

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental designs*. Penelitian ini disebut *true experimental designs* karena pada desain ini peneliti dapat mengontrol semua variabel luar yang mempengaruhi jalannya eksperimen. Terdapat banyak variabel luar yaitu serum ikterik dan hemolisis yang ikut berpengaruh terhadap bentuknya variabel dependen. Sampel yang digunakan untuk eksperimen maupun sebagai kelompok kontrol diambil secara random (Sugiyono, 2012).

Eksperimen yang dilakukan pada penelitian ini yaitu memberi perlakuan terhadap serum lipemik dengan menambahkan flokulan alfa siklodekstrin dan menggunakan *high speed* sentrifugasi untuk penanganan serum lipemik. Hasil dari perlakuan tersebut berupa kadar protein total yang diukur menggunakan metode fotometri.

Penelitian ini menggunakan design penelitian *Posttest only control design*. Pada desain ini terdapat dua kelompok yang masing-masing diambil berdasarkan *quota sampling*, dengan cara menentukan jumlah anggota sampel secara *quontum* atau jatah kemudian dijadikan dasar untuk menentukan jumlah sampel yang diperlukan. Sampel penelitian dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama diberi perlakuan dan kelompok yang lain dilakukan *high speed* sentrifugasi. Kelompok yang diberi perlakuan disebut kelompok eksperimen dan kelompok yang diberi perlakuan *high speed*

sentrifugasi disebut kelompok kontrol (Sugiyono, 2012). Bentuk rancangan desain penelitian dapat dilihat di tabel 3.

Tabel 3. Desain Penelitian *Posttest only control design*

	Perlakuan	Posttest
R ₁	X	O ₁
R ₂		O ₂

Sumber : Notoatmodjo, 2010

Keterangan:

R₁ : Kelompok eksperimen

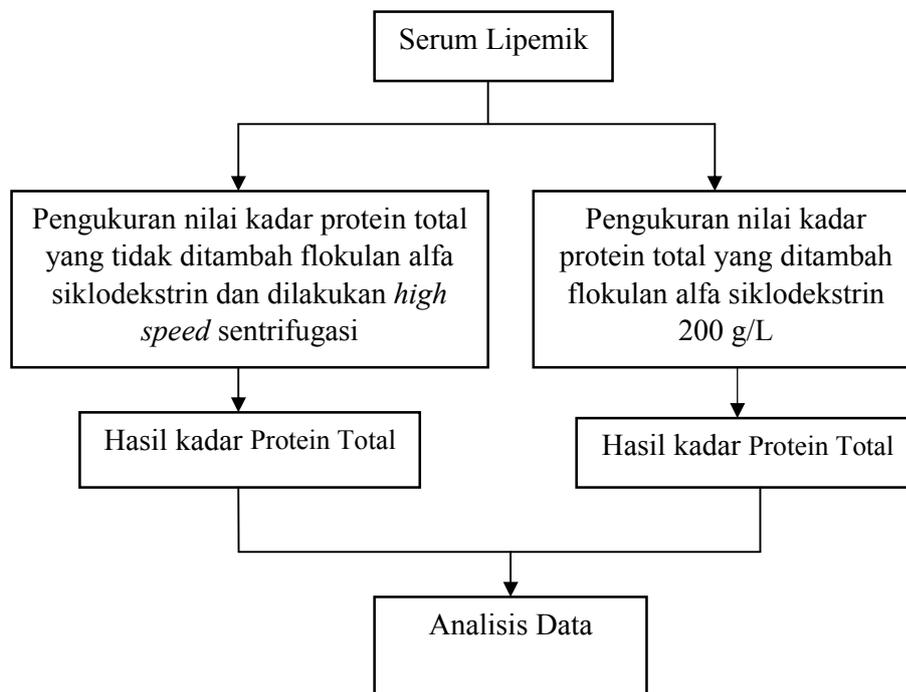
R₂ : Kelompok kontrol

X : Perlakuan

O₁: Perhitungan kadar protein total setelah penambahan flokulan alfa siklodekstrin

O₂ :Perhitungan kadar protein total setelah diolah dengan *high speed* sentrifugasi

B. Alur Percobaan



Gambar 5. Alur Percobaan

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah serum pasien di Instalasi Laboratorium Klinik Rumah Sakit Umum Provinsi (RSUP) Dr. Sardjito.

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah sisa serum lipemik sejumlah 20 serum yang berasal dari pasien di Instalasi Laboratorium Klinik Rumah Sakit Umum Provinsi (RSUP) Dr. Sardjito yang dikumpulkan selama satu bulan.

Berdasarkan persyaratan jumlah sampel pada *intraclass correlation coefficient (ICC)* dengan kekuatan, keyakinan yang sudah ditetapkan sebesar 80% dengan nilai $\alpha = 0,05$ diperoleh 20 sampel (Bujang dan Baharum, 2017).

a. Kriteria inklusi

- 1) Serum lipemik dengan tiga tingkatan kekeruhan yaitu ringan, sedang dan berat yang dilihat secara visual.
- 2) Semua umur
- 3) Laki-laki dan perempuan

b. Kriteria eksklusi

- 1) Serum hemolisis
- 2) Serum ikterik

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Februari 2019.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta dan Laboratorium Kimia Klinik Analisis Kesehatan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan flokulan alfa siklodekstrin dan *high speed* sentrifugasi pada serum lipemik.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar protein total yang ditambahkan flokulan alfa siklodekstrin dan dilakukan *high speed* sentrifugasi

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah suhu saat pengiriman spesimen dari rumah sakit sampai Laboratorium Kimia Klinik Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

F. Definisi Operasional

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penambahan flokulan Alfa siklodekstrin 200 g/L pada serum lipemik. Serum lipemik dibagi menjadi dua bagian. Bagian yang pertama dengan perlakuan *high speed* sentrifugasi dan bagian kedua dengan penambahan flokulan alfa siklodekstrin 200 g/L dengan perbandingan 2:1 (2 bagian serum lipemik dan 1 bagian flokulan).

Satuan : -

Skala : nominal

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar Protein Total serum lipemik dengan perlakuan *high speed* sentrifugasi dan penambahan flokulan Alfa siklodekstrin yang ditetapkan dengan metode Biuret menggunakan spektrofotometer

Satuan : gr/dl

Skala : rasio

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah suhu saat pengiriman spesimen. *Cooler box* sebagai wadah saat pengiriman spesimen dimungkinkan dapat terjadi perubahan diakibatkan karena suhu lingkungan yang terlalu panas, namun perubahan suhu tersebut dapat diminimalkan dengan cara mengambil spesimen saat sore hari. Suhu *cooler box* juga dapat terjadi perubahan apabila pengiriman spesimen dari rumah sakit ke Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta membutuhkan waktu yang lama karena padatnya lalu lintas.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Jenis data pada penelitian ini adalah data primer yang secara langsung diambil dari objek penelitian. Peneliti dalam penelitian ini mengumpulkan data primer dengan melakukan pengukuran secara langsung kadar protein total dalam serum darah yang lipemik yang ditambah flokulan dan serum darah yang lipemik yang yang diberi perlakuan *high speed* sentrifugasi.

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini yaitu melalui berbagai tahap. 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. Pengambilan serum lipemik
 - c. Pengadaan reagen Protein Total, dan Alfa siklodekstrin
 - d. Menyiapkan formulir pencatatan
2. Tahap pelaksanaan
 - a. Pengumpulan serum lipemik sebanyak 20 serum
 - b. Serum lipemik yang telah terkumpul dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama dilakukan dengan *high speed* sentrifugasi digunakan sebagai kelompok kontrol. Bagian kedua ditambah dengan flokulan Alfa siklodekstrin 200 g/L yang digunakan sebagai kelompok eksperimen.
 - c. Pembuatan larutan flokulan Alfa siklodekstrin
 - 1) Menimbang Alfa siklodekstrin dengan menggunakan neraca analitik (mrc, Indonesia) sebanyak 1 gram.
 - 2) Menghangatkan air dalam wadah
 - 3) Melarutkan Alfa siklodekstrin yang sudah ditimbang dengan akuades sampai 5 ml.
 - 4) Alfa siklodekstrin dilarutkan dalam kondisi hangat. Botol timbang diletakkan dalam wadah berisi air hangat saat melarutkan.

- d. Perlakuan serum tanpa penambahan flokulan alfa siklodekstrin dan dilakukan *high speed* sentrifugasi (VWR Micro star 17/17r, Belgia).
- 1) Menyiapkan serum lipemik sebanyak minimal 1,5 ml kedalam tube serum khusus *high speed* sentrifugasi.
 - 2) Bahan pemeriksaan diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang yaitu 20-25°C.
 - 3) Melakukan persiapan alat *high speed* sentrifugasi menggunakan alat VWR Micro Star 17/17R sesuai instruksi kerja alat.
 - 4) Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan *sentrifuge* yaitu 10.000 x g selama 15 menit.
- e. Perlakuan serum dengan penambahan flokulan alfa siklodekstrin
- 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) Memusingkan campuran serum Alfa siklodekstrin selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
- f. Pemeriksaan kadar protein total menggunakan *Automated Clinical Analyzer Respons 920*, Swedia).
- 1) Menyiapkan alat dan bahan

- 2) Nyalakan alat *Automated Clinical Analyzer Respos 920* dengan menyalakan main power ke saklar power.
- 3) Masukkan reagen pada "*Reagen tray*" sesuai dengan posisinya
- 4) Klik tombol "*ML Respos 920*" kemudian dimasukkan ID dan password, ditunggu 8 menit kemudian diklik "OK"
- 5) Masukkan sampel ID dan nama pasien
- 6) Pilih parameter pemeriksaan protein total kemudian diklik "*save*"
- 7) Letakkan sampel pada "*Sampel Tray*" sesuai posisinya
- 8) Klik "*GO*" kemudian lampu akan berwarna hijau
- 9) Klik "*Pre-run Check*" lalu di klik "OK"

H. Instrumen Penelitian

1. Bahan dan Reagen

a. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah serum lipemik sebanyak 20 sampel dan masing-masing sampel minimal sebanyak 1,5 ml.

b. Reagen

- 1) Akuades
- 2) Alfa siklodekstrin
- 3) Reagen KIT Protein Total.

Kandungan reagen KIT protein total terdapat pada tabel 3.

Tabel 4. Kandungan reagen KIT Protein Total

Reagen	Kandungan	Jumlah
R1	Sodium hydroxide	100 mmol/L
	Potassium sodium tartrate	17 mmol/L
R2	Sodium hydroxide	500 mmol/L
	Potassium sodium tartrate	80 mmol/L
	Potassium iodide	75 mol/L

Sumber: Diasys, 2012

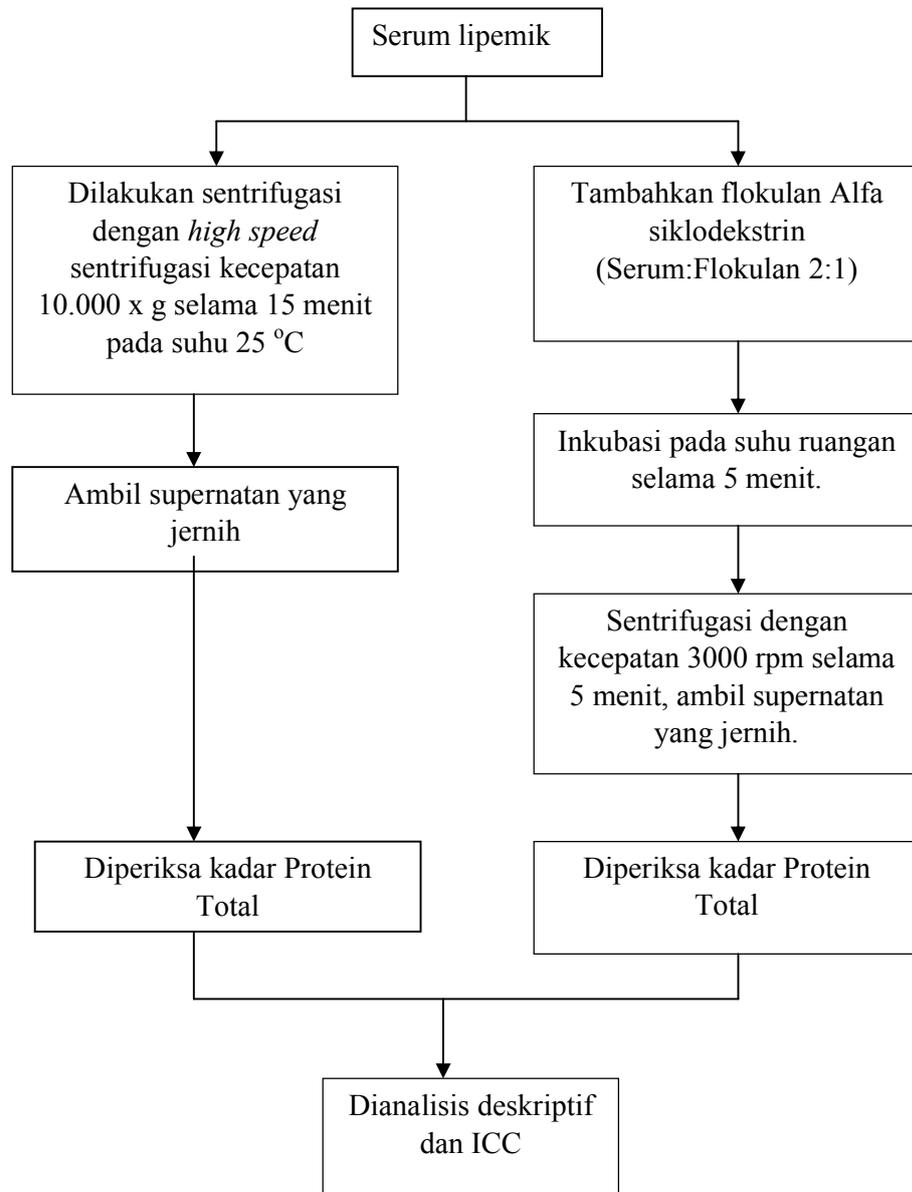
c. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- 1) Mikropipet
- 2) Tip biru
- 3) Tip kuning
- 4) Tube serum
- 5) Stopwatch
- 6) Tabung erlenmeyer
- 7) Labu ukur 100 ml
- 8) Neraca analitik
- 9) Botol timbang
- 10) Tabung reaksi
- 11) Batang pengaduk
- 12) Kuvet
- 13) *Cooler box*
- 14) Sentrifus
- 15) *High speed* sentrifugasi

I. Uji Validitas Instrumen

Quality Control (QC) alat *Automated Clinical Analyzer Resposns 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 diplotkan grafik *Levey Jenning*. Grafik harus menunjukkan tidak ada penyimpangan menurut aturan *westgard (in control)*. Jika terdapat penyimpangan hasil pemeriksaan serum kontrol maka harus dilakukan evaluasi dan perbaikan pada alat, reagen, akomodasi lingkungan dan teknisi, setelah ditemukan penyimpangan dan diperbaiki, serum kontrol diperiksa kembali dan hasil pemeriksaan serum kontrol diharapkan masuk dalam range/tidak mengalami penyimpangan.

J. Prosedur Penelitian

Gambar 6. Prosedur Penelitian

K. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh merupakan data hasil pemeriksaan protein total tanpa penambahan flokulan alfa siklodekstrin dan dilakukan *high speed* sentrifugasi dan sesudah penambahan alfa siklodekstrin pada serum lipemik. Data dianalisis secara deskriptif kemudian dilakukan analisis *intraclass correlation coefficient (ICC)*. Analisis deskriptif berupa tabel dan diagram batang dalam satuan mg/dl, kemudian dilakukan analisis deskriptif dalam penyebaran data melalui perhitungan rerata dan selisih rerata hasil pemeriksaan protein total pada serum lipemik dengan penambahan flokulan alfa siklodekstrin dan yang dilakukan *high speed* sentrifugasi.

2. Analisis *intraclass correlation coefficient (ICC)*

Intraclass correlation coefficient (ICC) adalah analisis yang digunakan untuk menilai reabilitas atau kesepakatan dan konsistensi antar dua atau lebih pengamat variabel kuantitatif. Data yang diperoleh merupakan data pemeriksaan kadar Protein Total dengan penambahan flokulan Alfa siklodekstrin dan ditangani dengan *High Speed* sentrifugasi. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala rasio. Berdasarkan penelitian Bujang dan Baharun (2017) syarat jumlah sampel pada *intraclass correlation coefficient (ICC)* dengan kekuatan, keyakinan yang sudah ditetapkan sebesar 80% dengan nilai $\alpha = 0,05$ diperoleh 18 sampel, maka dibulatkan menjadi 20 sampel.

Menurut Machin, Michael dan Stephen (2007), cara untuk menentukan nilai *intraclass correlation coefficient (ICC)* adalah sebagai berikut :

- a. $S^2 \text{ Within} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}$.
- b. $\text{Varian} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{(n-1)}$
- c. $S^2 \text{ Between} = \text{Varian} - (S^2 \text{ within}/2)$
- d. $\text{ICC} = S^2 \text{ between} / (S^2 \text{ within} + S^2 \text{ between})$

Menurut Koo dan li (2016) dapat diketahui tingkat kesesuaian dengan menghitung nilai ICC. Interpretasi nilai ICC terdapat pada tabel 5.

Tabel 5. Interpretasi Nilai ICC

Rentang Nilai	Interpretasi
>0,9	Kesesuaian Sangat bagus
0,75-0,9	Kesesuaian Bagus
0,5-0,75	Kesesuaian Sedang
<0,5	Kesesuaian Lemah

Sumber: Koo dan Li, 2016

L. Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan ke komisi etik penelitian kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Berdasarkan Persetujuan Komisi Etik Nomor LB.01.01/KE-01/XLV/902/2018, Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta menyatakan bahwa penelitian ini dinyatakan memiliki kelaikan etik pada tanggal 26 Desember 2018. Kelaikan etik ini berlaku selama satu tahun sejak tanggal terbit (surat kelaikan etik terlampir).