

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen semu (*quasi eksperimen*) yaitu eksperimen yang memiliki variabel-variabel yang tidak dapat atau sulit untuk dilakukan pengontrolan atau manipulasi, sehingga belum memiliki ciri-ciri rancangan eksperimen sebenarnya. Syarat pokok dalam penelitian eksperimen adalah adanya kontrol terhadap variabel penelitian, yakni dengan cara menerapkan perlakuan tertentu pada satu kelompok dan tidak menerapkan pada kelompok kontrol yang lain (Creswell, 2016).

Rancangan penelitian menggunakan *pre and post test with control*. Sebelum penyimpanan serum sapi yang diberi  $\text{NaN}_3$  1% dan serum kontrol komersial sebagai sebagai kontrol pembanding diperiksa kadar Asam Urat sebagai *pre test* (O). Serum sapi yang diberi  $\text{NaN}_3$  1% dan serum kontrol komersial disimpan pada suhu  $-20^\circ\text{C}$  selama 10 minggu sebagai perlakuan (X). Pada minggu ke 10 diperiksa kadar Asam Urat yang merupakan *post test*(O'). Rancangan penelitian ditunjukkan pada tabel 2.

Kelompok	Pre	Perlakuan	Post
Perlakuan	O	X	O'
Kontrol	O <sub>1</sub>		O <sub>1</sub> '

Tabel 3 : Rancangan Penelitian

Keterangan :

O = Kadar Asam Urat serum sapi sebelum penyimpanan pada kelompok perlakuan

O<sub>1</sub> = Kadar Asam Urat serum kontrol sebelum penyimpanan pada kelompok kontrol

X = Penyimpanan serum sapi yang diberi NaN<sub>3</sub> 1% dan serum kontrol komersial pada suhu -20° C selama 10 minggu

O' = Kadar Asam Urat serum sapi yang diberi NaN<sub>3</sub> 1% setelah penyimpanan selama 10 minggu pada suhu -20°C

O<sub>1</sub> = Kadar Asam Urat serum kontrol komersial setelah penyimpanan selama 10 minggu pada suhu -20°C.

## B. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini meliputi :

### a. Variabel bebas :

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu lama penyimpanan serum sapi yaitu 10 minggu yang diberi NaN<sub>3</sub> 1% pada suhu -20°C

Definisi operasional :

Lama penyimpanan adalah rentang waktu untuk menyimpan serum sapi setelah dibuat. Lama penyimpanan yang digunakan yaitu 10 minggu.

Suhu penyimpanan dalam lemari es adalah -20°C.

Satuan : hari

Skala : rasio

b. Variabel terikat :

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil pemeriksaan kadar Asam Urat

Definisi operasional :

Hasil Pemeriksaan Kadar Asam Urat adalah jumlah miligram Asam Urat per 100 ml serum yang diperiksa dengan metode fotometri dengan alat Spektrofotometer.

Satuan : mgr/dl

Skala : rasio

**C. Tempat dan waktu penelitian**

1. Tempat pengambilan darah sapi di pemotongan hewan desa Segoroyoso, kecamatan Imogiri, kabupaten Bantul.
2. Tempat pemrosesan darah sapi menjadi serum sapi di Laboratorium Imunologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
3. Tempat pemeriksaan kadar Asam Urat di Laboratorium Kimia Klinik Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.
4. Penelitian dilaksanakan dari bulan Agustus sampai dengan Oktober 2018.

**D. Obyek Penelitian**

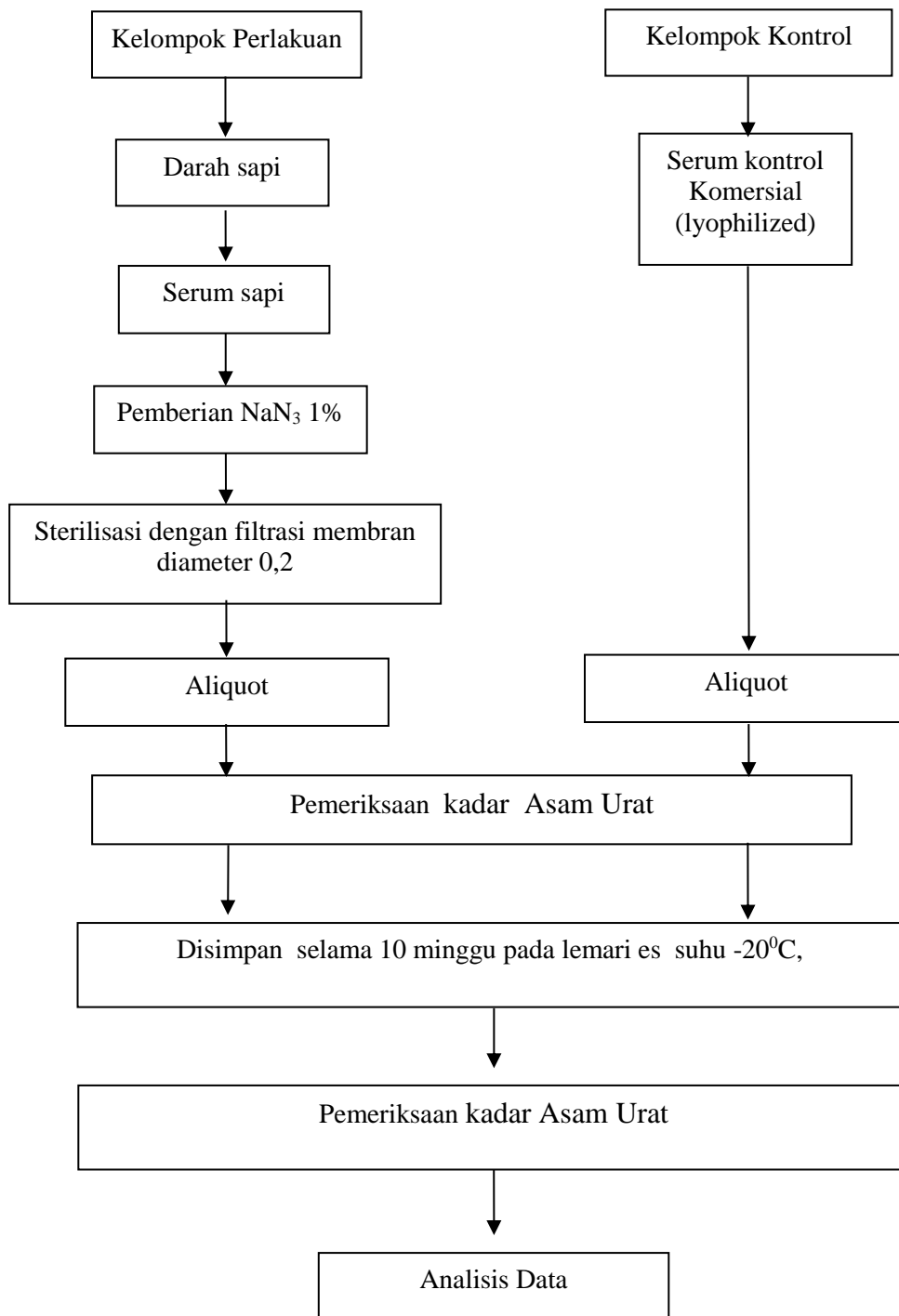
Obyek penelitian ini adalah darah sapi yang diambil dari rumah potong hewan di Segoroyoso, Imogiri, Bantul. Sapi yang akan diambil darahnya adalah sapi yang dinyatakan sehat oleh dokter hewan. Darah sapi yang keluar pada waktu disembelih dibiarkan mengalir beberapa saat. Setelah aliran

darah yang keluar dari pembuluh vena leher tidak kencang, ditampung dengan tabung sentifus steril 15 ml.

Kriteria sapi yang digunakan adalah jenis sapi dewasa yang digunakan untuk pemotongan daging, kondisi sapi sehat berdasarkan pemeriksaan dokter hewan pengawas kesavet dari UPT Rumah Potong Hewan Kabupaten Bantul, drh. Muji Slamet NIP 196211021989081002 pada tanggal 16 Agustus 2018. Darah sapi tersebut kemudian dibawa ke tempat penelitian, diproses menjadi serum, disterilisasi dengan minisart lalu diuji homogenitas dengan melakukan pemeriksaan terhadap 20 sampel terhadap parameter Asam Urat. Dan stabilitas kadar asam urat dilakukan dengan cara menyimpan sampel pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 10 minggu. Data untuk uji stabilitas adalah dengan melakukan pemeriksaan terhadap 6 sampel yang telah didiamkan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 10 minggu.

Kriteria serum sapi adalah jernih, tidak mengalami hemolisis, tidak lipemik dan tidak ikterik. Pengamatan kriteria serum sapi dilakukan secara manual dengan melihat menggunakan mata telanjang untuk menyaring sampel yang masuk dalam kriteria yang dimaksud. Sampel yang memenuhi kriteria dikelompokkan dalam tabung Erlenmeyer 250 sebanyak 100ml, ditambah dengan  $\text{NaN}_3$  kristal sebanyak 1 gram sehingga didapatkan konsentrasi 1%. Larutan dihomogenkan menggunakan rotator elektrik. Kemudian dibagi kedalam cup sampel masing-masing 1ml sebanyak 100 buah.

### E. Rancangan Percobaan



Gambar 6. Bagan Alur Penelitian

## **F. Teknik pengumpulan data**

Penelitian dengan judul “Uji Homogenitas dan Stabilitas Kadar Asam Urat Serum Sapi yang Disimpan Pada Suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ ” telah dilakukan pada tanggal 16 September 2018 – 24 November 2018 (selama 10 minggu). Penelitian ini menggunakan sisa darah sapi yang diambil dari rumah pemotongan hewan Desa Segoroyoso, Kecamatan Imogiri, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta.

### **1. Bahan**

Bahan-bahan yang diperlukan pada penelitian ini meliputi darah sapi, serum kontrol komersial, alkohol 70%,  $\text{NaN}_3$ , kit pemeriksaan Asam Urat.

### **2. Alat**

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian adalah tabung sentrifus falcon max 15 ml *polypropylene conical tube*, sentrifus, labu Erlenmeyer, spuit 10ml, vial 1 ml, penyaring bakteri filter membran  $0,2\ \mu$  Minisart, vortex mixer, lemari es, mikropipette/transferpette, tip kuning dan biru, autoclave, oven dan ozon sterilizer.

### **3. Prosedur kerja**

#### **a. Tahap persiapan**

- 1) Mengurus kaji etik pada Komisi Etik di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- 2) Mengurus izin pengambilan sisa darah sapi di tempat penyembelihan sapi, Segoroyoso, Pleret, Bantul.

- 3) Sterilisasi labu Erlenmeyer, tip micropipet dan alat lainnya.
  - 4) Pengadaan alat dan bahan habis pakai untuk penelitian
- b. Pembuatan serum sapi
- 1) Darah sapi yang keluar pada waktu disembelih dibiarkan mengalir beberapa saat. Setelah aliran darah yang keluar dari pembuluh vena leher tidak kencang, ditampung dengan tabung sentrifus steril 15 ml, ditutup. Jumlah tabung sentrifus adalah sebanyak 50 pcs, diikat dengan menggunakan tali dan digunakan untuk menampung sisa darah yang dimaksud.
  - 2) Didiamkan 30 menit supaya terjadi jendalan
  - 3) Disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
  - 4) Serum sapi dipisahkan dari jendalannya dengan menggunakan pipet.
  - 5) Serum sapi dikumpulkan dalam labu Erlenmeyer steril. Kondisi serum sapi harus jernih, tidak keruh, tidak hemolisis, tidak ikterik dan tidak lipemik.
  - 6) Diukur volumenya, ditambah serbuk  $\text{NaN}_3$ , sehingga konsentrasi akhir  $\text{NaN}_3$  menjadi 1%. Serum dihomogenkan dengan rotator magnetik. Pemberian  $\text{NaN}_3$  adalah hingga mempunyai konsentrasi akhir dalam serum sebanyak 1% b/v sehingga untuk setiap 100 ml serum ditambahkan serbuk  $\text{NaN}_3$  sebanyak 1 gram.
  - 7) Serum disaring menggunakan penyaring minisart dan langsung didistribusikan kedalam vial masing-masing 1ml.

8) Disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  (Depkes, 2004).

c. Sterilisasi serum sapi dan pembuatan aliquot

Sterilisasi serum sapi dilakukan dengan filtrasi menggunakan penyaring membran  $0,2\ \mu$  Minisart, dilakukan sebagai berikut :

- 1) Serum sapi yang sudah terkumpul dalam labu Erlenmeyer, dihisap dengan spuit 10 ml.
- 2) Dipasangkan penyaring membran  $0,2\ \mu$  Minisart pada ujung spuit
- 3) Spuit ditekan perlahan, filtrat ditampung dalam vial 1 ml, kemudian ditutup.

d. Penyimpanan

Serum sapi yang telah disterilisasi dan dibagikan (*aliquot*) kedalam vial dengan volume 1 ml, disimpan dalam *freezer* almari es pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Penyimpanan serum sapi selama 10 minggu.

Menurut Jamtsho (2012) dan Wood (1998), penyimpanan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  dapat direkomendasikan untuk serum kontrol dan dijaga jangan sampai terjadi beku ulang. Stabilitas serum kontrol yang disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  relatif lebih baik dibandingkan dengan serum kontrol yang disimpan dalam lemari pendingin (Soehartini, 2005).

e. Pemeriksaan kadar

1) Pendahuluan

Asam urat adalah produk metabolisme akhir dari senyawa purin, pembentukannya didalam darah tergantung dari jumlah konsumsi makanan yang banyak mengandung purin. Pada awalnya



metabolisme DNA dan RNA secara terus menerus akan menghasilkan Adenosin dan Guanosin dalam jumlah yang banyak. Kedua bahan tersebut akan dimetabolisme menjadi hipoksantin dan santin, kemudian dengan keberadaan enzim Santin Oksidase akan diubah menjadi Asam Urat. Secara alami asam urat yang terbentuk akan dikeluarkan oleh ginjal Bersama dengan urin. Tetapi apabila jumlah dalam darah terlalu banyak, akan menumpuk dalam sendi dan mengalami pengkristalan yang disebut Gout.

Secara normal Asam urat didalam darah merupakan anti oksidan, tetapi dalam jumlah banyak akan berubah menjadi prooksidan (Mc Crudden Francis H, 2000). Kadar asam urat dalam darah dapat diketahui melalui hasil pemeriksaan darah. Nilai rujukan asam urat normal pada laki-laki adalah 3.4-7.0 mg/dl sedangkan pada perempuan 2.4-5.7 mg/dl. (Herliana, 2013).

## 2) Metode pemeriksaan.

Pemeriksaan kadar asam urat menggunakan metode enzimatik secara kolorimetrik dengan alat ukur automatic chemical analyser Respons 920 Dyasis spektrofotometer.

## 3) Prinsip pemeriksaan

Asam urat dioksidasi oleh uricase menjadi allantoin dengan  $H_2O_2$  dengan adanya peroksidase menghasilkan chromogen berwarna merah, yang diukur pada panjang gelombang 546nm yang sebanding dengan kadar asam dalam sampel. Pengambilan

sampel, pereaksi, inkubasi dan pembacaan intensitas warna dilakukan secara otomatis menggunakan alat Automatic Chemical Analyzer Respons 920 dari Dyasis.



Gambar 7. Alat Automatic Chemical Analyzer Respons 920

#### 4) Alat dan Bahan

Tabung reaksi, Mikropipet, Blue tip dan yellow tip, Tissue, Pereaksi Asam urat, cup sampel dan Automatic Chemical Analyzer.

#### 5) Cara Kerja

Dengan menggunakan alat Automatic Chemical Analyzer, dilakukan prosedur sebagai berikut :

##### a. Persiapan alat

- Nyalakan alat Respons 920 Dyasis
- Nyalakan printer
- Gunakan operator ID dan password untuk masuk kedalam system

- Cek ketersediaan reagen
- b. Kalibrasi dan Quality control
- Pilih menu “individual test” atau “stanby reagent pack QC” dari menu QC atau “stanby reagent pack QC” dari menu QC “Stand by Bottle”
  - Isi semua kalibrator dan kontrol kedalam disk atau rak sampel, buka masing-masing tutup vial.
  - Klik “start”
- c. Validasi hasil kalibrasi dan quality control
- Untuk validasi kalibrasi, tekan menu “calibration” kemudian klik “status”
  - Latar belakang merah mengindikasikan bahwa kalibrasi tidak berhasil, latar belakang putih berarti kalibrasi telah berhasil dilakukan.
  - Lakukan pengulangan apabila kalibrasi gagal hingga berhasil.
  - Untuk validasi QC dilakukan klik “QC” kemudian klik “Run Status”
- d. Pemeriksaan Sampel
- Lakukan pemrograman pemeriksaan Asam urat terhadap sampel yang diperiksa pada komputer/host.
  - Posisikan sampel pada rak sampel sesuai instruksi pemeriksaan.

- Klik “start” dan tunggu hingga pemeriksaan selesai.

e. Dokumentasi hasil

- Setelah pemeriksaan selesai, klik “work place” kemudian klik “data review”
- Pilih sampel mana yang hendak dilihat hasilnya, kemudian klik pada sampel tersebut pada bagian kiri data review
- Untuk mencetak hasil, klik “print” kemudian “work place” dan “result report” kemudian tekan “print” dan tunggu hingga hasil keluar pada kertas hasil.

6) Pendokumentasian Hasil Penelitian

Data yang didapatkan dari pemeriksaan Asam Urat pada serum sapi disusun pada masing-masing kategori yaitu sebelum dan sesudah penyimpanan  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 10 minggu.

### **G. Uji Validitas dan Reliabilitas**

Uji validitas ini dapat diketahui dengan melihat kesahihan alat ukur yang digunakan selama penelitian. Instrumen yang digunakan untuk pengukuran di Laboratorium Klinik Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta telah melalui kontrol kualitas yang dilakukan petugasnya setiap hari. Dan pemeriksaan terhadap pasien dilakukan setelah terjamin kualitas alat yang ditandai masuknya nilai kontrol harian pada alat yang dipakai.

Uji reliabilitas dilakukan dengan melakukan pemeriksaan yang sama terhadap sampel uji sebanyak 10 kali sesuai dengan persyaratan ISO 13528 terkait uji Profisiensi. Pemeriksaan penelitian dilakukan sebanyak 20 kali,

dengan asumsi telah melakukan pemeriksaan terhadap sampel sebanyak 10 kali dan dilakukan secara duplo sehingga diharapkan bisa menunjukkan reliabilitas instrument dengan menunjukkan tingkat konsistensi.

Untuk pengukur atau enumerator yang telah bekerja sesuai dengan bidangnya dan memenuhi standar pendidikan dan pelatihan yang disyaratkan, maka tidak perlu dilakukan pengujian presisi dan akurasi.

## **H. Manajemen Data**

### **1. Uji Homogenitas**

Data yang diperoleh diuji homogenitas menggunakan perhitungan yang ditetapkan oleh ISO 13528 tahun 2005.

### **2. Uji Stabilitas**

Data yang diperoleh diuji stabilitas menggunakan perhitungan yang ditetapkan oleh ISO 13528 tahun 2005.

## **I. Pertimbangan Ijin Penelitian dan Pertimbangan Etik**

Penelitian ini akan dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan memperoleh Surat Kelayakan Etik Penelitian.