a. Pengurusan perijinan penelitian dan peminjaman Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Yogyakarta
- b. Pengadaan reagen trigliserida dan Alfa Siklodekstrin

2. Tahap Pelaksanaan

- a. Pengumpulan serum lipemik

Serum lipemik dikumpulkan sebanyak 30 serum dengan 3 tingkatan kekeruhan yang berdasarkan kadar trigliserida serta tidak hemolisis dan tidak ikterik yang berasal dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito. Apabila serum lipemik tidak langsung diperiksa, maka dapat disimpan dengan syarat sebagai berikut:

- 1) Serum lipemik disimpan pada suhu 20-25°C selama 6 jam
- 2) Serum lipemik disimpan pada suhu 4°C selama 6 hari
- 3) Serum lipemik disimpan pada suhu -20°C selama 6 bulan

Serum lipemik yang disimpan dan dapat digunakan untuk pemeriksaan adalah serum yang penyimpanannya tidak lebih dari persyaratan tersebut.

Sampel yang berasal dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito yang tidak langsung diperiksa dapat disimpan di freezer suhu

4°C maksimal waktu penyimpanan selama 6 hari. Pengiriman sampel dari rumah sakit ke Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan cara disimpan menggunakan *cool box* untuk menjaga kestabilan suhu pada serum agar tidak merusak komponen serum.

- b. Pembuatan larutan flokulan alfa siklodekstrin 200 g/L
 - 1) Alfa Siklodekstrin ditimbang dengan menggunakan neraca analitik sebanyak 1 gram.
 - 2) Air dipanaskan dalam wadah sampai suhu 80°C
 - 3) Alfa Siklodekstrin yang sudah ditimbang dilarutkan dengan akuades sampai 5 ml.
 - 4) Alfa siklodekstrin dilarutkan dalam kondisi hangat. Botol timbang diletakkan dalam wadah berisi air hangat (pada suhu 80°C) saat melarutkan.
- c. Pengukuran tingkat kelipemikan berdasarkan kadar trigliserida ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Tingkat Kekeruhan Serum Lipemik Berdasarkan Kadar Trigliserida

Warna dan Kekeruhan	Kadar Trigliserida	Tingkat Lipemik
Putih susu	300-499	Ringan
Putih susu dan keruh	500-799	Sedang

Putih susu dan sangat keruh 800-1800 Berat

Sumber : Nikolac, 2013.

- d. Pengukuran kadar trigliserida pada serum lipemik yang tidak diberi perlakuan dengan spektrofotometer. Reagen yang dibutuhkan adalah kit reagen trigliserida Diasys (2012) untuk pemeriksaan kadar trigliserida. Setelah preparasi selesai kemudian dilakukan pemeriksaan kadar trigliserida. Cara kerja pemeriksaan trigliserida dengan reagen kit trigliserida Diasys (2012) ditunjukkan pada Tabel 3 :

Tabel 3 .Cara Kerja Pemeriksaan Kadar Trigliserida

	Blanko	Standar	Sampel
Akuades	10 µL	-	-
Standar	-	10 µL	-
Serum	-	-	10 µL
Reagen	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Homogenkan dan inkubasi pada suhu 20 ⁰ C-25 ⁰ C selama 20 menit, baca absorbansi sampel dan standar terhadap blanko dalam 60 menit pada panjang gelombang 500 nm.			

Sumber : Diasys, 2012.

Kadar trigliserida kemudian dihitung dengan perhitungan :

$$\text{Trigliserida (mg/dL)} = \frac{\text{Abs sampel}}{\text{Abs standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

- e. Serum lipemik yang telah diukur kadar trigliserida dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama ditambah flokulan Alfa Siklodekstrin 200 g/L

dan bagian kedua yang diberi oleh dengan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg selama 15 menit pada suhu 25°C

f. Perlakuan serum lipemik dengan penambahan Alfa Siklodekstrin 200 g/L

1) Bahan pemeriksaan ditambah larutan flokulan Alfa Siklodekstrin dengan perbandingan 2 : 1 yaitu 2 bagian serum lipemik (0,5 ml) dan 1 bagian flokulan (0,25 ml) dengan konsentrasi larutan Alfa Siklodekstrin 200 g/L (20%) kemudian dicampur.

2) Bahan pemeriksaan diinkubasi selama 5 menit di suhu ruang yaitu 25 °C.

3) Campuran serum Alfa Siklodekstrin disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

g. Pemeriksaan kadar trigliserida pada serum lipemik dengan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg selama 15 menit pada suhu 25°C

1) Alat *High Speed* Sentrifugasi VWR Micro Star 17/17R dipersiapkan sesuai instruksi kerja alat

2) Serum lipemik sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam eppendorf tube. Kemudian masukkan ke dalam *sentrifuge high speed*

3) Serum disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10.000xg.

4) Supernatan diambil dengan hati-hati dan dimasukkan ke dalam cup serum.

5) Pengiriman sampel yang sudah dipreparasi di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta ke

Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta menggunakan *cool box* untuk menjaga kestabilan suhu pada serum agar tidak merusak komponen serum.

h. Tahap pemeriksaan kadar Trigliserida menggunakan *Automated Clinical Analyzer Respons 920*

- 1) Alat *Automated Clinical Analyzer Respons 920* pastikan dalam keadaan “*Ready*”
- 2) Sampel ID dan nama pasien dimasukkan ke dalam LIS (Laboratorium Informasi Sistem)
- 3) Parameter pemeriksaan Trigliserida dipilih kemudian di klik “*Save*”
- 4) Sampel diletakkan pada “*Sampel Tray*” sesuai dengan posisinya
- 5) Tekan “*GO*” kemudian lampu akan berwarna hijau
- 6) Tekan *Pre-run Check* lalu tekan “*OK*”

J. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh merupakan data hasil pemeriksaan trigliserida serum lipemik yang diolah dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi. Analisis deskriptif berupa tabel yang berisi penyebaran data melalui perhitungan rerata selisih hasil pemeriksaan trigliserida pada serum lipemik yang diolah dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi.

2. Analisis Statistik

Data yang diperoleh merupakan data pemeriksaan kadar trigliserida pada serum lipemik sebelum dan sesudah diolah dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala rasio. Data primer tersebut dilakukan uji normalitas data menggunakan *One-Sampel Kolmogorov-Smirnov Test* yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan uji *T-Test* yaitu *Paired Sampel T-Test* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar trigliserida pada serum lipemik sebelum dan sesudah *High Speed* Sentrifugasi. Kemudian diuji dengan *Independent Sampel T-Test* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar trigliserida pada serum lipemik yang diolah dengan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi. Sedangkan jika data tidak berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik menggunakan *Mann Whitney U Test*. Analisis statistik dilakukan dengan bantuan perangkat lunak pengolahan data SPSS dengan taraf signifikansi 5% yang artinya hipotesis diterima apabila $\text{Sig} > 0,05$ (Sugiyono, 2010).

3. Analisis Analitik

Tujuan analisis analitik adalah untuk membuktikan bahwa semua metode analisis yang digunakan dalam pengujian maupun pengawasan mutu senantiasa mencapai hasil yang diinginkan secara konsisten. Analisis analitik digunakan untuk metode tidak baku, metode yang dikembangkan

sendiri oleh laboratorium, atau metode baku yang dimodifikasi. Analisis analitik dilakukan untuk memastikan bahwa metode pengujian tersebut sesuai untuk penggunaan yang dimaksudkan, dan mampu menghasilkan data yang valid (Priyambodo, 2007). Nilai analisis analitik dihitung menggunakan % bias. Rumus untuk menentukan nilai % bias adalah :

$$\% \text{ Bias} = \frac{\text{Rerata Selisih Kadar Tg (Alfa Siklodekstrin} - \text{High Speed Sentrifugasi)}}{\text{Rerata Selisih Kadar Tg High Speed Sentrifugasi}} \times 100 \%$$

K. Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan ke komisi etik penelitian kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Berdasarkan Persetujuan Komisi Etik Nomor LB.01.01/KE-01/VI/237/2019, Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Poltekkes Kemenkes Yogyakarta menyatakan bahwa penelitian ini dinyatakan memiliki kelaikan etik pada tanggal 14 Maret 2019. Kelaikan etik ini berlaku selama satu tahun sejak tanggal etrbit (surat kelaikan etik terlampir).