

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian *Pre-eksperimental* merupakan jenis penelitian kuantitatif yang tidak sepenuhnya memenuhi kriteria. Dalam penelitian ini, tidak ada variabel kontrol dan sampel dipilih secara acak atau random (Nugroho, 2018). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh atau perbedaan yang terjadi setelah perlakuan diberikan. Data dalam penelitian ini, akan dianalisis menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *static group comparison*. Desain ini membandingkan dua kelompok berbeda yang masing-masing diberi perlakuan berbeda tanpa dilakukan pengukuran awal (pre-test). Dalam penelitian ini, kelompok pertama menggunakan satu volume reagen dan sampel, sedangkan kelompok kedua menggunakan setengah volume. Desain *static group comparison* merupakan rancangan penelitian yang membagi satu populasi menjadi dua kelompok secara acak yaitu kelompok eksperimen dan kelompok kontrol (Kusuma, 2021).

Tabel 4. Desain penelitian *static group comparison*

Eksperimen	Post-Test
X	O ₁ O ₂

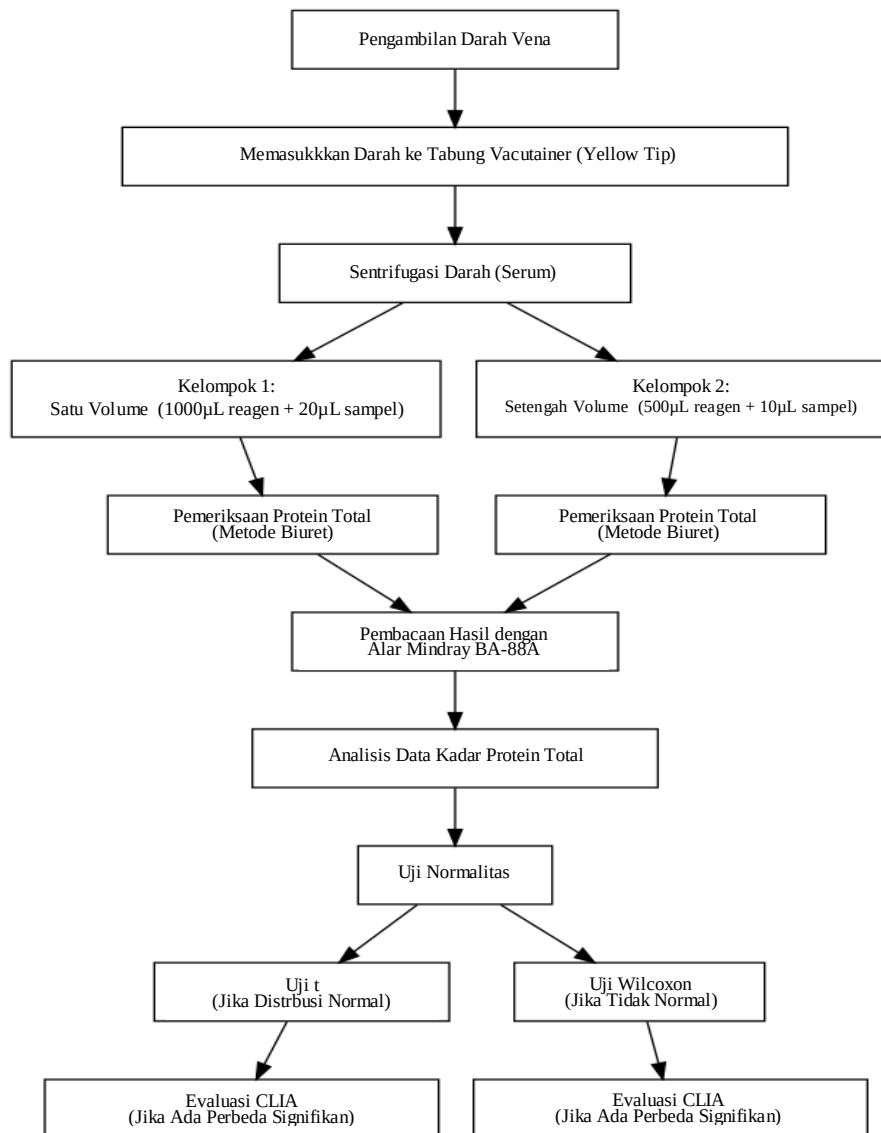
Keterangan:

X merupakan perlakuan variasi volume

O₁ merupakan pemeriksaan kadar protein total volume reagen dan sampel pemakaian 1 (kelompok sebelum diberi perlakuan)

O₂ merupakan pemeriksaan kadar protein total volume reagen dan sampel pemakaian 1/2 (kelompok sesudah diberi perlakuan)

B. Rancangan Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah Mahasiswa Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis (STr.TLM) Semester 8 di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Sampel yang digunakan berupa darah vena dari mahasiswa yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk dalam kriteria eksklusi.

Kriteria inklusi merupakan karakteristik tertentu yang harus dipenuhi oleh individu agar dapat dijadikan sampel dalam penelitian, sedangkan kriteria eksklusi adalah karakteristik yang menyebabkan individu tidak dapat dijadikan sampel meskipun termasuk dalam populasi target.

a. Inklusi:

- 1) Mahasiswa Poltekkes Yogyakarta Jurusan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Semester 8
- 2) Memiliki volume Serum ≥ 1 ml setelah sentrifugasi

b. Eksklusi:

- 1) Sampel serum hemolisis
- 2) Serum bersifat lipemik
- 3) Serum bersifat Ikterik

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah kadar protein total serum yang diperiksa menggunakan metode biuret dengan dua perlakuan, yaitu

penggunaan satu volume (1000 μL reagen dan 20 μL sampel) dan setengah volume (500 μL reagen dan 10 μL sampel).

3. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan metode Simple Random Sampling atau sampel acak sederhana. Teknik ini merupakan prosedur pengambilan sampel paling dasar yang memberikan kesempatan yang sama bagi setiap individu dalam populasi untuk dipilih sebagai sampel (Sumargo, 2020).

4. Besar Sampel

Menurut Sugiyono (2013), jumlah sampel minimal yang digunakan dalam eksperimen kuantitatif adalah 30 subjek untuk setiap perlakuan. Hal ini sejalan dengan pendapat Nurudin, Mara dan Kusnandar (2014) semakin besar sampel maka distribusi sampling rata-ratanya semakin baik, dan sebagaimana dijelaskan oleh Mahmud (2011) untuk penelitian yang melakukan uji analisis statistik, jumlah sampel minimum yang digunakan berjumlah 30 subjek.

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti menetapkan jumlah sampel sebanyak 30 subjek. Penelitian dilakukan pada mahasiswa program studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis semester 8 yang berjumlah 40 orang. Dari jumlah tersebut, peneliti memperoleh 30 subjek melalui metode pemilihan acak menggunakan spinner, serta berdasarkan kesediaan subjek untuk berpartisipasi dalam penelitian.

D. Waktu dan Tempat

1. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 22 Maret 2025.

2. Tempat

Penelitian ini dilakukan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis di bagian Laboratorium Klinik.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi volume reagen dan sampel, yaitu penggunaan satu volume standar (1000 μL reagen dan 20 μL sampel) dan setengah volume (500 μL reagen dan 10 μL sampel) dalam metode biuret.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar protein total serum, yang diukur setelah perlakuan variasi volume diterapkan. Nilai variabel ini bergantung pada perlakuan dari variabel bebas yang diberikan.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 5. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Variabel Bebas	Variabel Terikat
Dalam penelitian ini, variabel bebas yang digunakan adalah Variasi volume reagen dan sampel yang digunakan dalam metode biuret, yaitu satu volume standar (1000 μ L + 20 μ L) dan setengah volume (500 μ L + 10 μ L). Satuan : Mikroliter (μ L) Skala : Nominal	Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Kadar protein total yang diperoleh dari hasil pemeriksaan menggunakan metode biuret setelah diberi perlakuan variasi volume reagen dan sampel. Satuan : g/dL Skala : Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang diperoleh secara langsung dari hasil pemeriksaan kadar protein total serum menggunakan metode biuret dengan variasi volume reagen dan sampel. Data primer merupakan data yang dikumpulkan sendiri oleh peneliti dari subjek penelitian melalui pengukuran secara langsung (Sugiyono, 2013). Data ini diperoleh dari hasil pengukuran kadar protein total pada serum dengan pemakaian variasi volume reagen dan sampel dengan metode biuret.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan melalui pemeriksaan dan pengukuran laboratorium, yaitu dengan mengukur kadar protein total dari sampel serum menggunakan metode biuret. Hasil pemeriksaan laboratorium ini kemudian dicatat sebagai data penelitian.

H. Instrumen Bahan Penelitian

1. Alat

Pada penelitian ini digunakan alat-alat seperti:

- a. Cup serum
- b. Rak Tabung
- c. Centrifuge
- d. Kuvet
- e. Mikropipet 1000 μ l, 500 μ l, 20 μ l
- f. Tip blue, yellow, white
- g. Fotometer Mindray ba-88a
- h. Vortex Mixer

2. Bahan

Pada penelitian ini bahan dibutuhkan seperti:

- a. Darah Vena (Serum)
- b. Bahan control komersial
- c. Tissue
- d. Reagen kit Protein Total

I. Uji Validitas Instrumen

1. Uji Validitas Instrumen

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah Fotometer Mindray Ba-88a yang tersedia di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Uji Validitas instrumen dilakukan melalui prosedur Quality Control (QC)

menggunakan bahan kontrol yang diperiksa sebanyak 20 kali pengulangan dalam satu hari sebelum digunakan untuk pengukuran sampel penelitian.

Hasil pemeriksaan bahan kontrol dibandingkan dengan nilai rujukan yang sudah tercantum pada reagen kit. Apabila hasil pemeriksaan tidak masuk rentang nilai rujukan maka perlu dilakukan evaluasi. Evaluasi dilakukan terhadap alat dan bahan yang digunakan serta prosedur kerja yang digunakan pada penelitian ini.

J. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang akan dilakukan sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan

a. Perizinan

Perizinan yang diperlukan adalah mengurus izin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Klinik di Kampus Teknologi Laboratorium Medis.

b. Persiapan alat, bahan, dan reagen yang diperlukan

2. Tahap Pelaksanaan

a. Tahap pengambilan darah vena

- 1) Menyiapkan alat yang akan dibutuhkan, seperti plaster, alcohol swab, spuit, kapas dan tabung clot activator
- 2) Melakukan persiapan pasien, meliputi pengarahan, konfirmasi identitas, dan pelabelan identitas, serta menjelaskan prosedur pengambilan darah yang akan dilakukan.
- 3) Pasang bevel pada spuitnya. Periksa dan pastikan kembali bahwa

bevel tidak mempat dan spuit dalam kondisi kedap-udara

- 4) Minta pasien untuk meluruskan lengannya dengan posisi telapak tangan menghadap keatas dan mengepalkan tangannya dengan ibu jari didalam
- 5) Memasang tourniquet kira-kira 3-4 jari diatas lipatan siku
- 6) Lakukan palpasi atau perabaan pada daerah lipatan siku pasien untuk memastikan letak dan arah vena pasien menggunakan telunjuk kiri. Vena akan terasa seperti pipa yang elastis
- 7) Melakukan disinfeksi pada area vena yang teraba dengan alcohol swab dan biarkan mongering. Kulit yang sudah diberikan disinfeksi tidak boleh disentuh
- 8) Melakukan pungsi vena dengan menusukkan bevel kedalam spuit, posisi spuit atau bevel (lubang jarum) menghadap keatas dan sudut kemiringan 15-30°
- 9) Ketika pungsi vena sudah tepat, darah akan terlihat masuk dalam jarum
- 10) Lepaskan tourniquet, dan lanjutkan penarikan darah vena secara perlahan kedalam spuit sampai batas volume yang dibutuhkan
- 11) Setelah spuit sudah terisi darah sesuai dengan volume yang dibutuhkan, letakkan kapan bersih dan kering tepat diatas penusukan. Selanjutnya cabut bevel atau jarum yang tertutupi kapas tersebut, lakukan dengan baik

- 12) Kapas ditekan kuat selama 3 menit, kemudian bekas penusukan diberikan plaster
 - 13) Masukkan darah kedalam tabung clot activator dengan cara menusukkan jarum kedalam tutup tabung sesuai dengan volume yang dibutuhkan
 - 14) Buang jarum ke tempat yang disediakan, dan buang spuit dan bahan lainnya kedalam tempat sampah khusus medis yang tertutup
- b. Tahap pengelolaan serum
- 1) Sampel darah vena 3 ml didiamkan 20-30 menit sebelum disentrifus
 - 2) Darah disentrifus selama 5-10 menit dengan kecepatan 3000 rpm
 - 3) Serum yang memenuhi syarat adalah serum yang tidak tampak kemerahan (hemolysis), keruh (lipemik), dan serum yang terkontaminasi.
 - 4) Pemeriksaan serum dilakukan pada hari yang sama
- c. Tahap pemeriksaan kadar protein total

Pemeriksaan kadar protein total di Kampus Teknologi Laboratorium Medis menggunakan alat kimia klinik Mindray ba-88a dengan prosedur sebagai berikut:

- 1) Nyalakan alat Fotometer Mindray ba-88a
- 2) Masukkan parameter yang diperlukan untuk pengujian kadar yang akan diperiksa

- 3) Sediakan kuvet yang sudah diisi dengan sampel dan reagen yang sudah diinkubasi 10 menit (sesuai volume yang ditentukan), sesuaikan panjang gelombang yang sesuai (biasanya 540 nm).
- 4) Alat akan mengukur perubahan warna akibat interaksi protein dengan reagen
- 5) Hasilnya akan muncul dilayar, catat hasil kadar protein total.

K. Manajemen Data

Penelitian ini menggunakan data primer yang diperoleh langsung dari hasil pemeriksaan laboratorium kadar protein total serum dengan variasi volume reagen dan sampel menggunakan metode biuret. Data yang diperoleh bersifat kuantitatif, dan dianalisis secara deskriptif dan statistik untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kadar protein total.

1. Analisis Deskriptif

Analisis deskriptif digunakan untuk menggambarkan karakteristik data hasil pemeriksaan. Data disajikan dengan bentuk tabel kemudian dianalisis secara deskriptif dalam perhitungan penyebaran data melalui perhitungan rata-rata dan range nilai minimum dan maksimum dari hasil pengukuran kadar protein total pada perlakuan satu volume dan setengah volume. Analisis ini bertujuan untuk menunjukkan perbedaan umum antara kedua perlakuan sebelum dilakukan pengujian statistik.

2. Analisis Statistik

Analisis statistic dilakukan uji distribusi data untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Uji-*t* berpasangan (*paired t-test*) adalah salah satu metode pengujian hipotesis dimana data yang digunakan tidak bebas (berpasangan). Ciri-ciri yang paling sering ditemui pada kasus yang berpasangan adalah salah satu individu (objek penelitian) mendapat dua buah perlakuan yang berbeda. Walaupun menggunakan sampel yang sama, peneliti tetap memperoleh dua macam data sampel, yaitu data dari perlakuan pertama (pemakaian satu) dan data dari perlakuan kedua (pemakaian kedua). Hipotesis dari kasus ini dapat ditulis:

$$H_0 = \mu_1 - \mu_2 = 0$$

$$H_1 = \mu_1 - \mu_2 \neq 0$$

a. Uji normalitas

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah data penelitian yang diperoleh berupa data yang berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas data dilakukan dengan melihat nilai signifikan dari *Shapiro- Wilk* karena sampel pada penelitian ini termasuk pada sampel kecil 30 sampel untuk tiap kelompoknya. Dikatakan data berdistribusi normal jika nilai signifikan yaitu $p \geq \alpha (0,05)$, sedangkan data tidak berdistribusi normal jika nilai signifikan $p < \alpha (0,05)$.

Berdistribusi Normal: H_0 diterima jika *Sig (Shapiro-Wilk)* $\geq 0,05$

Tidak Berdistribusi Normal : H_0 ditolak jika *Sig (Shapiro-Wilk)* $\leq 0,05$

b. Uji homogenitas

Uji homogenitas digunakan untuk menentukan apakah kelompok data mempunyai varians yang sama atau tidak. Data homogeny yaitu data yang memiliki varians yang sama satu sama lain. Kriteria data homogen adalah jika data bernilai *Sig (Shapiro-Wilk)* $\geq$ 0,05 dan kriteria data tidak homogeny jika nilai *Sig (Shapiro-Wilk)* $\leq$ 0,05.

c. Uji hipotesis

Tahap pengujian statistik selanjutnya yaitu uji hipotesis. Uji hipotesis dilakukan ketika prasyarat analisis sudah dilakukan dan terbukti bahwa data-data yang diperoleh berdistribusi ormal dan homogeny. Uji hipotesis berguna untuk membuktikan apakah hipotesis peneliti dapat diterima atau ditolak. Uji hipotesis pada penelitian ini menggunakan paired *t*-Test. Jika data berdistribusi normal maka hanya sampai dilakukan Uji *t* Dua Sampel Berpasangan (*Paired Samples t-Test*) dan jika data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan Wilcoxon (*2 Related Samples*).

Hipotesis statistik pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

H_0 : Tidak ada perbedaan kadar protein total pada pemakaian satu dan setengah volume reagen dan sampel metode biuret

H_a : Ada perbedaan kadar protein total pada pemakaian satu dan setengah volume reagen dan sampel metode biuret

L. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan sejujur-jujurnya berdasarkan fakta yang terjadi dilapangan. Penelitian ini dilakukan dengan etika penelitian yaitu:

1. Kaji Etik

Penelitian ini menggunakan sampel darah manusia yang berasal dari Mahasiswa Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, sehingga dibutuhkan *Ethical Clearance* yang diajukan kepada Komisi Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/448/2025.

2. Surat Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP)

Peneliti menjelaskan maksud, tujuan, lama dan prosedur penelitian secara singkat dan jelas. Calon subjek selain membantu peneliti dalam penelitian ini juga mendapatkan keuntungan. Peneliti menyatakan bahwa identitas calon subjek akan dirahasiakan, sehingga calon subjek tidak perlu merasa khawatir. Partisipasi subyek bersifat sukarela.

3. *Informed consent*

Peneliti akan memberikan penjelasan terkait prosedur pengambilan sampel dan tidak memaksa kepada pasien atau calon subjek penelitian sehingga subjek penelitian didapatkan berdasarkan kesukarelaan. Apabila pasien atau calon subjek menolak maka peneliti akan berhenti melakukan penjelasan, dan apabila pasien bersedia untuk ikut serta maka dilakukan persetujuan dalam bentuk *Informed consent* yakni mengisi data diri serta menandatangani. Kemungkinan yang dapat terjadi adalah pasien

sewaktu-waktu mundur dari penelitian, bahkan setelah menandatangani *Informed consent* sebelum pengambilan darah. Pasien yang sudah ikut berpartisipasi dalam penelitian dan diambil darahnya akan mendapatkan sebagai ucapan terima.