

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *pre-experimental design*, dimana peneliti tidak memakai variabel kontrol dan sampel tidak dipilih secara random (Hardani dkk., 2020). Penelitian ini menggunakan desain *one group Pretest Posttest* dimana tidak ada kelompok kontrol pembanding, namun sudah dilakukan *pretest* (observasi pertama) (Notoatmodjo, 2010). Kelompok *pretest* dalam penelitian ini yaitu kadar trigliserida *pooled plasma* EDTA yang sebelum dilakukan penyimpanan. Penyimpanan *pooled plasma* EDTA selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu -20 °C merupakan intervensi. *Posttest* dilakukan pemeriksaan kadar trigliserida pada *pooled plasma* EDTA dilakukan setelah disimpan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu -20 °C . Rancangan penelitian ditunjukkan pada:

Tabel 3. Rancangan Penelitian

<i>Pretest</i>	Perlakuan	<i>Posttest</i>
O1	X	O2

Sumber : (Notoatmodjo, 2010).

Keterangan:

X = Penyimpanan Penyimpanan *pooled plasma* EDTA selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu -20 °C

- O1 = Kadar trigliserida *pooled plasma* EDTA yang sebelum disimpan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu -20°C
- O2 = Kadar trigliserida *pooled plasma* EDTA setelah disimpan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu -20 °C.

B. Subjek dan Objek Penelitian

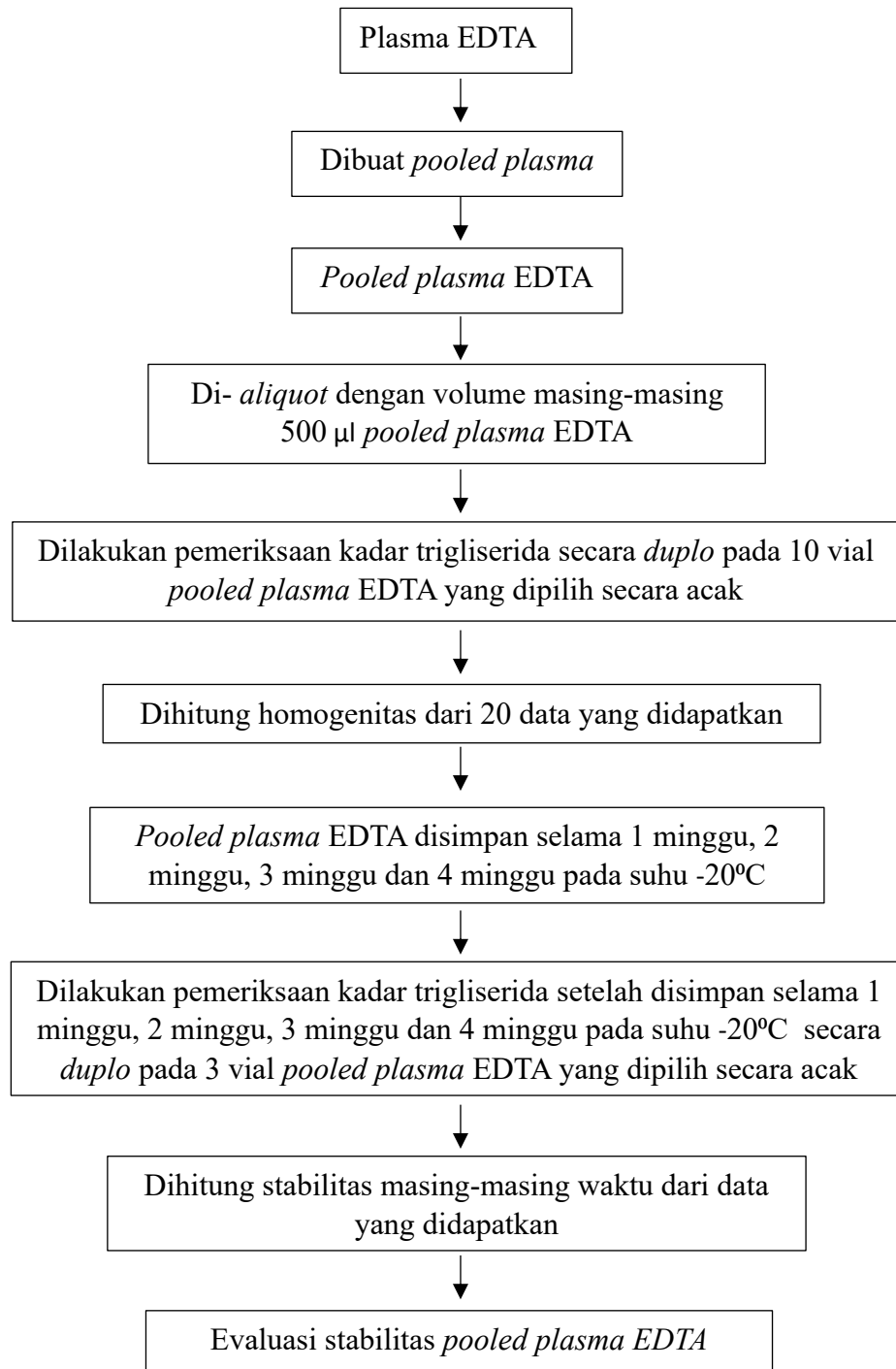
1. Subjek Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan plasma EDTA yang diambil dari mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Plasma EDTA tersebut dikumpulkan dan diproses menjadi *pooled plasma* dan disimpan di-*freezer* dengan suhu -20 °C selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu.

2. Objek Penelitian

Penelitian ini menggunakan objek kadar trigliserida pada *pooled plasma* EDTA. Peneliti mengukur kadar trigliserida sebelum penyimpanan sebagai uji homogenitas dan mengukur kadar trigliserida selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah disimpan di suhu -20 °C sebagai uji stabilitas.

C. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Tempat

Tempat penelitian di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi
Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

2. Waktu

Waktu pelaksanaan penelitian dari tanggal 15 Februari 2025 – 15 Maret
2025

E. Batasan Istilah

1. Sampel yang digunakan adalah *pooled plasma Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) tidak lisis, tidak lipemik dan tidak ikterik.

2. Lama penyimpanan adalah kurun waktu yang diperlukan untuk menyimpan *pooled plasma* EDTA yang telah dibuat. Lama penyimpanan yaitu 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu.

Satuan : minggu

Skala : rasio

3. Suhu penyimpanan *pooled plasma* EDTA adalah freezer adalah -20°C.

Satuan : *celcius*

Skala : interval

4. Hasil pemeriksaan kadar trigliserida adalah jumlah milligram trigliserida per 100 dl plasma yang diperiksa.

Satuan : mg/dl

Skala : rasio

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Jenis data penelitian yang digunakan dalam penelitian ini berupa data primer. Data primer merupakan data yang didapatkan langsung dari subjek penelitian, dalam hal ini peneliti mendapatkan data atau informasi langsung dengan menggunakan instrumen-instrumen yang telah ditetapkan (Hardani dkk., 2020). Peneliti menggunakan teknik dengan melakukan pemeriksaan *pooled plasma* EDTA sebelum penyimpanan yaitu didapatkan 20 data yang digunakan untuk uji homogenitas. Sedangkan setelah penyimpanan 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu - 20°C, masing-masing waktu diperoleh 6 data untuk uji stabilitas.

G. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung sentrifus, sentrifus, gelas kimia, spuit 3 ml, tabung vakum EDTA, *microtube*, *vortex mixer*, lemari es, kuvet, mikropipet, tip kuning, tip biru dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah plasma EDTA dan reagen pemeriksaan trigliserida (glory diagnostic).

H. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan memastikan alat yang digunakan berfungsi dengan baik. Hal ini dapat

dilakukan dengan melakukan *quality control* (QC) sebelum melakukan pemeriksaan. *Quality Control* dilakukan dengan memonitoring suhu *freezer* kulkas. Pemeriksaan dilakukan sesuai Standar Operasional Prosedur (SOP). Selain itu memastikan mikropipet, sentrifugasi, spektrofotometer dan vortex yang digunakan sudah terkalibrasi.

I. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Mengurus kaji etik pada Komisi Etik di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- b. Mengurus izin peminjaman Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- c. Sterilisasi gelas kimia, vial dan alat lainnya
- d. Menyediakan bahan habis pakai yang akan digunakan untuk penelitian.

2. Pembuatan Plasma EDTA

- a. Lakukan pengambilan darah vena menggunakan spit sebanyak 3 ml
- b. Masukkan sampel darah vena ke dalam tabung *vacutainer* tutup ungu EDTA
- c. Homogenkan sampel.
- d. Sentrifugasi sampel selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm
- e. Ambil plasma menggunakan mikropipet lalu masukkan ke dalam gelas kimia.

3. Pembuatan *Pooled Plasma*

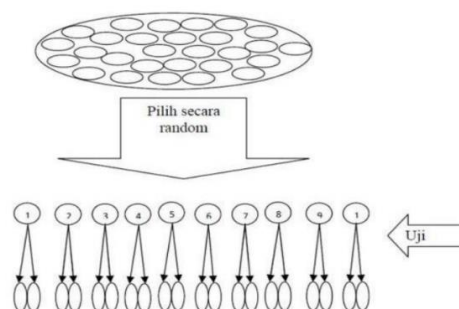
- a. Kumpulkan plasma EDTA dan dijadikan satu pada gelas kimia steril
- b. Homogenkan sampel.
- c. Pindahkan ke tabung sentrifus
- d. Homogenkan
- e. *Pooled plasma* EDTA dipindahkan ke beberapa vial dengan volume masing-masing vial 500 µl dan diberi label kode.

4. Penyimpanan

Pooled plasma EDTA yang sudah di-*aliquot* kemudian disimpan dalam *freezer* lemari es pada suhu -20 °C selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu.

5. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dapat dilakukan dengan cara metode ISO 13528: 2015 sebagai berikut:



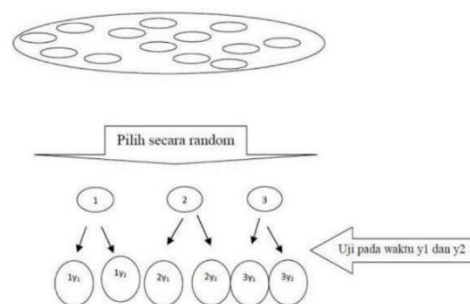
Gambar 3. Skema Uji Homogenitas

Sumber : (Samin dan Susanna, 2016).

- a. Pengambilan sampel dilakukan secara acak sebanyak ≥ 10 sampel.
- b. Sampel dilakukan pemeriksaan secara duplo,
- c. Sampel diperiksa dengan kondisi yang sama yaitu pada laboratorium yang sama, oleh tenaga yang sama dan menggunakan peralatan yang sama pada waktu(hari) yang sama. Lalu data hasil pemeriksaan dihitung secara statistika.

6. Uji Stabilitas

Uji stabilitas setelah penyimpanan selama waktu tertentu dapat dilakukan sesuai ISO 13528: 2015 dengan cara:



Gambar 4. Skema Uji Stabilitas

Sumber: (Samin dan Susanna, 2016).

- a. Uji stabilitas harus dilakukan di laboratorium dan keadaan yang sama dengan uji homogenitas
- b. Pemeriksaan yang dilakukan menggunakan metode yang sama dengan uji homogenitas
- c. Memilih sampel secara acak sebanyak ≥ 2 buah
- d. Dilakukan pemeriksaan duplo
- e. Dihitung menggunakan ISO 13528 Tahun 2015.

7. Pemeriksaan Kadar Triglicerida

a. Alat dan bahan

Kuvet, mikropipet, tip kuning, tip biru, tisu, reagen triglicerida, sampel pooled plasma dan spektrofotometer UV-Vis.

b. Cara kerja

- 1) Siapkan alat dan bahan
- 2) Pipet 1000 μ l reagen triglicerida lalu masukkan ke dalam kuvet
- 3) Tambahkan 10 μ l *pooled plasma* EDTA.
- 4) Homogenkan
- 5) Inkubasi 15 menit pada suhu ruang (20-25°C)
- 6) Baca dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 500nm
- 7) Hitung hasil pembacaan dengan rumus:

$$\text{Triglicerida} : \frac{\text{Absorban sampel}}{\text{Absorban standar}} \times \text{konsentrasi standar TG(200)}$$

c. Pendokumentasian hasil penelitian

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar triglicerida sebelum penyimpanan dalam waktu hari yang sama 10 sampel yang di duplo sebagai uji homogenitas dan kadar triglicerida selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah disimpan di suhu -20 °C, pada tiap minggu tersebut 3 sampel yang di-*duplo* digunakan sebagai uji stabilitas.

J. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menunjukkan kadar trigliserida. Analisis deskriptif merupakan statistik yang digunakan untuk menganalisis data angka agar dapat memberikan gambaran secara teratur, ringkas dan jelas mengenai suatu peristiwa sehingga dapat ditarik pengertian atau makna tertentu (Rinaldi dan Mujiyanto, 2017). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif menggambarkan jumlah rerata (*mean*), nilai tertinggi (*max*), nilai terendah (*min*), standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (CV) kadar trigliserida *pooled plasma* EDTA sebelum penyimpanan (0 minggu) dan sesudah penyimpanan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu -20 °C yang disajikan dalam bentuk tabel.

2. Uji Homogenitas dan Stabilitas

Data yang diperoleh diuji homogenitas dan stabilitas menggunakan perhitungan yang ditetapkan oleh ISO 13528 tahun 2015.

a. Uji Homogenitas

Perhitungan uji homogenitas sebagai berikut:

1) Dilakukan perhitungan rata-rata hasil uji simplo dan duplo

(X_t) dengan rumus:

2) $X_t = \frac{(X_{t,1} + X_{t,2})}{2}$, dimana $X_{t,1}$ adalah hasil uji ke-1 (simplo)

dan $X_{t,2}$ adalah hasil uji ke-2 (duplo).

3) Dihitung selisih absolut (W_t) dari hasil simplo dan duplo dengan rumus $W_t = |X_{t,1} - X_{t,2}|$

4) Dihitung rata-rata umum (X_r) dengan rumus:

5) $X_r = \frac{\sum X_t}{g}$, dimana g merupakan jumlah sampel yang digunakan.

6) Dihitung standar deviasi dari rata-rata sampel (S_x) dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum (X_t - X_r)^2}{g-1}}$$

7) Dihitung standar deviasi *within samples* (S_w) dengan rumus:

$$S_w = \sqrt{\frac{\sum W_t^2}{2g}}$$

8) Dihitung standar deviasi *between-samples* (S_s) dengan rumus:

$$S_s = \sqrt{S_x^2 - \frac{S_w^2}{2}}$$

9) Sampel dikatakan homogen, jika $S_s \leq 0,3\sigma$, dimana σ merupakan standar deviasi untuk asesmen profisiensi (SDPA), σ dapat ditetapkan melalui CV_{Horwitz} .

10) $CV_{\text{Horwitz}} = 2^{(1-0,5 \log c)}$, dimana C merupakan konsentrasi yang diukur.

b. Uji Stabilitas

Perhitungan Uji stabilitas:

- 1) Melakukan perhitungan rata-rata (Y_r) pengujian pertama ($Y_{r,1}$) dan pengujian kedua ($Y_{r,2}$) dari data uji stabilitas
- 2) Melakukan perhitungan selisih rata-rata hasil pengujian yang diperoleh pada uji homogenitas (X_r) dengan rata-rata hasil yang diperoleh uji stabilitas (Y_r)
- 3) Dikatakan stabil jika bahan kontrol memiliki hasil

$$| X_r - Y_r | \leq 0,3\sigma$$

K. Etika Penelitian

Etika penelitian dalam penelitian ini menyangkut bagaimana melakukan penelitian secara etik dengan mendapatkan persetujuan dari *Ethical Clearance* yang diajukan ke Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/082/2025

L. Hambatan Penelitian

Hambatan penelitian ini adalah keterbatasan waktu penelitian yang hanya dilakukan selama 4 minggu, seharusnya uji stabilitas dilakukan selama 3 bulan karena syarat bahan kontrol stabil selama 3 bulan.