

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis desain pre-experimental karena tidak ada pengendalian variable dan randomisasi sampel dengan pendekatan *static group comparison*. Sekelompok subjek dikenai perlakuan tertentu (sebagai variable bebas) kemudian dilakukan pengukuran terhadap variable bebas (Rinaldi & Mujiyanto, 2017). Desain ini bertujuan untuk mengidentifikasi perbedaan hasil antara kelompok yang menerima perlakuan yaitu kelompok setengah resep volume (1250 μ l reagen dan 20 μ l sampel) dan kelompok yang tidak menerima perlakuan yaitu kelompok satu resep volume (625 μ l reagen dan 10 μ l sampel), meskipun tanpa pengukuran awal pada kelompok kontrol. Desain penelitian ini secara visual dapat digambarkan sebagai berikut:

Tabel 2. Desain Penelitian “Static Group Comparison”

Eksperimen	Post-test
X	O ₂
	O ₂ '

Sumber: (Sugiyono, 2013)

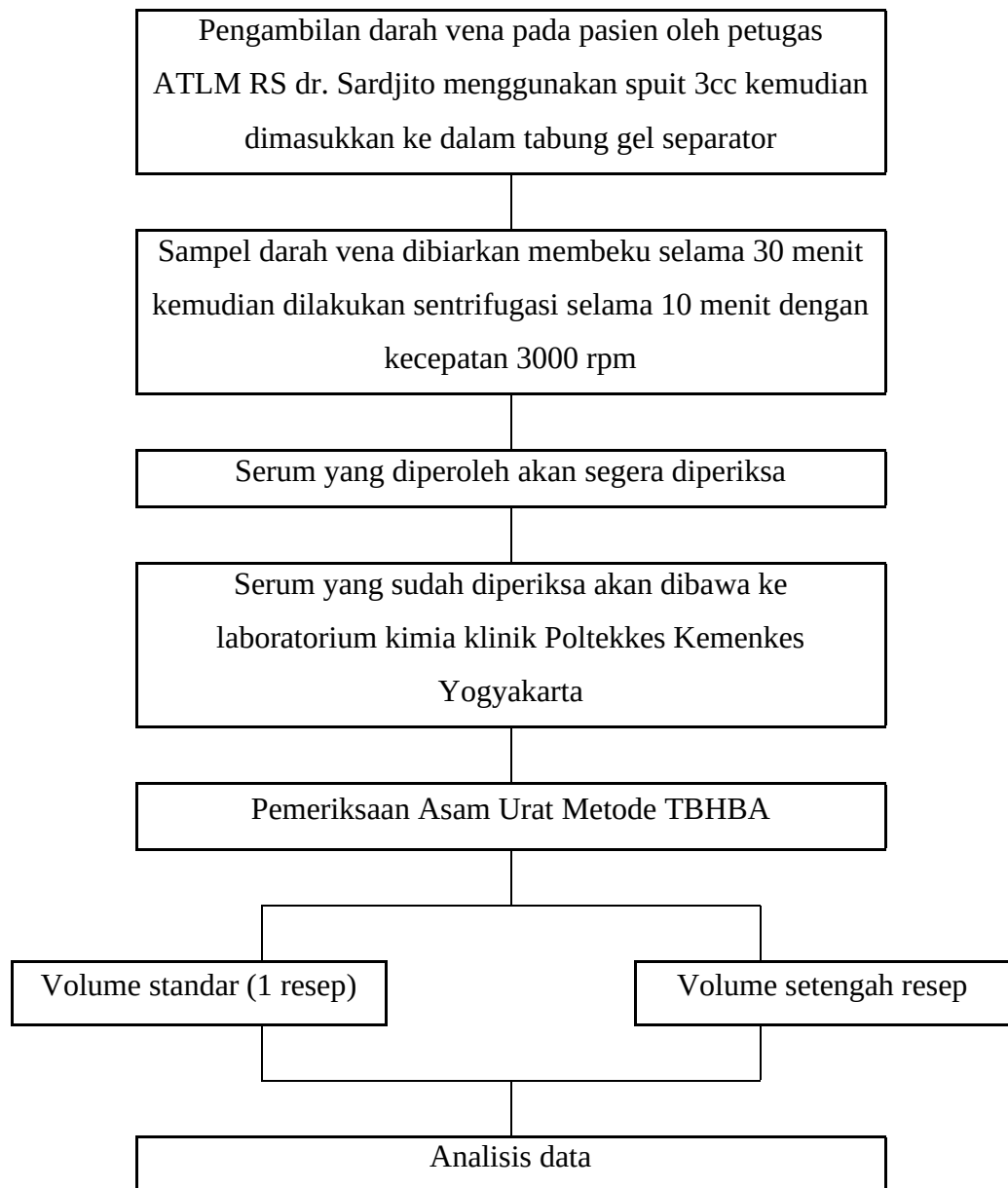
Keterangan:

X = perlakuan (perbedaan volume reagen dan sampel)

O₂ = hasil pengukuran kelompok yang diberi perlakuan setengah volume (625 μ l reagen dan 10 μ l sampel)

O_2' = hasil pengukuran kelompok yang diberi perlakuan satu volume (1250 μ l reagen dan 20 μ l sampel)

B. Rancangan Percobaan



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah serum pasien di Rumah Sakit dr. Sardjito pada rentang waktu 26 Februari-20 Maret 2025 yang sesuai kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

Kriteria inklusi adalah kriteria atau ciri-ciri yang perlu dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil sebagai sampel. Kriteria eksklusi adalah kriteria dari subyek penelitian yang tidak dapat diambil sampelnya, dan jika terdapat kriteria eksklusi maka subjek harus dikeluarkan dari penelitian (Notoatmodjo, 2010).

a. Kriteria Inklusi

- 1) Kadar asam urat pasien tidak normal (dibawah 2,6 mg/dL dan diatas 6,0 mg/dL pada perempuan serta dibawah 3,5 mg/dL dan diatas 7,2 mg/dL pada laki-laki)

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Serum ikterik
- 2) Serum lipemik
- 3) Serum hemolisis

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah serum pasien dengan kadar asam urat dibawah dan diatas nilai normal yaitu dibawah 2,6 mg/dL dan diatas 6,0 mg/dL pada perempuan serta dibawah 3,5 mg/dL dan diatas 7,2 mg/dL pada

laki-laki di Rumah Sakit dr. Sardjito yang diberi perlakuan pemakaian setengah resep volume reagen dan sampel.

Pada penelitian ini Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*, yang didasarkan pada pertimbangan tertentu oleh peneliti sendiri, berdasarkan ciri atau sifat-sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Notoatmodjo, 2010). Penggunaan *purposive sampling* sangat membantu dalam pemilihan sampel pasien, dimana penelitian ini menggunakan sampel patologis yaitu sampel pasien dengan kadar asam urat lebih rendah dan lebih tinggi dari nilai normal.

3. Perhitungan besar sampel

Jumlah sampel yang diperlukan untuk penelitian eksperimen dan komparatif berjumlah 30 sampel (Gay dkk., 2009). Hal ini sejalan dengan pendapat Sugiyono (2013), yang juga menyebutkan bahwa ukuran sampel yang layak dalam penelitian adalah antara 30 sampai dengan 500. Sehingga pada penelitian ini menggunakan 30 sampel. Pemilihan 30 sampel didasari oleh pertimbangan praktis, dimana jumlah ini cukup untuk memberikan hasil yang representatif dengan tingkat kesalahan yang dapat diterima dalam penelitian eksperimen atau komparatif. Selain itu, penggunaan 30 sampel juga mengoptimalkan sumber daya penelitian, seperti waktu, tenaga, dan dana yang tersedia.

Penambahan 20% dari total sampel 30 dilakukan sebagai toleransi kesalahan untuk mengantisipasi nilai yang tidak memenuhi syarat pada penelitian ini. Penggunaan angka toleransi kesalahan sebesar 20% untuk

tingkat nilai yang tidak memenuhi syarat dihitung untuk memastikan bahwa ukuran sampel yang cukup besar tetap tersedia untuk analisis akhir (Abernethy dkk., 2003). Penambahan 20% berdasarkan angka nilai normal kadar asam urat yang cenderung kecil sehingga apabila terdapat perbedaan 0,1 sudah dapat berpengaruh cukup besar. Sehingga peneliti memilih menggunakan toleransi kesalahan 20%

$$30 + (20\% \times 30) = 30 + 6 = 36$$

Dengan toleransi kesalahan sebesar 20%, maka jumlah sampel yang digunakan adalah 36 sampel.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 26 Februari – 20 Maret 2025.

2. Tempat

Pengambilan, pengolahan darah bertempat di Laboratorium Klinik Rumah Sakit DR. Sardjito dan pemeriksaan kadar asam urat dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

E. Variable Penelitian

1. Variabel bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah satu resep volume reagen dan sampel dan setengah resep volume reagen dan sampel.

2. Variabel terikat

Variable terikat dalam penelitian ini adalah Kadar Asam Urat yang diperiksa.

3. Variabel pengganggu

Variable pengganggu yang bisa mempengaruhi dalam penelitian adalah waktu inkubasi.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Penelitian ini memiliki tiga jenis variabel, yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel pengganggu.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan faktor yang memengaruhi variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini berupa dua jenis perlakuan terhadap volume reagen dan sampel. Perlakuan pertama adalah penggunaan satu resep volume, yaitu reagen sebanyak 1250 μL dan sampel sebanyak 20 μL . Perlakuan kedua adalah penggunaan setengah resep volume, yaitu reagen sebanyak 625 μL dan sampel sebanyak 10 μL . Variabel ini dikategorikan dalam skala nominal.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah faktor-faktor yang diobservasi atau diamati untuk menentukan adanya pengaruh dari variabel bebas. Kadar asam urat pada penelitian ini diukur dengan metode enzimatik. Pengukuran ini dilakukan dengan menggunakan perlakuan satu resep dan setengah resep volume reagen serta sampel, sebagaimana dijelaskan dalam variabel bebas.

Kadar asam urat diukur dalam satuan mg/dL dan termasuk dalam skala rasio.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu mencakup faktor-faktor yang dapat memengaruhi hasil penelitian di luar variabel bebas dan terikat. Dalam konteks penelitian ini, waktu inkubasi diidentifikasi sebagai variabel pengganggu.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Pengumpulan Data

Jenis pengumpulan data yang digunakan oleh peneliti adalah data primer yaitu data yang didapatkan secara langsung oleh peneliti. Data primer adalah sumber data yang langsung memberikan data kepada pengumpul data (Sugiyono, 2013).

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan oleh peneliti dikumpulkan dari hasil pemeriksaan kadar asam urat metode TBHBA dengan pemakaian setengah resep dan satu resep volume reagen dan sampel.

H. Alat Ukur atau Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat Ukur atau Instrumen

- a. Fotometer Mindray BA-88A
- b. Tabung reaksi
- c. Mikropipet

- d. *Yellow Tip*
- e. *Blue tip*
- f. Kulkas
- g. *Stopwatch*
- h. *Cup serum*
- i. *Tissue*
- j. *Cool box*
- k. *Ice gell*
- l. *Plastic ziplock*

2. Bahan

- a. Sampel serum pasien
- b. Serum kontrol komersial
- c. Akuades
- d. Reagen pemeriksaan kadar asam urat metode TBHBA

3. Reagen

Pada penelitian ini digunakan reagen asam urat DiaSys, berikut ini komposisi dari reagen asam urat yang digunakan.

Tabel 3. Komposisi Reagen Asam Urat

Reagen			
Reagen 1	<i>Phosphate buffer 2,4,6-tribromo-3 hydroxybenzoic acid (TBHA)</i>	pH 7,0	100 mmol/ L 1,25 mmol/ L
Reagen 2	<i>Phosphate buffer 4- aminoantipyrine K₄ [Fe(CN)₆] Peroxidase (POD) Uricase</i>	pH 7,0	100 mmol/L 1,5 mmol/L 50 µmol/L ≥ 10 kU/L ≥150 U/L

Sumber: (Diasys, 2023)

I. Uji Validitas dan Reabilitas

Pada penelitian ini menggunakan alat fotometer Mindray BA-88A yang terdapat pada laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Validitas instrumen dilakukan melalui kegiatan *Quality Control* (QC) menggunakan serum kontrol komersial *assayed* dengan metode *within run*. Hasil dari pemeriksaan kadar asam urat menggunakan serum kontrol komersial *assayed* kemudian dibandingkan dengan nilai rujukan yang sudah ditetapkan pada prosedur kit reagen. Hasil dari QC metode *within run* dibuat grafik *Levey Jennings* untuk diterapkan rumus *westgard rules*. Alat ukur dinyatakan *in control* dan *valid* digunakan karena hasil pengukuran masuk ke dalam *range* kontrol.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

a. Perizinan

Perizinan untuk menggunakan Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Polteknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

b. Disiapkan Alat dan Bahan

2. Tahap Pelaksanaan

a. Tahap uji validitas instrumen

b. Tahap pengelolaan serum

- 1) ATLM RSUP dr. Sardjito melakukan pengambilan darah vena pasien dan dimasukkan ke tabung separator.

- 2) Darah didiamkan beku selama 30 menit.
 - 3) Darah disentrifugasi selama 10 menit di kecepatan 3000 rpm.
 - 4) Serum darah dipisahkan dan dipindahkan ke *microtube*.
 - 5) Serum yang sudah dipisahkan dilakukan pemeriksaan sesuai permintaan di Laboratorium Kimia Klinik RSUP dr. Sardjito.
 - 6) Serum yang sudah dilakukan pemeriksaan dipindahkan kembali ke *microtube* baru, diberi label dan dipacking menggunakan *plastic ziplock*, ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam ice box yang sudah diberi *ice gell*.
 - 7) *Ice box* dibawa ke Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta untuk dilakukan pemeriksaan kadar asam urat satu dan setengah resep reagen dan sampel.
- a. Tahap pemeriksaan kadar asam urat
- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
 - 2) Memipet reagen dan sampel dalam kuvet untuk diperiksa kadar asam uratnya masing-masing dipipet sesuai dengan tabel :

Satu resep volume reagen dan sampel

Tabel 4. Cara kerja pemeriksaan asam urat dengan satu resep volume reagen dan sampel

	Blanko	Sampel/Kalibrator
Sampel/Kalibrator	-	20 μ l
Blanko air	20 μ l	-
Reagen 1	1000 μ l	1000 μ l
Campurkan, Inkubasi	20 menit, kemudian tambahkan:	
Reagen 2	250 μ l	250 μ l

Tabel 5. Cara kerja pemeriksaan asam urat dengan setengah resep volume reagen dan sampel

	Blanko	Sampel/Kalibrator
Sampel/Kalibrator	-	10 μ l
Blanko air	10 μ l	-
Reagen 1	500 μ l	500 μ l
Campurkan, Inkubasi	20 menit, kemudian tambahkan:	
Reagen 2	125 μ l	125 μ l

- 3) Mencampur dan menginkubasi 10 menit pada suhu 37°C atau 30 menit pada suhu ruang (20-25°C
- 4) Pembacaan dilakukan dengan mengukur blanko reagen terlebih dahulu, kemudian dilakukan pembacaan pada sampel menggunakan spektrofotometer Mindray BA-88A pada panjang gelombang 520 nm.
- 5) Hasil pembacaan dicatat sebagai kadar asam urat.

K. Manajemen Data

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan sampel langsung. Data tersebut merupakan data primer karena pengumpul data memperoleh langsung dari sumber data (Sugiyono, 2013). Uji deskriptif dan uji statistik dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar asam urat pada pengujian metode TBHBA dengan pemakaian setengah volume dan satu volume reagen dan sampel.

Analisis deskriptif bertujuan untuk menggambarkan karakteristik variabel penelitian. Data yang diperoleh dari penelitian disajikan dalam bentuk tabel kemudian dianalisis secara deskriptif. Analisis deskriptif dilakukan dengan menghitung sebaran data melalui nilai rata-rata hasil pemeriksaan dari

kadar asam urat pada pengujian metode TBHBA dengan pemakaian setengah volume dan satu volume reagen dan sampel.

Data yang diperoleh dianalisa statistika dengan menggunakan program *IBM SPSS Statistics 20*. Data tersebut dilakukan uji normalitas data menggunakan *Shaphiro-wilk* karena jumlah data yang diperoleh <50 data. Data berdistribusi tidak normal karena nilai $p < \alpha$ (0.05). Data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik menggunakan *wilcoxon (2-Related Samples)*. Selanjutnya, hasil pemeriksaan kadar asam urat metode TBHBA dilakukan analisis *mean difference* dan CI 95%. Kemudian lower dan upper digunakan untuk memprediksi hasil underestimate. Selain itu, penentuan pada batas klinis dilakukan berdasarkan pedoman klinis dari CLIA dan *Westgard*.

L. Etika Penelitian

Penelitian ini tidak melakukan intervensi kepada subjek secara langsung dan hanya menggunakan serum pasien rawat jalan dan rawat inap RSUP dr. Sardjito. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta pada tanggal 13 Februari 2025 dengan nomor surat *Ethical Clearance* No.DP.04.03/e-KEPK.1/224/2025, yang bertujuan untuk menjamin bahwa penelitian telah memenuhi standar etika dan hak-hak kesejahteraan partisipannya.