

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

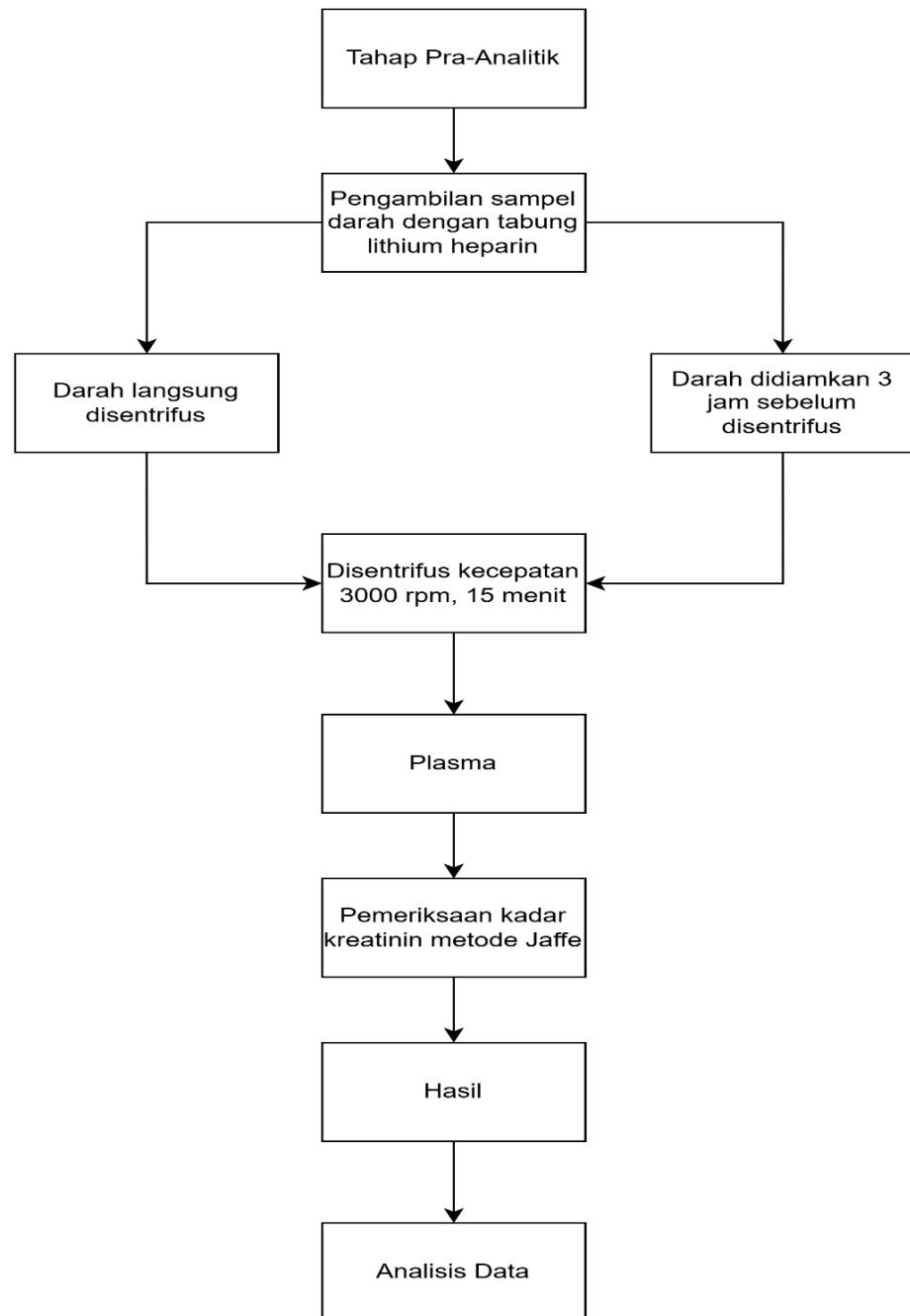
1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan jenis penelitian observasi analitik. Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasi analitik dimana peneliti mengkaji hubungan sebab akibat antar dua variabel, dimana bentuk hubungan berupa analisis perbedaan.

2. Desain Penelitian

Desain Penelitian ini menggunakan desain penelitian *One Group Pretest-Posttest Design*. Desain penelitian *One Group Pretest-Posttest Design* adalah desain penelitian yang terdapat pretest, sebelum diberi perlakuan. Dengan demikian hasil perlakuan dapat diketahui lebih akurat, karena dapat membandingkan dengan keadaan sebelum diberi perlakuan dan sudah diberikan perlakuan (Sugiyono, 2020). Pada penelitian ini kelompok pretest adalah sampel darah yang segera disentrifugasi, dan kelompok posttest adalah sampel darah yang ditunda 3 jam sebelum disentrifugasi

B. Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek penelitian

Subjek penelitian ini adalah mahasiswa Diploma III semester 6 Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

- a. Kriteria inklusi adalah persyaratan umum yang harus dipenuhi oleh setiap subyek atau populasi penelitian yang dapat diambil sebagai sampel. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah Mahasiswa yang bersedia menjadi responden dan dalam keadaan sehat.
- b. Kriteria Eksklusi adalah kriteria anggota populasi yang tidak dapat diambil sebagai sampel. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah plasma hemolisis, lipemik dan ikterik.

2. Besar sampel

Menurut Sugiyono (2020) mengemukakan bahwa ukuran sampel yang layak untuk penelitian adalah antara 30-500 sampel. Ukuran tersebut menunjukkan bahwa minimal sampel yang dibutuhkan adalah 30 sampel, sedangkan maksimal sampel yang dibutuhkan adalah 500 sampel. Oleh karena itu, pada penelitian ini besaran sampel yang akan diambil adalah 30 sampel.

3. Objek Penelitian

Objek penelitian ini yaitu darah pada tabung lithium heparin yang segera disentrifugasi dan ditunda sentrifugasi selama 3 jam.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2025.

2. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan
Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel darah pada tabung *lithium heparin* yang segera disentrifus dan didiamkan 3 jam sebelum disentrifugasi.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pemeriksaan kadar kreatinin darah.

F. Batasan istilah

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama penundaan pemeriksaan plasma heparin. Tabung yang digunakan adalah tabung vakum tutup hijau. Pemeriksaan dengan plasma heparin segera diperiksa dan ditunda selama 3 jam.

Satuan : jam

Skala :nominal

2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kreatinin dalam sampel plasma heparin. Banyaknya kadar kreatinin dalam darah ditetapkan menggunakan metode *Jaffe* menggunakan spektrofotometer yang dinyatakan dalam mg/dL

Satuan : mg/dL

Skala : rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Berdasarkan sumbernya, penelitian ini adalah data primer. Data primer adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya. Data primer disebut juga sebagai data asli atau data baru yang memiliki sifat *up to date*. Untuk mendapatkan data primer, peneliti harus mengumpulkannya secara langsung.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengukuran kadar kreatinin menggunakan alat fotometer dengan jumlah 30 sampel plasma dalam tabung *lithium heparin* yang segera disentrifugasi dan 30 sampel darah dalam tabung *lithium heparin* yang didiamkan selama 3 jam, masing-masing kelompok diambil data yang masuk kedalam kriteria inklusi.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Mikropipet 50µl dan 1000µl, mikrotip kuning, mikrotip biru, kuvet, spektrofotometer, jarum vacutainer, tourniquet, kapas alkohol 70%, plester, sentrifus, cup serum dan tabung tutup hijau *lithium heparin*.

2. Bahan dan Reagen

- a. Bahan
- b. Sampel darah vena
- c. Serum kontrol komersial

3. Reagen

- a. Reagen 1 (NaOH)
- b. Reagen 2 (asam pikrat)

I. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian merupakan alat yang digunakan untuk pengumpulan data. Adapun instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Alat ukur yang digunakan yaitu spektrofotometer untuk menentukan kadar kreatinin dalam plasma.
2. Alat yang digunakan untuk mengambil dan memindahkan plasma dari tabung ke kuvet adalah mikropipet
3. Alat alat yang biasa digunakan dalam laboratorium untuk memisahkan partikel organel adalah sentrifugasi

J. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas diawali dengan melakukan pemeriksaan dengan menggunakan serum kontrol yang diperiksa setiap akan melakukan pemeriksaan kadar kreatinin, kemudian hasil dari pemeriksaan serum kontrol dibandingkan dengan rentang nilai rujukan pada prosedur kit serum kontrol komersial. Jika hasil pemeriksaan dengan serum tidak masuk dalam nilai rentang maka harus dilakukan evaluasi. Evaluasi dilakukan terhadap alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini seperti reagen kreatinin yang digunakan, spektrofotometer dan melakukan evaluasi terhadap langkah-langkah pemeriksaan kadar kreatinin apakah sudah sesuai dengan prosedur kerja.

K. Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan

- a. Mengurus perijinan permohonan *Ethical Clearance* ke bagian Komite Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- b. Pengadaan reagen
- c. Pengadaan alat dalam sampling darah
- d. Mempersiapkan responden dengan memberikan penjelasan sebelum dilakukan pengambilan darah vena.
- e. Mempersiapkan lembar pencatatan hasil.

2. Tahapan pelaksanaan

- a. Dilakukan pemeriksaan kreatinin menggunakan serum kontrol komersial
- b. Jika hasil pemeriksaan kreatinin menggunakan serum kontrol komersial berada dalam rentang nilai normal, maka instrumen dapat digunakan untuk penelitian.
- c. Tahap pengambilan sampel darah pada vena

3. Tahap pengolahan sampel darah.

- a. Tabung sampel darah pertama segera disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- b. Tabung sampel darah kedua dilakukan penundaan sentrifus selama 3 jam selanjutnya disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- c. Plasma yang terbentuk segera dipisahkan dari endapan ke dalam cup serum dan diberi label.

4. Persiapan reagen

Memperhatikan batas kadaluarsa, stabilitas reagen dan kondisi kemasan reagen tidak rusak serta warna reagen tidak berubah.

5. Tahap pemeriksaan kadar kreatinin

- a. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- b. Membuat monoreagen dengan perbandingan 4 bagian dari reagen 1 dan 1 bagian dari reagen 2.

- c. Membuat blanko dengan menambahkan ke dalam kuvet 1000 µl monoreagen baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 492 nm
 - d. Membuat standar dengan menambahkan ke dalam kuvet 1000 µl monoreagen + reagen standar 50 µl. kemudian campur dan baca pada spektrofotometer setelah blanko.
 - e. Baca standar dengan panjang gelombang 492 nm cara pembacaan pada menit ke 1 dan menit ke 2
 - f. Membuat sampel pemeriksaan dengan menambahkan ke dalam kuvet 1000 µl monoreagen + serum 50 µl. kemudian campur dan baca pada spektrofotometer setelah standar.
 - g. Baca sampel dengan panjang gelombang 492 nm cara pembacaan pada menit ke 1 dan menit ke 2.
 - h. Catat hasil semua absorban.
6. Cara menghitung kadar kreatinin

$$= \left(\frac{A2 - A1 \text{ pemeriksaan}}{A2 - A1 \text{ standar}} \right) \times 2 \frac{\text{mg}}{\text{dl}} = \dots \text{Mg/dL}$$

L. Manajemen Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, dianalisis secara deskriptif dalam perhitungan penyebaran data melalui perhitungan rata rata hasil pemeriksaan kadar kreatinin yang segera disentrifugasi dan ditunda 3 jam sebelum disentrifugasi. Analisis statistik yang digunakan untuk memperoleh nilai statistik yaitu dengan mentabulasikan data sesuai kelompok perlakuan yang selanjutnya dilakukan pengujian statistik secara

komputerisasi menggunakan aplikasi SPSS. Langkah pertama yang dilakukan adalah menentukan apakah data telah berdistribusi normal atau tidak menggunakan uji KS (*Kolmogorov Smirnov*) selanjutnya dilakukan uji homogenitas, bila data terdistribusi normal yaitu diperlihatkan dari nilai signifikansi $p > 0,05$ maka tahap selanjutnya dilakukan uji *Paired Sampel T-test*.

M. Etika Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/219/2025 pada tanggal 13 Februari 2025 yang menyatakan bahwa penelitian ini dapat dibebaskan dari persetujuan etik (terlampir). Peneliti kemudian melakukan sosialisasi mengenai penelitian yang akan dilakukan dengan memberikan Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP) dan meminta persetujuan dari responden untuk ikut berpartisipasi dalam penelitian dengan mengisi *informed consent*.