

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis, Rancangan Penelitian dan Model

Jenis Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperiment semu (*Quasy Experimental*). Rancangan penelitian yang digunakan dengan cara *Pre and Post Test with control* dengan menggunakan kelompok pembanding (kontrol) (Notoadmojo, 2012).

Sebelum penyimpanan serum sapi yang diberi NaN_3 2% dan serum kontrol komersial sebagai kontrol pembanding diperiksa kadar Total Protein sebagai *pre test*. Serum sapi yang diberi NaN_3 2% dan serum kontrol komersial disimpan pada suhu -20°C selama 10 minggu. Pada minggu ke 10 diperiksa kadar total protein yang merupakan *post test*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 : Rancangan Penelitian

Kelompok	Pre	Perlakuan	Post
Perlakuan	O	X	O'
Kontrol	O ₁		O ₁ '

Keterangan :

- O = Kadar protein total serum sapi sebelum penyimpanan pada kelompok perlakuan
- O₁ = Kadar protein total serum kontrol sebelum penyimpanan pada kelompok control
- X = Penyimpanan serum sapi yang diberi NaN_3 2% dan serum kontrol komersial pada suhu -20°C selama 10 minggu
- O' = Kadar protein total serum sapi yang diberi NaN_3 2% setelah penyimpanan selama 10 minggu pada suhu -20°C
- O₁ = Kadar protein total serum kontrol komersial setelah penyimpanan selama 10 minggu pada suhu -20°C .

B. Perubahan yang diukur/diamati (variabel dan operasionalnya)

Variabel penelitian ini meliputi :

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama penyimpanan serum sapi yang diberi NaN_3 2% pada suhu -20°C

Definisi operasional

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

Penyimpanan dalam lemari es suhu -20°C .

Satuan : minggu

Skala : ordinal

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar total protein

Definisi operasional

Kadar total protein adalah jumlah gram total protein per 100 ml serum.

Satuan : gr/dl

Skala : rasio

c. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah :

- 1) Suhu *freezer* sebagai variabel pengganggu yang dapat dikendalikan dengan menggunakan termometer yang diletakkan dalam *freezer* pada suhu -20°C dengan toleransi suhu $\pm 2^\circ\text{C}$ dan dicek secara berkala agar suhunya tidak berubah-ubah.

- 2) Kualitas serum sapi sebagai variabel pengganggu yang dapat dikendalikan dengan memilih serum yang jernih serta memenuhi syarat serum yang tidak lisis, tidak ikterik serta tidak lipemik.
- 3) Penggunaan pengawet NaN_3 2% sebagai variabel pengganggu yang dapat dikendalikan dengan cara menstabilkan suhu penyimpanan serum pada tekanan normal dan disimpan pada suhu -20°C untuk memenuhi syarat serum agar tidak rusak.

C. Tempat dan waktu penelitian

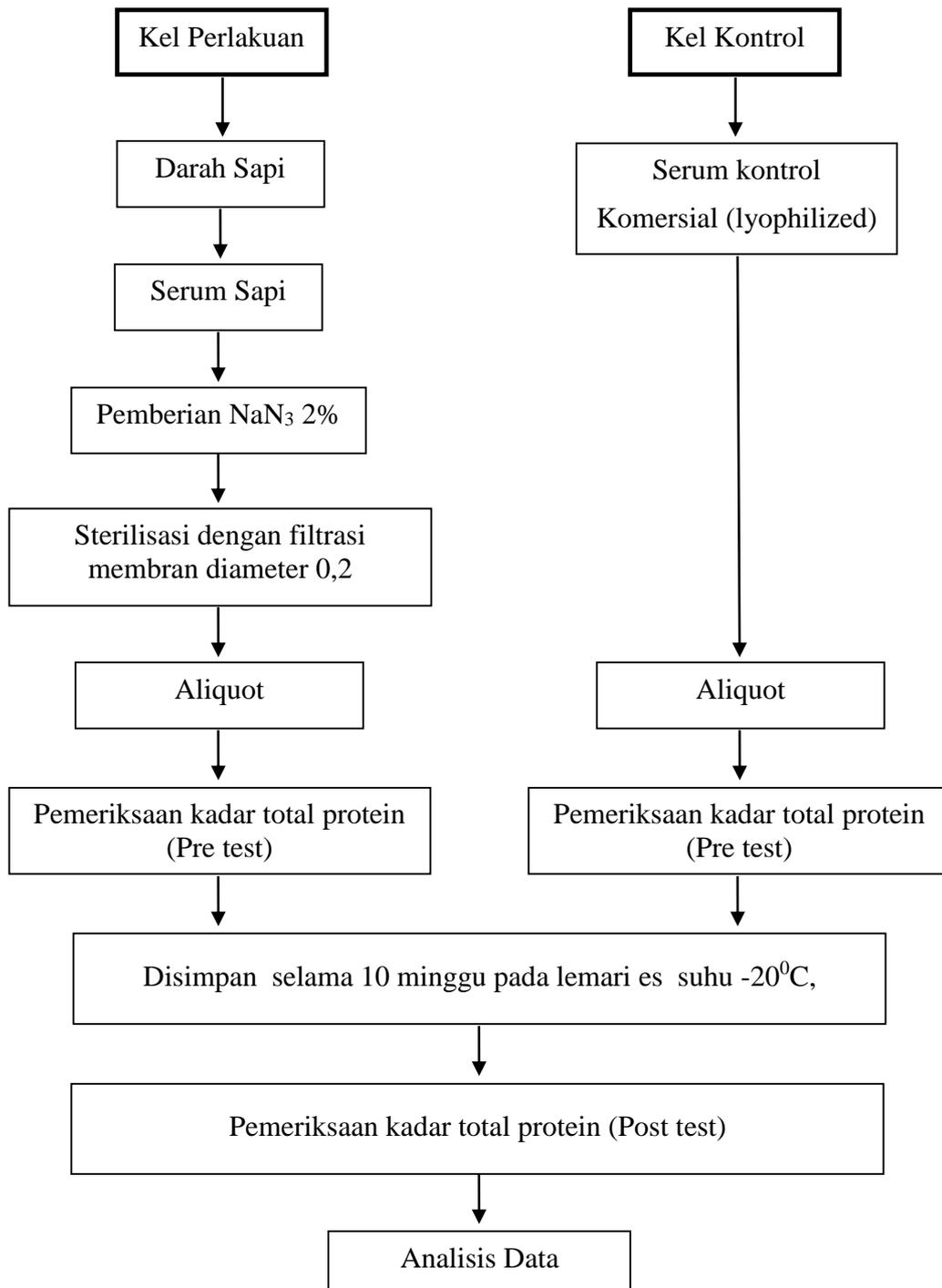
1. Tempat pengambilan darah sapi dilakukan dirumah pemotongan hewan di desa Segoroyoso, Kecamatan Imogiri, Kabupaten Bantul.
2. Tempat pemrosesan darah sapi mejadi serum sapi dilakukan di Laboratorium Imunologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.
3. Tempat pemeriksaan kadar total protein serum sapi dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.
4. Penelitian dilaksanakan dari bulan September sampai dengan Desember 2018.

D. Obyek Penelitian

Sisa 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 sentrifus steril 15 ml.

E. Bagan Alir penelitian



F. Teknik pengumpulan data

1. 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 μ Minisart, , vortex mixer, lemari es, mikropipette/transferpette, tip kuning dan biru, autoclave/oven.

2. Bahan.

Bahan-bahan yang diperlukan pada penelitian ini meliputi darah sapi, serum kontrol komersial, alkohol 70%, NaN_3 2%, aquabides, kit pemeriksaan protein total.

3. Prosedur kerja.

a. Tahap persiapan

- 1) Kaji etik pada Komisi Etik di Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta.
- 2) Ijin pengambilan sisa darah sapi dirumah penyembelian hewan, Segoroyoso, Pleret, Bantul.
- 3) Sterilisasi labu Erlenmeyer dan tip micropippet.
- 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 sentifus steril 15 ml, ditutup.

- 2) Tabung sentrifus diatas didiamkan selama 10 menit supaya terjadi jendalan.
 - 3) Tabung berisi darah 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 sebanyak 100 ml. Kondisi serum sapi harus jernih, tidak keruh, tidak hemolisis, tidak ikterik dan tidak lipemik.
 - 6) Serum yang berada didalam labu erlenmeyer diatas ditambah serbuk NaN_3 sebanyak 2 gr, sehingga konsentrasi akhir menjadi 2%
 - 7) Serum diatas disimpan pada suhu -20°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) Minisart penyaring membran $0,2 \mu$ dipasang pada ujung spuit.
- 3) Spuit ditekan perlahan, filtrat ditampung dalam vial 1 ml, ditutup.

d. Penyimpanan

Serum sapi yang telah disterilisasi dan dibagikan (*aliquot*) kedalam vial dengan volume 1 ml, disimpan dalam *freezer* almari es suhu -20°C . Penyimpanan serum sapi selama 10 minggu.

e. Pemeriksaan kadar Total Protein

1) Pendahuluan

Protein adalah suatu makromolekul yang tersusun atas molekul-molekul asam amino yang berhubungan satu dengan yang lain melalui suatu ikatan yang dinamakan ikatan peptida. Sejumlah besar asam amino dapat membentuk suatu senyawa protein yang memiliki banyak ikatan peptida, karena itu dinamakan polipeptida. Secara umum protein berfungsi dalam sistem komplemen, sumber nutrisi, bagian sistem buffer plasma, dan mempertahankan keseimbangan cairan intra dan ekstraseluler. Berbagai protein plasma terdapat sebagai antibodi, hormon, enzim, faktor koagulasi, dan transport substansi khusus.

Protein-protein kebanyakan disintesis di hati. Hepatosit-hepatosit mensintesis fibrinogen, albumin, dan 60 – 80% dari bermacam-macam protein yang memiliki ciri globulin. Globulin-globulin yang tersisa adalah imunoglobulin (antibodi) yang dibuat oleh sistem limforetikuler.

Penetapan kadar protein dalam serum biasanya mengukur protein total. Ada satu cara mudah untuk menetapkan kadar protein

total, yaitu berdasarkan pembiasan cahaya oleh protein yang larut dalam serum. Penetapan ini sebenarnya mengukur nitrogen karena protein berisi asam amino dan asam amino berisi nitrogen.

Total protein terdiri atas albumin (60%) dan globulin (40%). Bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan total protein adalah serum. Bila menggunakan bahan pemeriksaan plasma, kadar total protein akan menjadi lebih tinggi 3 – 5% karena pengaruh fibrinogen dalam plasma.

2) Prinsip

Prinsip penetapan kadar protein dalam serum adalah pengukuran serapan cahaya kompleks berwarna ungu dari protein yang bereaksi dengan pereaksi biuret dimana, yang membentuk kompleks adalah protein dengan ion Cu^{2+} yang terdapat dalam pereaksi biuret dalam suasana basa.

Intensitas cahaya yang semakin tinggi diserap oleh alat maka semakin tinggi pula kandungan protein yang terdapat di dalam serum tersebut.

Prinsip dari metode biuret ini adalah ikatan peptida dapat membentuk senyawa kompleks berwarna ungu dengan penambahan garam kupri dalam suasana basa.

3) Metode

Metode yang digunakan adalah metode biuret

4) Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah tabung reaksi Mikropipet, blue tip dan yellow tip, tissue, rak tabung/sampel, sarung tangan, *Automated Chemical Analyzer Diasys Respons 920*.

Bahan-bahan yang diperlukan pada penelitian ini meliputi serum sapi, serum kontrol komersial, kit pemeriksaan total protein.

5) Cara kerja

Cara kerja ini adalah untuk mengaktifkan alat *Automated Chemical Analyzer Diasys Respons 920* untuk pemeriksaan kimia darah. Dimana yang diukur alat ini salah satunya adalah pemeriksaan kadar total protein, cara pengoperasiannya sebagai berikut :

- a. Disiapkan alat dan bahan.
- b. Alat Respons 920 dinyalakan dengan cara “*Main Power*” ke saklar “*Power*”.
- c. Reagen dimasukkan pada “*Reagen Tray*” pada posisinya.
- d. Tombol “*ML Respon 920*” diklik kemudian dimasukkan ID dan password, ditunggu 8 menit kemudian di klik “*OK*”.
- e. Sampel ID dan nama pasien dimasukkan.
- f. Parameter pemeriksaan total protein dipilih, kemudian diklik “*Save*”.
- g. Sampel diletakkan pada “*Sampel Tray*” sesuai posisinya.
- h. Diklik “*Go*” kemudia lampu akan berwarna hijau.
- i. Diklik *Pre-Run Check*, kemudian diklik “*OK*”.

G. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan jumlah rerata (*mean*), nilai tertinggi (*max*), nilai terendah (*min*), standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (CV) kadar total protein serum sapi *pre test* dan *post test* selama 10 minggu. Data hasil pengukuran kadar total protein dalam satuan g/dL disajikan dalam bentuk tabel.

b. Uji Homogenitas dan Stabilitas

Data yang diperoleh diuji homogenitas dan stabilitas menggunakan perhitungan yang ditetapkan oleh ISO 13528:2005 yang dikeluarkan oleh International Organization for Standardization yang berpusat di Swiss.

H. Etika Penelitian.

Etika penelitian dalam penelitian ini membahas tentang bagaimana peneliti melakukan penelitian secara etik, tidak menyalahgunakan data atau informasi tersebut, tidak melakukan manipulasi data atau informasi dan menghargai hak-hak manusia atau binatang sebagai subyek yang digunakan dalam penelitian.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan memperoleh Pembebasan Persetujuan Etik (*Exempted*) Nomor LB.01.01/KE-01/XXXVI/776/2018 pada tanggal 09 Oktober 2018. Pembebasan Persetujuan Etik (*Exempted*) menyatakan bahwa protokol

penelitian yang berjudul “Uji Homogenitas dan Stabilitas Serum Sapi dengan Penggunaan Pengawet NaN₃ 2% yang Disimpan pada Suhu -20°C sebagai Alternatif Serum Kontrol terhadap Kadar Total Protein” telah dapat dibebaskan dari keharusan memperoleh persetujuan etik (*Exempted*) untuk melaksanakan penelitian ini.