

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

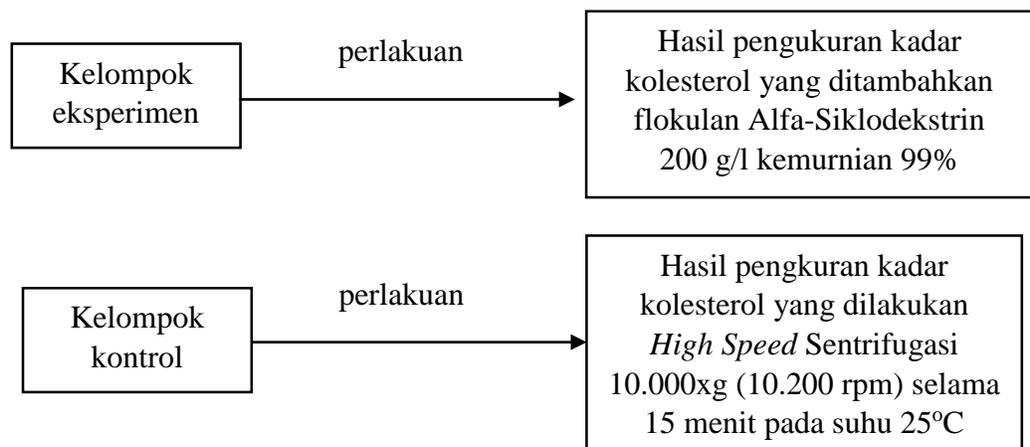
##### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan rancangan eksperimen murni karena hasil perlakuan pada kelompok eksperimen dibandingkan dengan kelompok kontrol. Desain ini peneliti dapat mengontrol semua variabel pengganggu seperti serum hemolisis dan serum ikterik yang dapat mempengaruhi jalannya eksperimen sehingga kualitas pelaksanaan rancangan penelitian dapat menjadi tinggi. Dalam penelitian ini serum lipemik yang digunakan adalah serum dengan tingkatan lipemik ringan, sedang dan berat yang dilihat secara visual.

Sampel yang digunakan untuk kelompok eksperimen yaitu serum lipemik yang diolah dengan flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dan sebagai kelompok kontrol yaitu sampel lipemik yang diolah dengan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C.

Desain penelitian ini menggunakan rancangan *Posttest Only Control Group Design*. Desain ini tidak dilakukan *pretest* karena peneliti hanya ingin membandingkan perlakuan kadar kolesterol pada serum lipemik yang ditambah flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dengan kontrol *High Speed* Sentrifugasi kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C. Serum lipemik digunakan sebagai objek penelitian apabila telah

memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Dalam satu bulan kurang lebih ada 20 sampel serum lipemik di Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito 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. Cara penentuan jumlah sampel tersebut selaras dengan persyaratan jumlah sampel analisis *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC) yang menggunakan kekuatan 80% dan nilai  $\alpha = 0,05$  yaitu sama – sama menggunakan 20 sampel.

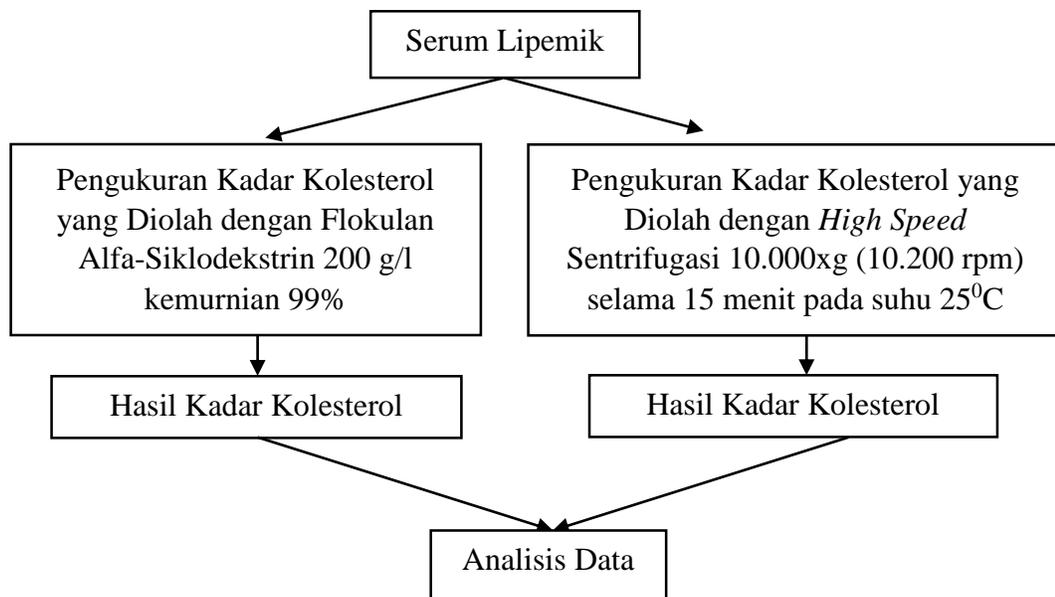


Gambar 6. Desain Penelitian  
Sumber : Notoatmodjo, 2010

Penelitian ini terdapat dua kelompok penelitian yaitu kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Pada kelompok eksperimen, serum lipemik diberi perlakuan dengan cara menambahkan flokulan Alfa-Siklodekstrin 200

g/l kemurnian 99% dengan perbandingan 2 : 1 yaitu 2 bagian serum lipemik (500 $\mu$ l) dan 1 bagian Alfa-Siklodektrin 200 g/l kemurnian 99% (250 $\mu$ l), diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang (25°C) kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah selesai disentrifugasi akan diperoleh serum yang lebih jernih dari sebelumnya. Serum yang telah jernih tersebut kemudian dilakukan pengukuran kadar kolesterol. Pada kelompok kontrol, serum dilakukan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C kemudian serum yang telah jernih dilakukan pengukuran kadar kolesterol.

## B. Alur Percobaan



Gambar 7. Alur Percobaan

### C. Subjek dan Objek

#### 1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah serum pasien di Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito.

#### 2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah sisa serum lipemik. Berdasarkan persyaratan jumlah sampel analisis *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC) dalam penelitian Bujang dan Baharum (2017), jumlah sampel ditetapkan sejumlah 20 dengan kekuatan keyakinan yang telah ditetapkan sebesar 80% dan nilai  $\alpha = 0,05$ . Serum lipemik berasal dari pasien di Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito yang dikumpulkan selama satu bulan.

Tabel 3. Interpretasi Koefisien Korelasi ICC

Koefisien Korelasi ICC	Derajat Kesesuaian
<0,50	Buruk
0,50 – 0,75	Sedang
0,75 – 0,90	Baik
>0,90	Sangat baik

Sumber : Koo dan Li, 2016.

#### a. Kriteria inklusi

- 1) Serum lipemik dengan tingkat kekeruhan 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 Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dan Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

#### **E. Variabel Penelitian**

##### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengolahan serum lipemik dengan flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C.

##### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol.

### 3. Variabel Pengganggu

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

## F. Definisi Operasional

### 1. Variabel Bebas

Pengolahan serum lipemik adalah suatu cara yang digunakan untuk menghilangkan lipemik pada serum. Pada penelitian ini pengolahan serum lipemik dilakukan dengan dua cara yaitu dengan flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C.

Satuan : -

Skala : nominal

### 2. Variabel Terikat

Kadar kolesterol adalah jumlah mg kolesterol per 100 ml serum dan dinyatakan dalam satuan miligram per desiliter. Dalam penelitian ini peneliti mengukur kadar kolesterol pada serum lipemik yang diolah dengan flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C.

Satuan : mg/dl

Skala : rasio

### 3. Variabel Pengganggu

#### 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 pelepasan haemoglobin sehingga serum berwarna merah muda sampai merah (Piyophiprapong, 2010).

#### b. Serum Ikterik

Serum ikterik adalah serum berwarna kuning yang diakibatkan oleh deposisi bilirubin (Benvie, 2011).

### 4. Cara Menentukan Tingkat Lipemik

Tabel 4. Penggolongan Tingkat Lipemik

Warna dan Kekeruhan	Tingkat Lipemik
Putih susu	Ringan
Putih susu dan keruh	Sedang
Putih susu dan sangat keruh	Berat

Sumber : Nikolac, 2014.

## G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

### 1. Jenis Data

Penelitian ini menggunakan data primer, yaitu data yang didapat dengan cara melakukan penelitian sendiri oleh peneliti yaitu dengan melakukan pengukuran kadar kolesterol.

## 2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik pengolahan spesimen menggunakan flokulan Alfa-Siklodekstrin dan *High Speed* Sentrifugasi serta pengukuran kadar kolesterol.

## H. Bahan dan Instrumen Penelitian

### 1. Bahan dan Reagen

#### a. Bahan

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

#### b. Reagen

- 1) Akuades
- 2) Alfa-Siklodekstrin *Sigma-Aldrich* kemurnian 99%
- 3) Reagen KIT Kolesterol

Tabel 5. Komposisi Reagen Kit Kolesterol

Good's buffer pH 6,7	50 mmol/L
Phenol	5 mmol/L
4-aminoantipyrine	0,3 mmol/L
Cholesterol esterase (CHE)	$\geq 200$ U/L
Cholesterol oxidase (CHO)	$\geq 50$ U/L
Peroxidase (POD)	$\geq 3$ kU/L
Standar kolesterol total 200 mg/dl	5,2 mmol/L

Sumber : Diasys, 2016.

## 2. Alat

- |                   |                                  |
|-------------------|----------------------------------|
| a. Mirkopipet     | i. Neraca analitik               |
| b. Tip biru       | j. Botol timbang                 |
| c. Tip kuning     | k. Tabung reaksi                 |
| d. Tube serum     | l. Batang pengaduk               |
| e. Spetrotometer  | m. Kuvet                         |
| f. Stopwatch      | n. <i>Cool4 box</i>              |
| g. Eppendorf tube | o. <i>Sentrifuge</i>             |
| h. Kompor pemanas | p. <i>VWR Micro Star 17 / 17</i> |

### I. Uji Validitas Instrumen

Quality Control (QC) alat *Automated Clinical Analyzer Respos 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.

## **J. Prosedur Penelitian**

1. Tahap Persiapan
  - a. Pengurusan perijinan penelitian dan permintaan pengambilan sampel serum lipemik
  - b. Pengadaan reagen kolesterol dan Alfa-Siklodekstrin
  - c. Menyiapkan formulir pencatatan

2. Tahap Pelaksanaan

- a. Pengumpulan serum lipemik

Serum lipemik dikumpulkan sebanyak 20 serum dengan tingkat kekeruhan ringan, sedang dan berat yang dilihat secara visual 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 Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan cara disimpan menggunakan *cool box* untuk menjaga kestabilan suhu pada serum agar tidak merusak komponen serum.

- b. Serum lipemik yang telah terkumpul dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama ditambah flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% digunakan sebagai kelompok eksperimen. Bagian kedua adalah serum lipemik yang diolah dengan *High Speed* Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C digunakan sebagai kelompok kontrol.
- c. Pembuatan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l
  - 1) Menimbang Alfa-Siklodekstrin kemurnian 99% dengan menggunakan neraca analitik mrc (Indonesia) sebanyak 1 gram.
  - 2) Menghangatkan air dalam wadah
  - 3) Melarutkan Alfa-Siklodekstrin kemurnian 99% yang sudah ditimbang dengan akuades sampai 5 ml.
  - 4) Alfa-Siklodekstrin kemurnian 99% dilarutkan dalam kondisi hangat. Botol timbang diletakkan dalam wadah berisi air hangat saat melarutkan.
  - 5) Didapatkan larutan Alfa-Siklodekstrin kemurnian 99% dengan konsentrasi 200 g/l.

- d. Perlakuan Serum Lipemik dengan Flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99%
- 1) Penggolongan tingkat kekeruhan serum lipemik secara visual
  - 2) Bahan pemeriksaan ditambah flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dengan perbandingan 2 : 1 yaitu 2 bagian serum lipemik (500 $\mu$ l) dan 1 bagian flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% (250 $\mu$ l) kemudian dicampur.
  - 3) Bahan pemeriksaan diinkubasi selama 5 menit di suhu ruang yaitu 25°C.
  - 4) Memusingkan campuran serum dan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
  - 5) Supernatan diambil dengan hati-hati dan dimasukkan ke dalam cup serum.
- e. Perlakuan Serum Lipemik dengan *High Speed* Sentrifugasi dengan Kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C
- 1) Melakukan persiapan alat *High Speed* Sentrifugasi VWR *Micro Star 17/17R* (Belgia) 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 dengan kecepatan 10.000xg (10.200 rpm) selama 15 menit pada suhu 25°C

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

Pengiriman sampel yang sudah siap diperiksa dari 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.

- f. Tahap Pemeriksaan Kadar Kolesterol menggunakan *Automated Clinical Analyzer Respons 920* (Swedia)
  - 1) Menyalakan alat *Automated Clinical Analyzer Respons 920* dengan menyalakan main power ke saklar power
  - 2) Memasukkan reagen pada "*Reagen Tray*" sesuai dengan posisinya
  - 3) Mengklik tombol "*ML Respons 920*" kemudian memasukkan ID dan password, ditunggu 8 menit kemudian diklik "*OK*"
  - 4) Memasukkan sampel ID dan nama pasien
  - 5) Memilih parameter pemeriksaan kolesterol, kemudian mengklik "*Save*"
  - 6) Meletakkan sampel pada "*Sample Tray*" sesuai posisinya
  - 7) Mengklik "*GO*" kemudian lampu akan berwarna hijau
  - 8) Mengklik "*Pre-run Check*" lalu mengklik "*OK*"

## K. Manajemen Data

### 1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh merupakan data hasil pemeriksaan kadar kolesterol pada serum lipemik yang diolah dengan flokulan Alfa-Siklodekstrin 200 g/l kemurnian 99% dan *High Speed* Sentrifugasi. Analisis deskriptif penyebaran datanya melalui perhitungan selisih kadar, rata – rata, nilai tertinggi, nilai terendah kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan diagram batang dalam satuan mg/dl lalu dilakukan analisis *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC).

### 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.

Cara Analisis ICC menurut Machin, Michael dan Stephen, 2007:

$$S^2_{\text{within}} = \sum_{i=1}^n (X_{i1} - X_{i2})^2 / 2n$$

$$\text{Varian} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$$S^2_{\text{between}} = \text{varian} - S^2_{\text{within}}/2$$

$$\text{ICC} = S^2_{\text{between}} / (S^2_{\text{within}} + S^2_{\text{between}})$$

**L. Etika Penelitian**

Penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Berdasarkan persetujuan Komisi Etik Nomor LB.01.01/KE-01/XLV/923/2018, Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Poltekkes Kemenkes Yogyakarta menyatakan bahwa penelitian ini dinyatakan memiliki kelaikan etik pada tanggal 26 Desember 2019. Kelaikan etik ini berlaku selama satu tahun sejak tanggal terbit (surat kelaikan etik terlampir).