

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini berupa pra-eksperimen. Menurut Swarjana (2023), desain penelitian pra-eksperimen merupakan desain penelitian yang memberikan perlakuan pada subjek atau objek penelitian tanpa ada kelompok kontrol dan pemilihan subjek penelitian tidak dilakukan secara acak. Penelitian ini dengan *the one group pre-test and post-test design*, di mana pengukuran atau observasi dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan diberikan kepada subjek atau objek penelitian. Kadar ureum yang diperiksa segera sebagai kelompok pengukuran pertama (*pre-test*) sedangkan kadar ureum yang diperiksa setelah 3 hari pada penyimpanan suhu 2-8°C dan disimpan beku sebagai kelompok setelah perlakuan (*post-test*). Hasil pengukuran tersebut kemudian dibandingkan untuk mengetahui perubahan yang terjadi sebelum dan sesudah perlakuan diberikan.

Tabel 1. Desain Penelitian

<i>Pre-test</i>	Perlakuan	<i>Post-test</i>	<i>Post-test</i>
O ₁	X	O ₂	O ₃

Keterangan:

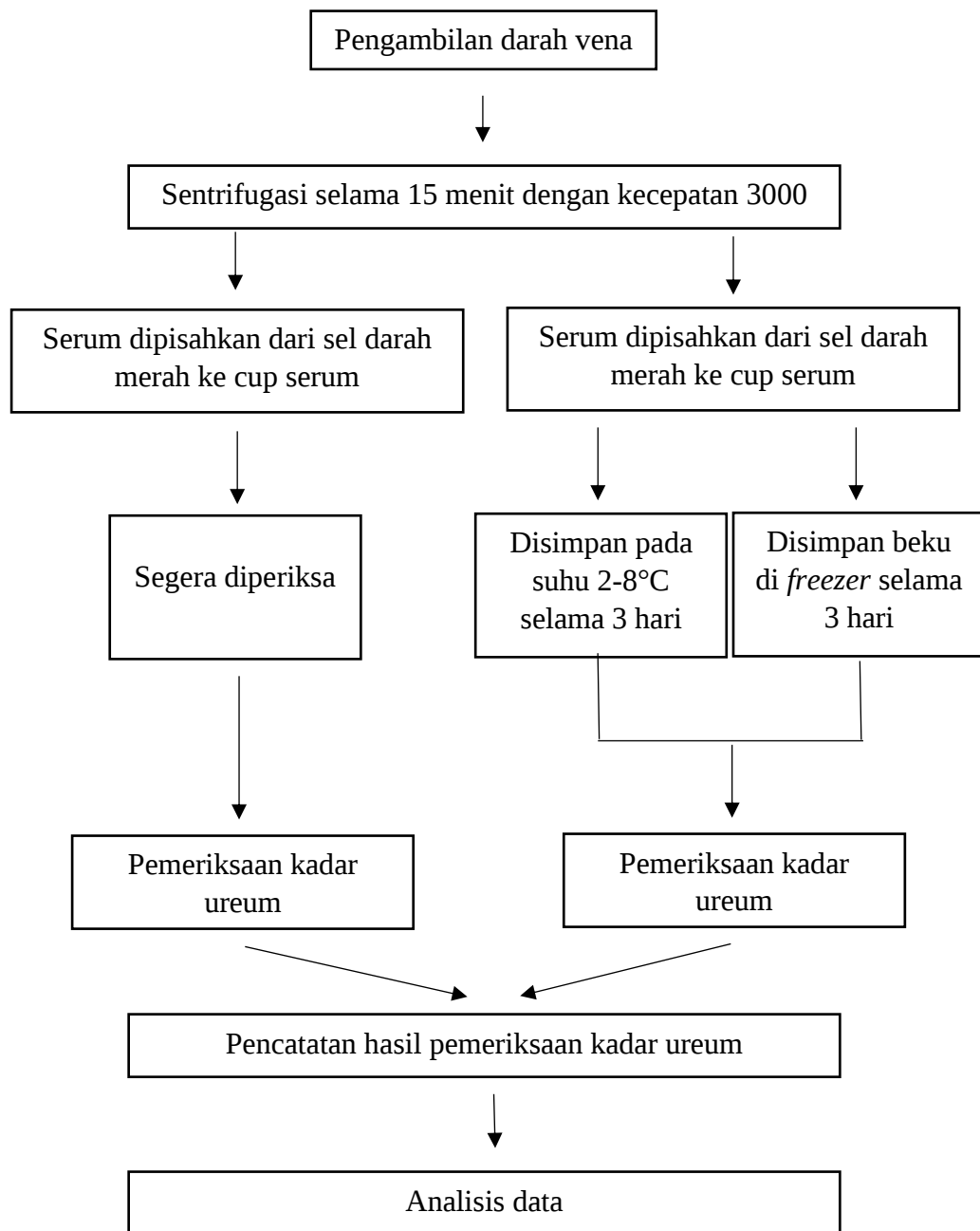
O₁ : Kadar ureum pada serum yang segera diperiksa

X : Penyimpanan serum selama 3 hari

O₂ : Kadar ureum pada serum setelah disimpan selama 3 hari pada suhu 2-8°C

O₃ : Kadar ureum pada serum setelah disimpan selama 3 hari di suhu *freezer*

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah mahasiswa Diploma III Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

2. Objek Penelitian

Objek dari penelitian ini adalah serum dari sampel darah vena. Teknik pengambilan spesimen dilakukan pada semua responden yang datang dan memenuhi kriteria inklusi sampai jumlah responden yang diperlukan terpenuhi.

a. Kriteria inklusi

Menurut Utarini dan Dwiprahasto (2022), kriteria inklusi adalah populasi sasaran yang akan dijadikan responden oleh peneliti secara konsisten, seragam dan objektif untuk dijadikan sebagai objek penelitian. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah serum normal dari mahasiswa Diploma III Jurusan Teknologi Laboratorium Medis (TLM) Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Serum normal adalah serum yang berwarna kuning jernih, yang tidak hemolisis, tidak lipemik dan tidak ikterik (Ramali dan Pamoentjak, 2005).

b. Kriteria eksklusi

Menurut Utarini dan Dwiprahasto (2022), kriteria eksklusi merupakan faktor yang membuat populasi tidak memenuhi syarat untuk penelitian. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah:

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

3. Besar Sampel

Sugiyono (2019) memberikan saran-saran mengenai jumlah sampel untuk penelitian salah satunya yaitu jumlah sampel yang layak dalam sebuah penelitian adalah antara 30-500 sampel. Artinya sampel yang dibutuhkan minimal sebanyak 30 orang dan maksimal 500 orang. Oleh karena itu, pada penelitian ini besaran sampel yang akan diambil adalah sejumlah 30 sampel.

D. Waktu dan Tempat

1. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-April 2025.

2. Tempat

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

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah lama waktu penyimpanan, yaitu segera dan disimpan selama 3 hari pada suhu 2-8°C dan disimpan beku dalam *freezer*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kadar ureum pada serum.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dari penelitian ini adalah serum hemolisis, serum lipemik dan serum ikterik.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Lama waktu penyimpanan adalah rentang waktu penyimpanan serum setelah serum dibuat. Lama waktu penyimpanan yang digunakan yaitu segera dan 3 hari, disimpan pada suhu 2-8°C dan disimpan beku dalam *freezer*.

a. Serum segera

Serum segera merupakan serum yang langsung digunakan untuk pemeriksaan kadar ureum tanpa dilakukan perlakuan penyimpanan.

b. Serum disimpan 3 hari

Serum yang disimpan selama 3 hari adalah serum yang didapatkan setelah sentrifugasi darah tanpa antikoagulan kemudian dipindahkan ke dalam cup serum untuk dibagi menjadi dua perlakuan

penyimpanan, yaitu disimpan pada suhu 2-8°C dan disimpan beku dalam *freezer*. Sebelum dilakukan pemeriksaan kadar ureum, serum akan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit.

Satuan : Hari

Skala : Rasio

2. Variabel Terikat

Ureum adalah produk akhir atau produk limbah dari metabolisme asam amino. Ureum dibentuk di hati dalam siklus urea, yaitu siklus reaksi yang mengubah ammonia (NH_3^+) menjadi urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$). Meningkatnya kadar urea yang tinggi dalam darah menunjukkan adanya masalah pada ginjal (Loho, dkk., 2016).

Satuan : mg/dL

Skala : Rasio

3. Variabel Pengganggu

- a) Serum hemolisis adalah serum yang mengandung hemoglobin bebas karena pecahnya sel darah merah karena kesalahan penanganan sampel sehingga serum berwarna merah.
- b) Serum lipemik adalah serum yang berwarna putih susu karena penumpukan lipoprotein karena kadar trigliserida yang tinggi dalam darah.
- c) Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning karena kadar bilirubin yang tinggi.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Jenis data dalam penelitian ini adalah menggunakan data primer. Data primer adalah data yang didapatkan dari penelitian secara langsung oleh peneliti dengan sampel yang didapatkan dari serum darah mahasiswa Diploma III Jurusan Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Pengumpulan data dilakukan dengan cara observasi dan pengukuran kadar ureum dengan spektrofotometer *Genesys 10S UV-Vis*.

H. Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Jarum suntik 3 cc
- b. *Torniquet*
- c. Alkohol swab
- d. Kertas kering
- e. Tabung *vacutainer plain clot activator* (tutup merah)
- f. *Timer*
- g. Kuvet
- h. Cup serum
- i. *Refrigerator*
- j. *Freezer*
- k. Mikropipet
- l. Tip mikropipet
- m. *Centrifuge*

n. Spektrofotometer *Genesys 10S UV-Vis*

2. Bahan

a. Sampel darah *whole blood*

b. Aquades

c. Reagen kit ureum

I. Uji Validitas dan Reliabilitas

Alat yang digunakan untuk pengukuran pada penelitian ini adalah spektrofotometer *Genesys 10S UV-Vis*. Uji validitas pada alat ini menggunakan bahan serum kontrol sebanyak satu kali sebelum pemeriksaan sampel dilakukan. Validitas hasil pemeriksaan dengan spektrofotometer *Genesys 10S UV-Vis* dibuktikan dengan hasil serum kontrol normal.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan

- a. Mengurus surat *ethical clearance* di Komisi Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta
- b. Mengurus izin peminjaman laboratorium kimia klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta
- c. Mempersiapkan *informed consent* subjek penelitian
- d. Mempersiapkan alat, bahan dan reagen pemeriksaan kadar ureum
- e. Mempersiapkan pencatatan hasil pemeriksaan

2. Tahap pelaksanaan

a. Pengambilan darah vena

- 1) Sampling darah vena sesuai standar prosedur operasional (SOP)
- 2) Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung merah plain

b. Pembuatan serum

- 1) Darah di dalam tabung didiamkan beku selama 10 menit
- 2) Tabung dimasukkan ke dalam *centrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm
- 3) Serum dipisahkan dari sel darah merah ke cup serum dengan pipet menjadi dua bagian, untuk disimpan pada suhu 2-8°C dan untuk disimpan beku di *freezer*
- 4) Cup serum diberi label

3. Prosedur penyimpanan

- a. Mencatat suhu ruang pada perlakuan serum yang langsung diperiksa kadar ureum
- b. Mencatat suhu pada *refrigerator* dan *freezer* pada saat serum dimasukkan dan saat dikeluarkan untuk kemudian dilakukan perhitungan suhu rata-rata *refrigerator* dan *freezer* sebagai data pengaturan suhu
- c. Serum diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit sebelum diperiksa

4. Prosedur pemeriksaan ureum

- a. Monoreagen dibuat menggunakan 4 bagian reagen 1 dan 1 bagian reagen 2, sebagai contoh 20 ml reagen 1 dan 5 ml reagen 2
- b. Monoreagen diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang sebelum digunakan
- c. Reagen dan sampel dipipet ke dalam kuvet sejumlah:

Tabel 2. Prosedur Pemeriksaan Kadar Ureum

	Kuvet Blanko	Kuvet Standar	Kuvet Sampel
Monoreagen	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ
Larutan standar	-	10 μ l	-
Serum	-	-	10 μ l

- d. Campur hingga homogen
- e. Blanko, standar dan sampel pemeriksaan dibaca secara berurutan di spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm
- f. Standar dan sampel diinkubasi selama 60 detik kemudian dibaca absorbansi A1
- g. Absorbansi A2 dibaca setelah 60 detik kemudian
- h. Catat hasil absorbansi kemudian dilakukan perhitungan kadar

K. Manajemen Data

Menurut Supranto (2000), data primer merupakan data yang dikumpulkan kemudian diolah sendiri oleh suatu organisasi atau individu secara langsung dari objek yang diteliti. Data primer dari penelitian ini berupa data hasil pemeriksaan kadar ureum yang segera diperiksa dan disimpan selama 3 hari pada suhu 2-8°C dan disimpan beku di *freezer*

sebelum diperiksa. Data-data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan statistik.

1. Analisis deskriptif

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan rata-rata variabel terikat yang pada penelitian ini adalah kadar ureum, standar deviasi (SD), nilai minimum dan maksimum setiap kelompok perlakuan yang pada penelitian ini adalah kelompok segera, disimpan pada suhu 2-8°C selama 3 hari dan disimpan beku selama 3 hari. Hasil analisis deskriptif kemudian disajikan dalam bentuk tabel.

2. Analisis statistik

Uji *Shapiro-Wilk* dilakukan untuk menguji normalitas data dikarenakan jumlah data penelitian kurang dari 50 data. Hasil uji normalitas kadar ureum pada serum segera diperiksa, disimpan selama 3 hari pada suhu 2-8°C dan disimpan beku di *freezer* berdistribusi normal apabila nilai signifikan, yaitu p lebih besar dari nilai *Asymp Sig.* 0.05, sedangkan data tidak berdistribusi normal apabila nilai p kurang dari nilai *Asymp Sig.* 0.05. Apabila data hasil penelitian berdistribusi normal maka akan dilanjutkan dengan uji lebih dari dua sampel berpasangan atau *ANOVA*, sedangkan apabila data tidak berdistribusi normal maka akan dilanjutkan dengan uji non parametrik *Friedmann*. Data kemudian dianalisis persentase *mean differences* antara serum segera diperiksa dengan disimpan selama 3 hari pada suhu 2-8°C dan

serum segera diperiksa dengan disimpan selama 3 hari beku di *freezer*.

Kebermaknaan klinis disimpulkan berdasarkan pedoman klinis dari *Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)*.

L. Etika Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah serum dari mahasiswa Diploma III Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Responden akan mendapatkan lembar penjelasan sebelum persetujuan (PSP) dan surat persetujuan (*informed consent*) kesediaan sebelum dilakukannya sampling. Peneliti menjamin bahwa informasi terkait serum akan terjaga kerahasiaannya dengan cara tidak menyebutkan identitas responden. Hasil dari penelitian ini hanya akan digunakan untuk kepentingan akademis dan tidak dipergunakan untuk kepentingan komersial. Penanganan sisa serum dari penelitian ini akan ditangani secara khusus sesuai dengan standar operasional prosedur (SOP) penanganan limbah medis sehingga tidak akan membahayakan lingkungan dan orang sekitar. Penelitian ini membutuhkan *ethical clearence* yang diperoleh dengan mengajukan penelitian kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komite etik dengan dikeluarkannya surat *ethical clearence* No.DP.04.04/e-KEPK.1/566/2025.