

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasional dengan melakukan pengamatan secara langsung untuk memperoleh data yang dibutuhkan. Observasi dilakukan dengan mengamati kegiatan yang berhubungan antara faktor risiko (variabel bebas) dan penyakit (variabel terikat) (Surahman, Rachmat, and Supardi 2016).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah *Cross-sectional* karena pengukuran variabel terikat pada penelitian ini dilakukan satu kali dengan tidak memberikan perlakuan pada objek penelitian dimana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan variasi volume darah pada tabung *vacutainer* antikoagulan K₂EDTA terhadap nilai indeks eritrosit.

Menurut (Dahlan 2013) jumlah sampel pada penelitian ini dihitung menggunakan rumus analitik numerik berpasangan.

Perhitungan besar sampel Menurut (Dahlan 2013) menggunakan rumus analitik numerik berpasangan sebagai berikut :

$$n_1 = n_2 = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{x_1 - x_2} \right]^2 \text{ (Dahlan 2013)}$$

Keterangan :

n = jumlah sampel

α = 10% (kesalahan tipe I)

$Z\alpha$ = 1,64 (deviat baku alfa)

β = 10% (kesalahan tipe II)

$Z\beta$ = 1,28 (deviat baku beta)

S = simpang baku gabungan, dari penelitian sebelumnya

$X_1 - X_2$ = selisih minimal rerata yang dianggap bermakna, ditetapkan peneliti. Besaran $X_1 - X_2$ dapat dihitung dengan cara:

$$X_1 - X_2 = TEa \times TV$$

TEa = Total Error allowable (kesalahan total yang diperbolehkan atau diinginkan) (Wesgard 2022).

TV = Target Value (Nilai Target)

a. Parameter MCV

Data penelitian sebelum yang diperoleh adalah sebagai berikut:

$$S_1 = 8,74 \text{ (Gupta et al. 2014)}$$

$$n_1 = 100 \text{ (Gupta et al. 2014)}$$

$$S_2 = 9,94 \text{ (Dayalan et al. 2020)}$$

$$n_2 = 100 \text{ (Dayalan et al. 2020)}$$

$$X_1 - X_2 = TEa \times TV = 10\% \times 93,7 = 9,37$$

Perhitungan simpangan baku gabungan:

$$(Sg)_2 = \frac{S_1^2(n_1-1) + S_2^2(n_2-1)}{n_1 + n_2 - 2} \text{ (Dahlan 2013)}$$

$$(Sg)_2 = \frac{8,74^2(100-1) + 9,94^2(100-1)}{100+100-2}$$

$$(Sg)_2 = \frac{76,39(99)+98,80(99)}{198}$$

$$Sg = \sqrt{87,60}$$

$$Sg = 9,36$$

Perhitungan besar sampel minimal adalah sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{X_1 - X_2} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1,64 + 1,28)9,36}{9,37} \right]^2$$

$$n = 8,50 \approx 9$$

Berdasarkan perhitungan data parameter MCV, jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok yaitu 9 sampel.

b. Parameter MCH

Data penelitian sebelum yang diperoleh adalah sebagai berikut:

$$S_1 = 3,24 \text{ (Gupta et al. 2014)}$$

$$n_1 = 100 \text{ (Gupta et al. 2014)}$$

$$S_2 = 3,88 \text{ (Dayalan et al. 2020)}$$

$$n_2 = 100 \text{ (Dayalan et al. 2020)}$$

$$X_1 - X_2 = TEa \times TV = 9\% \times 30,8 = 2,772$$

Perhitungan simpangan baku gabungan:

$$(Sg)_2 = \frac{S_1^2(n_1-1) + S_2^2(n_2-1)}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$(Sg)_2 = \frac{3,24^2(100-1) + 3,88^2(100-1)}{100+100-2}$$

$$(Sg)_2 = \frac{10,49(99) + 15,05(99)}{198}$$

$$Sg = \sqrt{12,77}$$

$$Sg = 3,57$$

Perhitungan besar sampel minimal adalah sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X_1 - X_2} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1,64 + 1,28)3,57}{2,77} \right]^2$$

$$n = 14,16 \approx 14$$

Berdasarkan perhitungan data parameter MCH, jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok yaitu 14 sampel.

c. Parameter MCHC

Data penelitian sebelum yang diperoleh adalah sebagai berikut:

$$S_1 = 0,74 \text{ (Gupta et al. 2014)}$$

$$n_1 = 100 \text{ (Gupta et al. 2014)}$$

$$S_2 = 1,6 \text{ (Dayalan et al. 2020)}$$

$$n_2 = 100 \text{ (Dayalan et al. 2020)}$$

$$X_1 - X_2 = 7\% \times 32,9 = 2,303$$

$$(Sg)_2 = \frac{S_1^2(n_1 - 1) + S_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$(Sg)_2 = \frac{0,74^2(100 - 1) + 1,6^2(100 - 1)}{100 + 100 - 2}$$

$$(Sg)_2 = \frac{0,55(99) + 2,56(99)}{198}$$

$$Sg = \sqrt{1,55}$$

$$Sg = 1,24$$

Perhitungan besar sampel minimal adalah sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X_1 - X_2} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1,64 + 1,28)1,24}{2,30} \right]^2$$

$$n = 2,47 \approx 2$$

Berdasarkan perhitungan data parameter MCHC, jumlah sampel minimal untuk masing - masing kelompok yaitu 2 sampel.

Berdasarkan perhitungan jumlah sampel terbanyak diperoleh dari hasil perhitungan sampel pada parameter MCH, jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok yaitu 14 sampel, yaitu 3 mL pada tabung ke 1, 2 mL pada tabung ke 2, 1 mL pada tabung ke 3 menggunakan tabung *vacutainer* K₂EDTA. Sehingga pengambilan data diperoleh adalah 14 responden kemudian dari 14 sampel tersebut dibagi dalam 3 kelompok yaitu sebanyak 42 sampel.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah petugas laboratorium RSUD Siti Fatimah Provinsi Sumatera Selatan yang berjumlah 14 responden.

2. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini menggunakan darah vena yang diambil dari petugas labratorium RSUD Siti Fatimah Provinsi Sumatera Selatan dengan

menggunakan teknik *purposive sampling*, peneliti membagikan kuesioner kepada anggota populasi kemudian dipilih yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

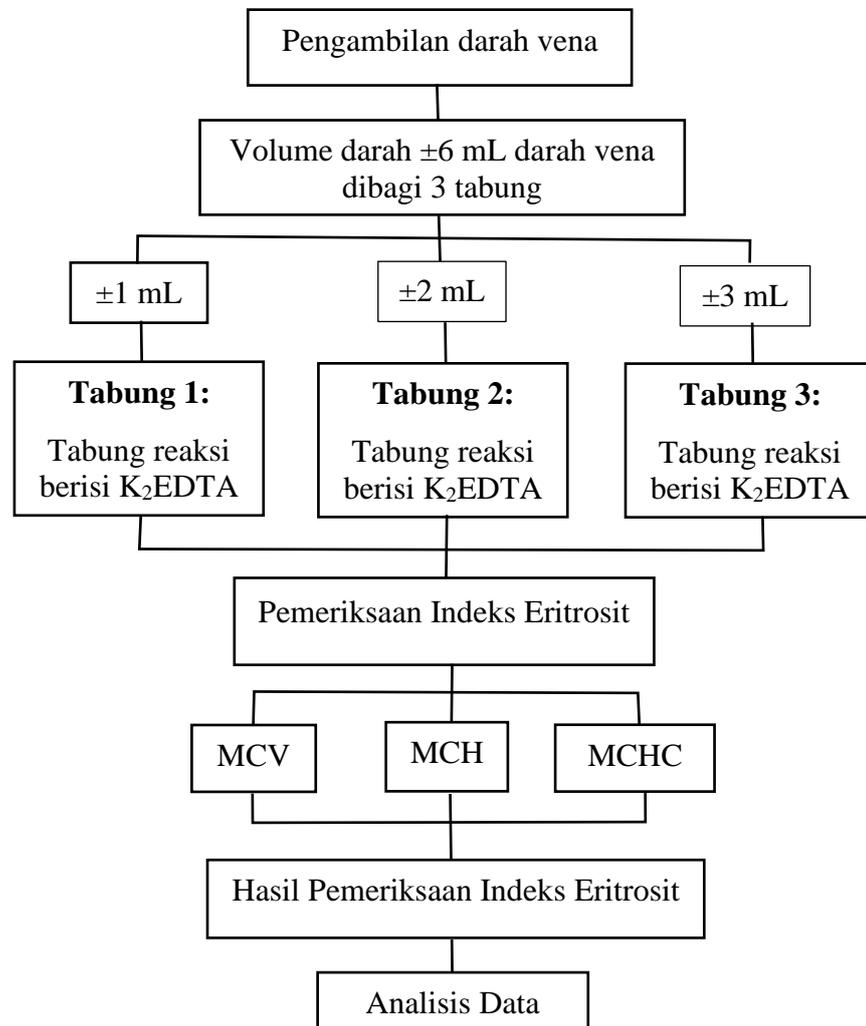
a) Kriteria inklusi:

- 1) Responden bersedia berpartisipasi dalam penelitian
- 2) Usia 18-44 tahun (Alan.H.B 1991)

b) Kriteria eksklusi:

- 1) Responden yang mengundurkan diri pada saat penelitian
- 2) Volume sampel darah kurang dari 6 mL
- 3) Sampel hemolisis, ikterik, lipemik
- 4) Sampel mengalami pembekuan
- 5) Riwayat penyakit Anemia, pengonsumsian obat yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan nilai MCV, MCH dan MCHC.

C. Rancangan Percobaan



Gambar 6 Rancangan Percobaan

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan November tahun 2022.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorim RSUD Siti Fatimah Provinsi Sumatera Selatan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi volume darah pada tabung *vacutainer* antikoagulan K₂EDTA

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai indeks eritrosit MCV, MCH, dan MCHC.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah Riwayat Penyakit, Konsumsi Obat.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 5 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Variasi volume darah dalam tabung <i>vacutainer</i> K ₂ EDTA	Variasi volume darah yang dimasukkan kedalam tabung <i>vacutainer</i> K ₂ EDTA yaitu 1 mL, 2 mL, dan 3 ML	Manual	Sputit	mL	Nominal
2.	Nilai MCV	volume rata-rata eritrosit. Nilai MCV didapat dengan membagi hematokrit dengan jumlah eritrosit.	<i>Automatic</i>	<i>Hematology Analyzer</i> Sysmex XN-350	fL	Rasio

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
3.	Nilai MCH	mengukur banyaknya hemoglobin yang terdapat dalam satu eritrosit per milimeter kubik darah.	<i>Automatic</i>	<i>Hematology Analyzer</i>	pg	Rasio
4.	Nilai MCHC	dipakai sebagai indeks saturasi eritrosit dalam darah, yaitu dengan cara mengukur banyaknya hemoglobin dalam 100 eritrosit padat.	<i>Automatic</i>	<i>Hematology Analyzer</i> Sysmex XN-350	g/dL	Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini bersumber dari data primer.

Data primer adalah sumber data yang langsung memberikan data kepada pengumpul data yang diperoleh melalui pemeriksaan nilai indeks eritrosit.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data yang dikumpulkan langsung dari hasil penelitian berupa hasil pemeriksaan nilai indeks eritrosit dengan variasi volume darah 1 mL, 2 mL, 3 mL menggunakan tabung *vacutainer* K₂EDTA. Kemudian sampel diperiksa segera

tanpa penundaan dengan metode *automatic* menggunakan alat *Hematology Analyzer* Sysmex XN-350.

H. Alat Ukur/Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat Ukur/Instrumen

- a) *Hematology Analyzer* Sysmex XN-350
- b) Tabung *vacutainer* K₂EDTA
- c) Tourniquet
- d) Sduit 6 mL

2. Bahan Penelitian

- a) Darah vena
- b) Alkohol swab
- c) Cell Pack DCL
- d) Lysercell
- e) Sulfolizer

I. Uji Validitas dan Reliabilitas

Alat ukur yang digunakan adalah alat ukur berupa *hematology analyzer* Sysmex XN-350 yang berada di Laboratorium RSUD Siti Fatimah Provinsi Sumatera Selatan. Uji Validitas alat ditunjukkan dengan grafik kontrol pada bulan dimana pemeriksaan dilakukan. Darah kontrol diperiksa dengan metode *day in day* yaitu pemeriksaan darah kontrol dilakukan setiap hari sebelum alat digunakan untuk pemeriksaan sampel pasien, untuk Kalibrasi alat dilakukan setahun satu kali.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahapan Penelitian

- a) Mengajukan *ethical clearance* ke Komisi Etik (KPEK) Penelitian Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta
- b) Melakukan perizinan untuk melakukan penelitian di Laboratorium RSUD Siti Fatimah Provinsi Sumatera Selatan
- c) Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- d) Memberikan lembar kuisioner kepada kemudian dilakukan penilaian. Dari hasil penilaian diperoleh calon responden.
- e) Responden mengisi formulir data untuk mendapatkan informasi tentang kondisi tubuh, usia dan jenis kelamin
- f) Mempersiapkan formulir pencatatan
- g) Memberikan Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP) dan informed consent sebelum dilakukan pengambilan sampel darah. Seluruh data responden, dijamin kerahasiaannya oleh peneliti.

2. Tahap pengambilan darah vena

- a) Pasien diminta untuk duduk dengan posisi lengan pasien lurus dan telapak tangan menghadap keatas, siku tidak boleh dibengkokkan.
- b) Tourniquet dipasang kira-kira 3-4 jari diatas lipat siku dan meminta pasien untuk mengepalkan tangannya
- c) Lakukan palpasi atau perabaan untuk memastikan posisi vena

- d) Kulit yang akan diambil darahnya didesinfektan dengan alkohol swab dan dibiarkan kering untuk mencegah terjadinya hemolisis. Kulit yang sudah dibersihkan tidak boleh dipegang lagi
 - e) Posisikan spuit dengan bevel atau lubang jarum menghadap ke atas. Lakukan pungsi vena dengan menusukkan jarum kedalam lumen vena. Jika jarum telah masuk ke dalam lumen vena, akan terlihat darah masuk ke dalam semprit (flash).
 - f) Tarik perlahan-lahan darah vena kedalam spuit
 - g) Lepaskan tourniquet dan teruskan penarikan darah vena ke dalam spuit sampai batas volume yang diperlukan
 - h) Letakkan kapas yang bersih dan kering diatas tempat penusukan lalu tarik jarum dari tusukan
 - i) Tekan kapas dan pasang plester diatas kapas
 - j) Pindahkan darah ke masing-masing tabung vacutainer K₂EDTA pada tabung 1 diisi dengan 1 mL darah, tabung 2 diisi dengan 2 mL darah, dan tabung 3 diisi dengan 3 mL darah.
 - k) Segera homogenkan darah dengan antikoagulan dengan cara membolak-balikkan tabung sebanyak 8-10 kali secara perlahan
3. Tahap pemeriksaan nilai indeks eritrosit metode otomatis (*Hematology Analyzer Sysmex XN-350*)
- a) Nyalakan alat *Hematology Analyzer* dengan menekan *Power Button* yang terletak di bagian depan alat. Tombol berubah menjadi merah

dan layar akan ditampilkan setelah sekitar 30 detik. Lampu akan menyala hijau ketika alat sudah siap

- b) Pada layar monitor, pilih bagian Operator ID dan masukkan Operator ID Anda dan password, kemudian klik enter
- c) Pada bagian Main Menu, tekan manual pada layar
- d) Memasukkan ID Spesimen dan Tes (CBC + DIFF) dan verifikasi bahwa spesimen tersebut adalah *Whole Blood*. Kemudian tekan OK
- e) Homogenkan sampel darah dengan cara membolak-balikan tabung secara pelan-pelan kurang lebih 1-2 menit
- f) Buka tutup tabung dengan hati-hati dan letakkan di bawah *Probe*
- g) Pastikan ujung *Probe* menyentuh dasar tabung
- h) Tekan *aspirator probe* sambil menahan tabung di tempatnya selama aspirasi. Status LED berkedip hijau selama aspirasi yang menunjukkan bahwa aspirasi sampel sedang berlangsung
- i) Lepaskan tabung dari *Probe* ketika status LED menyala hijau secara permanen dan *Probe* telah ditarik masuk kembali. Sebuah pesan ditampilkan pada bagian bawah layar sebelah kiri yang menunjukkan bahwa ID Spesimen sedang dianalisis
- j) Tutup kembali tabung spesimen.
- k) Tunggu alat untuk memproses sampel dan menampilkan hasilnya. Status LED menyala hijau.
- l) Print hasil pemeriksaan.

K. Manajemen Data

Data hasil pemeriksaan MCV, MCH dan MCHC yang diperoleh, secara analisis deskriptif. Analisis deskriptif berupa penyebaran data melalui perhitungan rata-rata, kemudian dibuat diagram batang dengan satuan yang digunakan MCV dalam satuan pg, MCH dalam satuan fL dan MCHC dalam satuan g/dL berdasarkan ukuran dan warna eritrosit, setelah itu dilakukan analisis statistik *One Way ANOVA* Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala data rasio. Uji statistik menggunakan program SPSS 22.0. Analisis data dimana hasil penelitian ini merupakan data lebih dari dua sampel independen dengan skala data rasio, maka perlu uji normalitas data dengan melihat *sig Shapiro-Wilk*, apabila nilai $sig > 0,05$ maka data berdistribusi normal sehingga uji dilanjutkan dengan uji statistik parametrik menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan variasi volume darah 1 mL, 2 mL, 3 mL pada tabung *vacutainer* K₂EDTA terhadap hasil pemeriksaan indeks eritrosit, jika data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan uji statistik non-parametrik menggunakan *Kruskal-walis-H-Test*.

L. Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan ke Komite Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta berdasarkan persetujuan Komite Etik Peneliti Kesehatan (KPEK) Nomor e-KEPK/POLKESYO/0001/1/2023, menyatakan bahwa penelitian ini memiliki laik etik sesuai dengan tujuh standar WHO 2011, yaitu : 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko,

5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan *Privacy*, dan 7) Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP).

M. Kelemahan Penelitian

Kelemahan pada penelitian ini adalah penelitian menggunakan sampel responden yang tidak patologis atau orang sehat, hasil pemeriksaan indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) dalam rentang normal sehingga tidak melihat pengaruh penyakit dalam keadaan darah yang normal.