

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai yaitu untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas enzim AST (*Aspartate Aminotransferase*) menggunakan *Plasma Lithium Heparin Separator Tube* dengan *Vacutainer Lithium Heparin* pada pasien *post hemodialisa*, maka penelitian ini merupakan penelitian *pre experimental design* karena jenis ini belum merupakan eksperimen sungguhan. Masih terdapat variabel luar yang ikut berpengaruh terhadap terbentuknya variabel terikat (Sugiyono, 2012).

2. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *Static Group Comparison*. Desain ini memiliki kelompok kontrol atau pembanding. Kelompok eksperimen menerima perlakuan (X) yang diikuti dengan pengukuran kedua atau observasi (O₂). Hasil observasi ini kemudian dikontrol atau dibandingkan dengan hasil observasi pada kelompok kontrol, yang tidak menerima program atau intervensi (Notoadmodjo, 2010). Pada penelitian ini sebagai kelompok eksperimen plasma *lithium heparin* yang dibuat dengan

gel separator, sedangkan kelompok kontrol adalah plasma *lithium heparin* yang dibuat tanpa gel separator. Rancangan ini diilustrasikan pada Gambar 6.



Gambar 4. Desain Penelitian
Sumber : Notoadmodjo, 2010.

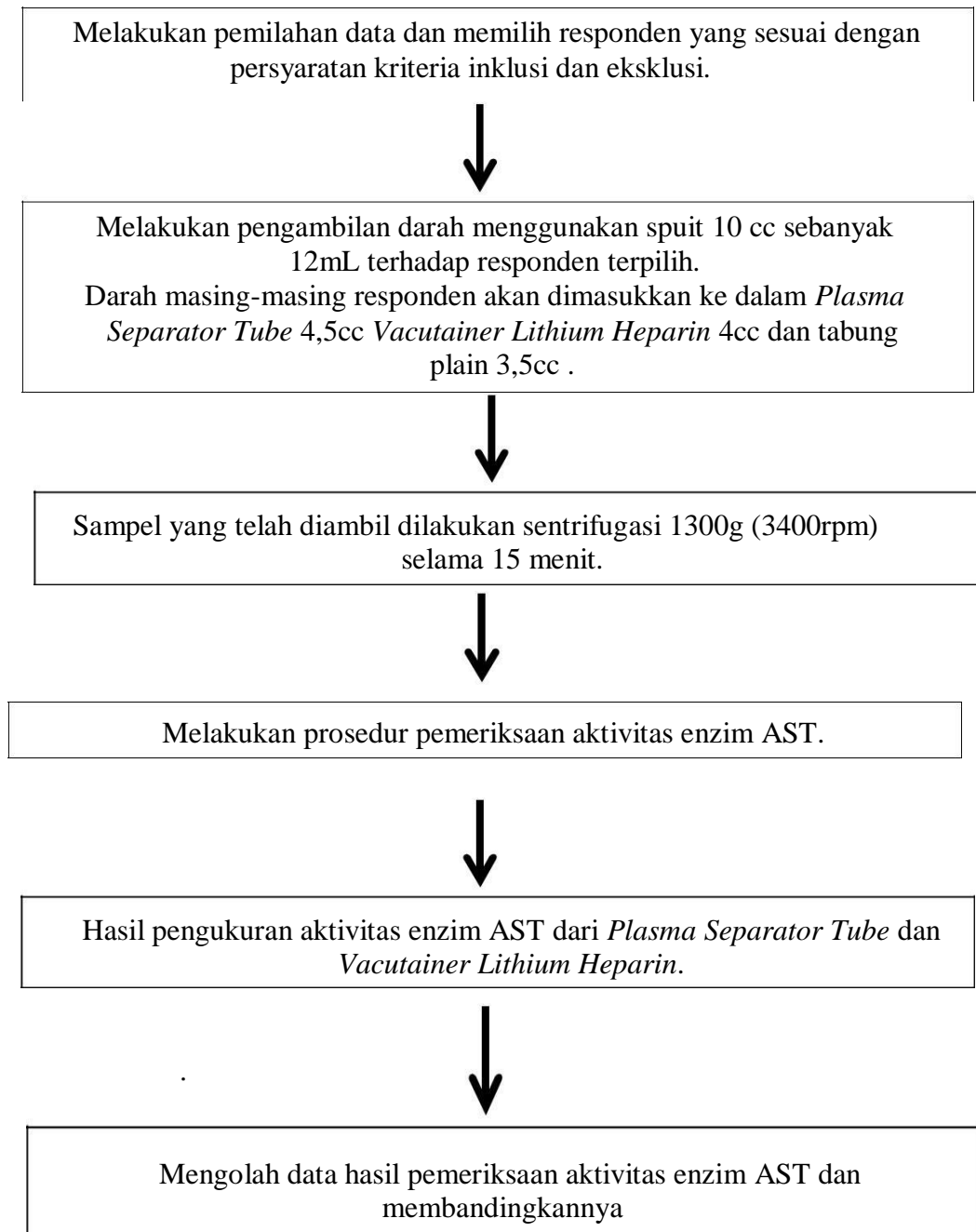
Keterangan :

X = Perlakuan (plasma dengan gel separator)

O1 = Aktivitas enzim AST dari *Plasma lithium heparin Separator Tube*.

O2 = Aktivitas enzim AST dari plasma *lithium heparin Vacutainer Tube*.

B. Alur Penelitian



Bagan 3. Alur Penelitian

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah pasien Unit Hemodialisa yang telah selesai melakukan perawatan cuci darah (*post* hemodialisa) di RSUD Sleman.

2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah bagian dari pasien bangsal hemodialisa yang telah selesai melakukan perawatan cuci darah (*post* hemodialisa) di RSUD Sleman.

Penghitungan sampel menggunakan rumus analitik *komparatif numerik* tidak berpasangan sebagai berikut :

$$n = 2 \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} \right]^2$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

α = 5% (Kesalahan tipe I)

$Z\alpha$ = 1,96 (Derivat baku α)

β = 5% (Kesalahan tipe II)

$Z\beta$ = 1,645 (Derivat baku β)

S = 0,528 (Simpangan baku gabungan, dari penelitian sebelumnya).

$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ = 0,691 (Selisih rerata dua kelompok, dari penelitian sebelumnya).

Perhitungan jumlah sampel minimal pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$n = 2 \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} \right]^2$$

$$n = 2 \left[\frac{(1,96 + 1,645) 0,528}{0,691} \right]^2$$

$$n = 2 [2,7546]^2$$

$$n = 2 [7,588]$$

$$n = 15,1758$$

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *consecutive sampling*. Pada *consecutive sampling*, semua responden yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah responden yang diperlukan terpenuhi. *Consecutive sampling* ini merupakan jenis *non probability sampling* yang paling baik dan merupakan cara termudah. Dengan menggunakan teknik tersebut, maka populasi memiliki kesempatan yang sama untuk dilakukan penelitian (Sastroasmoro dan Ismael, 2007).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian dari populasi, yaitu pasien Unit Hemodialisa yang telah selesai melakukan terapi hemodialisa (*post* hemodialisa) di RSUD Sleman, Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta. dengan kriteria inklusi sebagai berikut :

- a. Bersedia menjadi responden penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

- b. Semua pasien laki-laki dengan gagal ginjal kronik yang menjalani terapi hemodialisa di RSUD Sleman.
- c. Pasien Berumur 20 – 50 tahun.
- d. Dapat berkomunikasi dengan baik.
- e. Memiliki hasil laboratorium pemeriksaan hepatitis C (HCV) positif.

Sementara itu, kriteria eksklusi yang digunakan yaitu :

- a. Pasien yang tidak bersedia menjadi responden.
- b. Pasien yang tidak dapat berkomunikasi dengan baik
- c. Pasien yang mengalami perdarahan akut saat hemodialisa.
- d. Pasien dengan Leukemia/Limfoma Hodgkin maupun Non-Hodgkin/ *Multiple Myeloma*/SLE (Sistemik Lupus Eritematosus).
- e. Pasien dengan tanda-tanda peradangan seperti *kalor* (panas), *dolor* (nyeri), *rubor* (merah), *tumor* (bengkak) dan *fungtiolesia* (gangguan fungsi).

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan 9 November – 15 November 2018.

2. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Unit Hemodialisa RSUD Sleman sedangkan pemeriksaan aktivitas enzim AST (*Aspartat Aminotransferase*) dilakukan di Laboratorium RSUD Sleman.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang terdapat dalam penelitian ini yaitu :

- a. *Vacutainer Lithium heparin*
- b. *Plasma Separator Tube (PST)*

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim AST (*Alanine Aminotransferase*).

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu yang dapat dikendalikan dalam penelitian ini adaah sebagai berikut :

- a. Sampel hemolisis.
- b. Sampel ikterik.
- c. Sampel lipemik.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

a. *Vacutainer Lithium Heparin*

Merupakan tabung pengumpul sampel atau disebut tabung *vacutainer* yang mengandung antikoagulan litium heparin. Plasma yang dihasilkan adalah plasma litium heparin. Plasma didapatkan dari sampel darah yang dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer lithium heparin* dan segera disentrifugasi dengan 1300g (3400rpm) selama 10 menit.

b. *Plasma Separator Tube (PST)*

Merupakan tabung pengumpul sampel yang mengandung antikoagulan litium heparin dengan pemisah jel. Tabung ini disebut *plasma separator tube (PST)*. Plasma yang dihasilkan adalah plasma litium heparin. Plasma didapatkan dari sampel darah yang dimasukkan ke dalam tabung PST dan segera disentrifugasi dengan kecepatan 1300g (3400rpm) selama 10 menit.

Skala data : Nominal

2. Variabel Terikat

Aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase (AST)* adalah jumlah unit aktivitas enzim yang mengatalisis pemindahan reversibel satu gugus amino antara suatu asam amino dan suatu asam alfa-keto dalam 1 liter darah yang diukur dengan metode *Optimized UV-Test IFCC* dari sampel plasma heparin.

Skala data : Rasio

Satuan : U/L

3. Variabel Pengganggu

Merupakan variabel yang keadaannya dapat mempengaruhi variabel terikat diluar variabel bebas. Variabel pengganggu dalam penelitian ini dapat dikendalikan dengan cara tertentu.

a. Sampel Hemolisis

Merupakan sampel darah yang setelah disentrifugasi menghasilkan plasma berwarna kemerahan akibat pecahnya eritrosit

disertai keluarnya zat-zat yang terkandung di dalamnya. Sampel dikatakan hemolisis jika kadar hemoglobin bebas > 300 mg/dl. Pengendalian variabel ini adalah dengan memilih plasma yang jernih dan tidak hemolisis serta tidak termasuk kategori hemolisis ketika dibandingkan dengan sampel indeks.

b. Sampel Ikterik

Merupakan sampel darah yang setelah disentrifugasi menghasilkan cairan yang berwarna kuning coklat akibat adanya hiperbilirubinemia (peningkatan bilirubin dalam darah). Sampel dikatakan ikterik jika kadar bilirubin ≥ 9 mg/dl Pengendalian variabel ini adalah dengan memilih plasma yang jernih dan tidak ikterik serta tidak termasuk kategori ikterik ketika dibandingkan dengan sampel indeks.

c. Sampel Lipemik

Merupakan sampel darah yang setelah disentrifugasi menghasilkan cairan yang keruh, putih (seperti susu) karena hiperlipidemia (peningkatan kadar lemak dalam darah). Sampel dikatakan lipemik jika kekeruhan > 50 dari indeks lipemik Pengendalian variabel ini adalah dengan memilih plasma yang jernih dan tidak lipemik serta tidak termasuk kategori lipemik ketika dibandingkan dengan sampel indeks.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Jenis data dalam penelitian ini adalah data primer, karena diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya. Data ini merupakan data asli atau data baru yang bersifat *up to date*. Teknik yang digunakan peneliti untuk pengumpulan data dilakukan dengan melakukan observasi dan pengukuran aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase* pada Plasma *Lithium Heparin Separator Tube* dan *Vacutainer Lithium Heparin* pada pasien *post Hemodialisa*.

H. Instrumen dan Bahan

1. Instrumen

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat pengambilan darah yaitu *sputit 10cc*, *alcohol swab*, *handscoon latex*, *vacutainer tube Plasma Separator Tube* dan *Vacutainer Lithium Heparin*, sentrifuge, alat pemeriksaan *Aspartat Aminotransferase (AST)* adalah *Chemistry Autoanalyzer ILAB 650*, cup sampel, *transferpette*, *yellow tip* dan *blue tip*.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Plasma lithium heparin dari *Plasma Separator Tube* dan *Vacutainer Lithium Heparin*.
- b. Serum dari tabung plain

- c. Kit Reagen enzim *Aspartat Aminotransferase* (AST) untuk *Chemistry Autoanalyzer ILAB* sebagai berikut :

R1	:	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
		L-Aspartate	240 mmol/L
		MDH (Malate dehydrogenase)	≥ 600 U/L
		LDH (Lactate dehydrogenase)	≥ 600 U/L
R2	:	2-Oxoglutarate	12 mmol/L
		NADH	0,18 mmol/L

I. Uji Validitas dan Reabilitas

1. Untuk Instrumen

Uji validitas adalah uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat keandalan dan kesahihan alat ukur yang digunakan. Sedangkan uji reliabilitas berguna untuk menetapkan apakah instrumen yang digunakan mencirikan tingkat konsistensi dalam pengukuran.

Dalam penelitian ini, untuk memastikan validitas dan reliabilitas instrument yang digunakan, peneliti melakukan pengecekan terhadap hasil kontrol harian instrumen yang digunakan yaitu *Chemistry Autoanalyzer ILAB 650* dan hasil kalibrasi instrumen tersebut.

2. Untuk Pengukur/Enumerator

Pada penelitian ini, petugas pengambil sampel darah merupakan perawat hemodialisa di RSUD Sleman yang telah

bekerja sesuai dengan bidang kompetensi dan keahliannya. Sementara pengukur/enumerator yang melakukan pengukuran (pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase*) merupakan tenaga teknis ahli teknologi laboratorium medis yang juga telah bekerja sesuai bidang kompetensi dan keahliannya.

J. Prosedur Penelitian

1. Persiapan
 - a. Membuat pengajuan kajian etik (*Ethical Clearance*) ke Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
 - b. Membuat surat ijin mengadakan penelitian di Unit Hemodialisa dan Laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Sleman
 - c. Membuat lembar *informed consent* untuk pasien.
 - d. Melakukan penentuan subyek penelitian.
 - e. Melakukan koordinasi dengan dokter dan perawat yang bertugas di Unit Hemodialisa.
2. Pelaksanaan
 - a. Pasien diberikan *informed consent*.
 - b. Pengambilan sampel darah pasien dilakukan oleh perawat yang bertugas di Unit Hemodialisa.
 - c. Pengambilan sampel darah dilakukan segera sesudah siklus hemodialisis selesai.
 - d. Pengambilan sampel darah dilakukan pada *Arteri Blood Line* dengan menggunakan spuit 10 cc sebanyak 12 mL dan

ditampung ke dalam *vacutainer tube Plasma Separator Tube* sebanyak 4,5 cc, *Vacutainer Lithium Heparin* sebanyak 4,0 cc dan tabung plain 3,5cc.

- e. Sampel darah dikirim ke unit laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase*.

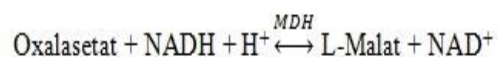
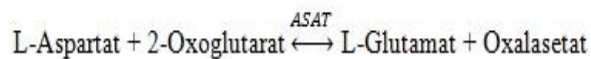
3. Pemeriksaan sampel

- a. Pembuatan plasma lithium heparin dan serum

Plasma dan serum diperoleh setelah proses sentrifugasi darah yang ada dalam *Plasma Separator Tube*, *Vacutainer Lithium Heparin* dan tabung plain. Setelah pengambilan darah selesai, darah segera dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1300g (3400rpm) selama 10 menit sehingga diperoleh plasma lithium heparin untuk dilakukan pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase*.

- b. Pengukuran aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase*

Metode : *Optimized UV-Test IFCC modification*



Prinsip :

Oxaloacetate yang dihasilkan sebanding dengan oksidasi dari NADH menjadi NAD. Reaksi tersebut menggambarkan aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase* dan diukur secara fotometrik.

c. Cara kerja pemeriksaan aktivitas enzim Aspartat Aminotransferase menggunakan Chemistry Autoanalyzer ILAB 650

- 1) Menghidupkan alat hingga ready digunakan
- 2) Melakukan *Quality Control* (QC)
- 3) Melakukan analisa sampel, sebagai berikut:
 - a) Data sampel dimasukkan dengan cara melalui control panel pilih "*Analysis*".
 - b) Pada kolom sampel ID masukkan nomor identitas pasien kemudian tentukan posisi cup sampel akan kita letakkan dengan mengisinya pada kolom "*Position*" setelah itu pilih test yang akan diperiksa atau memilih profil test yang sudah dibuat.
 - c) Kemudian tekan "*Reserve*" untuk menyimpan data yang telah dibuat. Kemudian lanjutkan dengan memasukkan data pasien selanjutnya. (apabila sampel yang kita input ingin dikerjakan bisa ditekan *Compile*).
 - d) Lalu dari layar utama kita klik "*Analysis*" pilih menu *Operation*.
 - e) Klik "*Sampel Analysis*" kemudian tekan star untuk memulai pemeriksaan.
 - f) Tunggu hasilnya hingga muncul di monitor. Hasil yang akan muncul adalah hasil pengukuran aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase*

K. Manajemen Data

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan sampel secara langsung. Data yang diperoleh berupa data primer yaitu data yang langsung memberikan informasi kepada pengumpul data (Sugiyono, 2012). Analisis data bertujuan membandingkan dua hal atau dua variabel untuk mengetahui selisihnya serta memperkirakan atau menentukan besarnya pengaruh secara kuantitatif dari perubahan suatu kejadian terhadap kejadian lain sebagai perubahan nilai variabel (Hasan, 2004).

Data yang terkumpul dalam penelitian ini berasal dari sampel yang dipilih secara random dan hasilnya diberlakukan untuk populasi, sehingga data yang diperoleh dianalisis secara statistik inferensial. Statistik inferensial atau statistik induktif atau statistik probabilitas dimana kesimpulan yang diberlakukan untuk populasi berdasarkan data sampel yang kebenarannya bersifat peluang, sehingga analisis statistik inferensial digunakan untuk menggeneralisasikan data sampel terhadap populasi (Sugiyono, 2012).

Data yang diperoleh berupa data hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase* pada sampel plasma lithium heparin dari *Plasma Separator Tube* dan *Vacutainer Lithium Heparin*. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan analisis statistik sebagai berikut:

1. Analisis deskriptif

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan jumlah dan rerata variabel terikat. Data disajikan dalam bentuk tabel dan kemudian dibuat grafik berbentuk batang.

2. Analisis statistik

Perbedaan aktivitas enzim *Aspartat Aminotransferase* pada plasma lithium heparin dengan penggunaan *Plasma Separator Tube* dan *Vacutainer Lithium Heparin* dapat diketahui dengan melakukan uji statistik. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala data rasio. Uji statistik menggunakan komputer dengan program *SPSS 16.0 for Windows*. Data tersebut diuji sebaran datanya dengan Uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov*, apabila nilai $\text{asymp. sig} \geq 0.05$ maka sebaran data normal sehingga uji dilanjutkan dengan uji statistika parametrik menggunakan Uji *Independent Samples T-test* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara dua kelompok variabel bebas.

L. Etika Penelitian

Etika penelitian dalam penelitian ini menyangkut bagaimana peneliti melakukan penelitian secara etik, tidak melakukan pengubahan data atau informasi (manipulasi data atau informasi), tidak menyalahgunakan data atau informasi tersebut, dan menghargai hak-hak manusia sebagai subyek penelitian.

Etika penelitian ini dilakukan dengan cara memberikan informasi mengenai penelitian yang dilakukan pada responden, membaca dan menyetujui *informed consent* dan mendapat kelayakan etika penelitian dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan nomor surat LB.01.01/KE-01/XXXIX/807/2018 pada tanggal 06 November 2018.