

BAB III

METODE PENELITIAN

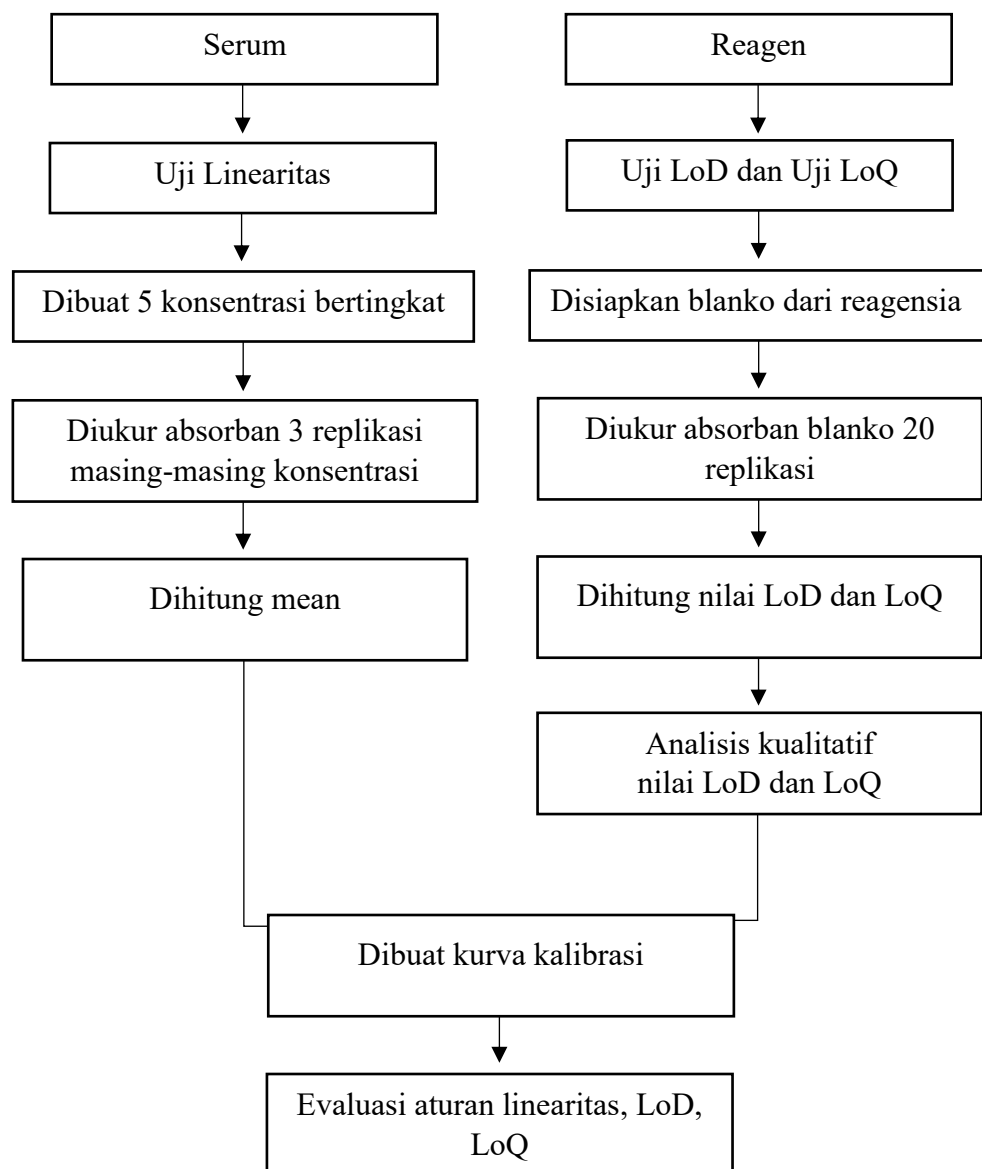
A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian deskriptif analitik yaitu suatu penelitian yang bertujuan memberikan gambaran tentang realitas pada objek yang diteliti secara objektif. Penelitian ini dikatakan sebagai penelitian deskriptif analitik karena bertujuan untuk memberikan deskripsi atau gambaran kinerja metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase-Peroxidase Aminoantipirin*) dengan penggunaan seperempat volume reagen dan sampel untuk pemeriksaan glukosa darah.

B. Sampel Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel volume yang dimodifikasi. Sampel volume yang dimodifikasi adalah seperempat volume reagen yaitu 250 µl dan seperempat volume sampel yaitu 2,5 µl.

C. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Waktu penelitian yaitu 21 Maret 2025 dan 10 April 2025.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

E. Batasan Istilah

1. Metode GOD-PAP

Metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase-Peroxidase Aminoantipirin*) adalah teknik enzimatik untuk mengukur kadar glukosa dalam sampel darah menggunakan enzim glukosa oksidase dan peroksidase yang menghasilkan warna yang diukur dengan spektrofotometer.

Satuan : -

Skala data : -

2. Seperempat volume reagen dan sampel

Seperempat volume adalah pengurangan volume reagen dan sampel menjadi $\frac{1}{4}$ dari volume standar dalam protokol metode GOD-PAP tanpa mengubah rasio antara reagen dan sampel.

Satuan : μL

Skala data : Rasio

3. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode untuk menghasilkan hubungan linier antara konsentrasi glukosa (analit) dalam sampel dengan respon instrumen (nilai absorbansi) dalam rentang konsentrasi tertentu menggunakan metode GOD-PAP dengan seperempat volume reagen dan sampel.

Satuan : -

Skala : -

4. *Limit of Detection* (LoD)

LoD adalah konsentrasi glukosa terendah yang masih dapat dideteksi oleh metode GOD-PAP dengan seperempat volume reagen dan sampel, tetapi belum tentu dapat dikuantifikasi secara akurat.

Satuan : mg/dL

Skala : Rasio

5. *Limit of Quantitation* (LoQ)

LoQ adalah konsentrasi glukosa terendah yang dapat dikuantifikasi dengan presisi dan akurasi yang memadai menggunakan metode GOD-PAP dengan seperempat volume reagen dan sampel.

Satuan : mg/dL

Skala : Rasio

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu data uji linearitas yang dilakukan dengan membuat 5 seri konsentrasi sampel (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) masing-masing konsentrasi diukur sebanyak 3 replikasi dalam satu hari (Westgard, 2023). Kemudian uji LoD dan LoQ dilakukan dengan pengukuran blanko sebanyak 20 replikasi dalam satu hari (CLSI, 2012).

G. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

- a. Fotometer Semi-Auto Mindray BA-88A
- b. Kuvet
- c. Vortex
- d. Sentrifuge
- e. Stopwatch
- f. Mikrotube 1,5 ml
- g. Mikropipet 0,5 - 10 μ l
- h. Mikropipet 10 - 100 μ l
- i. Mikropipet 1000 μ l
- j. White tip

- k. Yellow tip
 - l. Blue tip
 - m. Spuit 3 cc
 - n. Tabung vacutainer plain
 - o. Plester bulat
 - p. Alkohol swab
 - q. Tourniquet
2. Bahan Penelitian
- a. Serum kadar glukosa antara 250-300 mg/dL
 - b. NaCl 0,9%
 - c. Reagen kerja GOD-PAP (*Glucose Oxidase – Peroxidase Aminoantipirin*)

H. Uji Validasi Instrumen

Alat ukur yang digunakan pada penelitian ini adalah fotometer Semi-Auto Mindray BA-88A . Uji validitas pada alat ini diuji dengan serum kontrol sebanyak satu kali sebelum dilakukan pemeriksaan sampel. Validitas hasil pemeriksaan dengan alat ukur tersebut dibuktikan dengan hasil serum kontrol sesuai.

I. Prosedur Penelitian

- 1. Uji Linearitas (Westgard, 2023).
 - a. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.

- b. Dilakukan perhitungan untuk membuat seri pengenceran konsentrasi (0%, 25%, 50%, 75%, 100%). Pengenceran dapat dilakukan dengan cara mengikuti formulasi berikut (Wulandari dan Yulkifli, 2018):

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume mula-mula

M_1 = Konsentrasi mula-mula

V_2 = Volume akhir

M_2 = Konsentrasi akhir

- c. Dibuat seri pengenceran serum dengan menggunakan NaCl 0,9%.
- d. Disiapkan mikrotube bersih kemudian pipet konsentrasi dengan perlakuan sebagai berikut :

Tabel 2. Pemipetan Bahan Pemeriksaan Uji Linearitas

Perlakuan	0%	25%	50%	75%	100%
Serum (μ l)	2,5 μ l	2,5 μ l	2,5 μ l	2,5 μ l	2,5 μ l
Reagensia (μ l)	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l

- e. Dihomogenkan, baca absorban pada panjang gelombang 546 nm setelah 10 menit dengan suhu 37°C.
- f. Dilakukan dengan prosedur yang sama sampai dengan 3 replikasi.
- g. Dicatat hasil pemeriksaan kemudian dilakukan perhitungan mean pada setiap konsentrasi.
- h. Dibuat kurva kalibrasi.
- i. Dievaluasi hasil uji dengan aturan yang sesuai ($R^2 = > 0,997$).

2. Uji LoD, LoQ (CLSI, 2012).

- a. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Disiapkan mikrotube bersih kemudian pipet dengan perlakuan sebagai berikut :

Tabel 3. Pemipetan Blanko Uji LoD dan LoQ

Perlakuan	Blanko
Serum (μl)	-
Standar (μl)	-
Reagensia (μl)	250 μl

- c. Dibaca absorban pada panjang gelombang 546 nm dengan fotometer sebanyak 20 replikasi.
 - d. Dicatat hasil pemeriksaan kemudian dilakukan perhitungan nilai LoD dan LoQ dengan rumus.
 - e. Dievaluasi hasil uji dengan aturan yang sesuai (diterima jika LoD dan LoQ < batas nilai normal terendah dan LoD < LoQ, LoQ > LoD).
 - f. Dimasukkan nilai LoD dan LoQ pada kurva kalibrasi linearitas.
 - g. Dilakukan analisis kualitatif nilai LoD dan LoQ.
3. Analisis Kualitatif LoD dan LoQ (Eurachem, 2014).
- a. Dibuat 7 konsentrasi disekitar nilai LoD dan LoQ dengan melakukan pengenceran dengan NaCl 0,9%.
 - b. Dilakukan pembacaan absorban pada panjang gelombang 546 nm dengan menggunakan 250 μl reagen dan 2,5 μl sampel. Masing-masing konsentrasi dilakukan 10 replikasi pembacaan absorban.

- c. Dicatat jumlah positif (absorban terbaca oleh alat) dan negatif (absorban tidak terbaca oleh alat) dari 10 replikasi yang dilakukan pada masing-masing konsentrasi.
- d. Dibuat persen positif lalu dibuat kurva kalibrasi.
- e. Dievaluasi hasil uji dengan aturan yang sesuai (negatif < 5%).

4. Ringkasan Prosedur

Tabel 4. Ringkasan Prosedur

Uji	Sampel	Replikasi	Data	Aturan
Linearitas	5 konsentrasi pengenceran (Westgard)	3 setiap konsentrasi (Westgard)	$y = bx + a$ (Riyanto, 2014)	$R^2 = >0,997$ (Riyanto, 2014)
LoD	Blanko reagen (CLSI EP 17-A2)	20 (CLSI EP 17-A2)	Absorban LoD (Y) $= (\bar{x}) \text{ blanko} + 3SD \text{ blanko}$ Konsentrasi LoD (X) $= \frac{(y-a)}{b}$ (Nurhayati dkk, 2019)	LoD < LoQ, LoD < batas nilai normal terendah. (Nurhayati dkk, 2019)
LoQ	Blanko reagen (CLSI EP 17-A2)	20 (CLSI EP 17-A2)	Absorban LoQ (Y) $= 3LoD$ Konsentrasi LoQ (X) $= \frac{(y-a)}{b}$ (Nurhayati dkk, 2019)	LoQ > LoD, LoQ < batas nilai normal terendah (Nurhayati dkk, 2019)
Analisis Kualitatif LoD dan LoQ	7 konsentrasi disekitar nilai LoD dan LoQ (Eurachem)	10 setiap konsentrasi (Eurachem)	Positif / negatif (%) (Eurachem)	Negatif < 5% (Eurachem)

J. Manajemen Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini dianalisis menggunakan teknik analisis deskriptif dan statistik. Analisis deskriptif digunakan untuk menggambarkan karakteristik data, sedangkan analisis statistik untuk menguji validitas metode.

Data uji linearitas, LoD dan LoQ disajikan dalam tabel untuk mendukung interpretasi hasil. Kemudian kurva kalibrasi dibuat berdasarkan data. Hasil validasi ini digunakan untuk memastikan keandalan metode GOD-PAP dengan penggunaan seperempat volume reagen dan sampel.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan memperoleh Surat Keterangan Layak Etik dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/550/2025. Surat Keterangan Layak Etik menyebutkan bahwa penelitian ini dinyatakan layak etik sesuai 7 standar WHO 2011.