

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

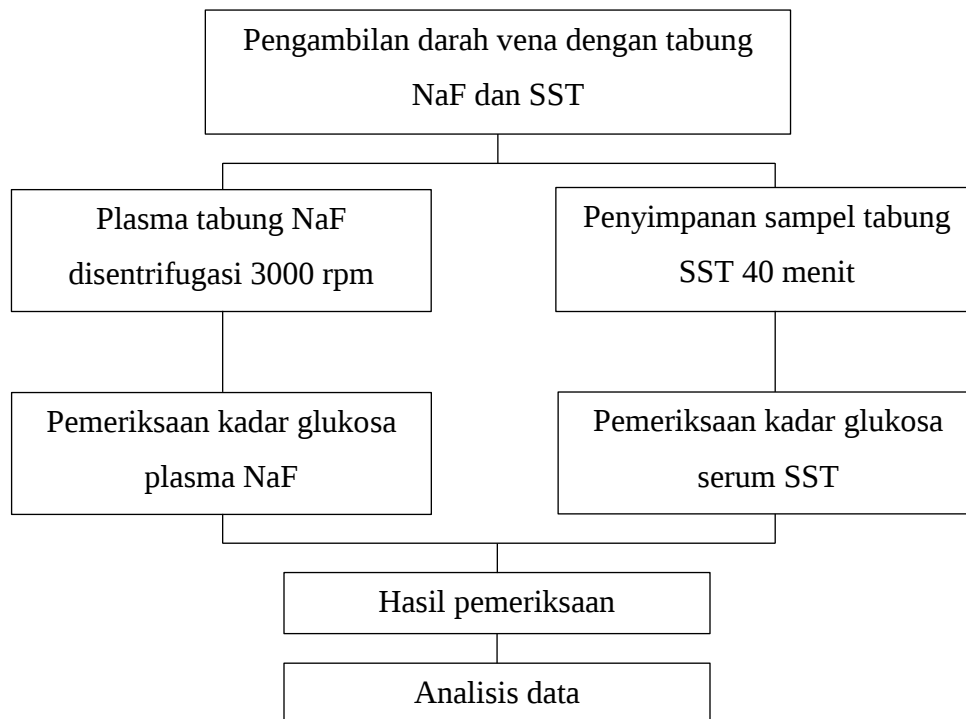
Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian yang bersifat observasional analitik. Penelitian observasional adalah penelitian yang bukan merupakan eksperimen sungguh-sungguh. Pada penelitian observasional analitik ini, peneliti berupaya mencari hubungan antar variabel dengan menganalisis data yang sudah terkumpul (Sugiyono, 2015).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah *cross sectional*, pada penelitian ini melakukan observasi atau pengukuran variabel pada suatu saat tertentu artinya setiap subjek hanya diobservasi sekali dan pengukuran variabel subjek dilakukan pada saat pemeriksaan tersebut sehingga peneliti tidak melakukan tindak lanjut terhadap pengukuran yang dilakukan (Sastroasmoro, 2010). Pendekatan ini digunakan dengan tujuan membandingkan hasil pemeriksaan kadar glukosa plasma NaF yang segera diperiksa dan serum SST yang didiamkan 40 menit.

B. Alur Penelitian

Alur penelitian ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Alur Penelitian

C. Subjek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah sampel plasma dan serum Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

2. Objek Penelitian

Objek dari penelitian ini adalah kadar glukosa dari sampel darah vena Mahasiswa Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Teknik pengambilan

spesimen dilakukan pada semua responden yang datang dan memenuhi kriteria inklusi sampai jumlah responden yang dipeluka terpenuhi.

Kriteria yang dibutuhkan:

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi atau ciri-ciri yang perlu dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil sebagai sampel (Notoatmodjo, 2010).

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah:

- 1) Responden bersedia berpartisipasi dalam penelitian
- 2) Responden mengisi *informed consent*
- 3) Responden dalam keadaan sehat dibuktikan dengan mengisi kuesioner penelitian
- 4) Responden tidak memiliki riwayat penyakit diabetes mellitus.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kriteria atau ciri-ciri anggota populasi yang tidak dapat diambil sebagai sampel (Notoatmodjo, 2010).

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah:

1) Sampel hemolisis

Hemolisis dapat terjadi akibat pecahnya eritrosit darah ke dalam plasma atau serum (WHO, 2002). Tingkat hemolisis yang dapat mengganggu pemeriksaan adalah saat kadar haemoglobin dalam serum atau plasma > 1 mg/dl. Variabel pengganggu ini dapat

dikendalikan dengan tidak menggunakan sampel hemolisis (Kemenkes, 2010).

2) Sampel lipemik

Lipemik merupakan kekeruhan serum atau plasma yang disebabkan oleh peningkatan konsentrasi lipoprotein (WHO, 2002). Sampel lipemik dapat memberikan gangguan pada analisis spektrofotometri, efek pengukuran volume dan gangguan oleh mekanisme fisiokimia. Tingkat hemolisis yang dapat mengganggu pemeriksaan adalah kadar intralipid dalam serum atau plasma > 200 mg/dl. Variabel pengganggu ini dapat dikendalikan dengan tidak menggunakan sampel lipemik (Kemenkes, 2010).

3) Sampel ikterik

Terjadi karena kadar bilirubin terkonjugasi di dalam serum atau plasma (WHO, 2002). Tingkat ikterik yang dapat mengganggu pemeriksaan adalah saat kadar bilirubin dalam serum atau plasma > 60 mg/dl. Variabel pengganggu ini dapat dikendalikan dengan tidak menggunakan sampel plasma yang ikterik (Kemenkes, 2010).

4) Volume sampel kurang atau tidak cukup

3. Besar Sampel

Sugiyono (2011) mengemukakan bahwa ukuran sampel yang layak untuk penelitian adalah antara 30-500 sampel. Ukuran tersebut menunjukkan bahwa minimal sampel yang dibutuhkan adalah 30 sampel. Oleh karena itu, pada penelitian ini besaran sampel yang akan diambil adalah 30 sampel dan menggunakan 60 data.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini terlaksana pada bulan Januari-Maret tahun 2025

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

E. Variable Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu tabung SST yang didiamkan 40 menit dan tabung NaF yang segera diperiksa.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar glukosa.

F. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel Bebas

- a. Tabung SST menghasilkan serum yang digunakan dalam uji kimia klinis dengan cara didiamkan membentuk gumpalan pada suhu ruang selama 30-60 menit.
- b. Tabung NaF menghasilkan plasma yang mengandung natrium fluoride, berfungsi sebagai antikoagulan untuk menghambat glikolisis.

Skala : Nominal

Satuan: mg/dL

2. Variabel Terikat

Kadar glukosa adalah banyaknya glukosa dalam darah, dengan cara diperiksa menggunakan metode GOD-PAP yang dianggap ketelitiannya lebih tinggi sehingga diperoleh hasil yang akurat, dan jenis pemeriksaan yang akan digunakan yaitu GDP. Alat pada pemeriksaan glukosa menggunakan metode ini adalah spektrofotometer.

Skala : Rasio

Satuan : mg/dL

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer.

Data primer merupakan data yang diambil dan dikumpulkan oleh

peneliti secara langsung dari sumber datanya. Data primer disebut juga sebagai data asli atau data baru yang memiliki sifat *up to date*. Data ini diperoleh dari hasil pengukuran kadar glukosa pada plasma NaF yang segera diperiksa dan sampel darah SST yang didiamkan 40 menit.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data observasi dari hasil pengukuran kadar glukosa dengan plasma NaF yang segera diperiksa dan sampel darah SST yang didiamkan selama 40 menit.

H. Alat Ukur atau Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat ukur instrument penelitian yang digunakan meliputi :

- a. Spektrofotometer
- b. Kuvet
- c. *Sentrifuge*
- d. *Tourniquet*
- e. Tabung NaF dan SST
- f. *Yellow tip*
- g. *Blue tip*
- h. Holder
- i. *Vacu Needle*
- j. Mikropipet 10 μ l dan 100 μ l

2. Bahan penelitian

- a Sampel plasma NaF dan serum SST
- b Reagen kit glukosa
- c Aquades
- d Kapas
- e Alkohol *swab*
- f Plester

I. Uji Validitas Instrumen

Melakukan pengukuran kadar glukosa plasma NaF dan serum SST dengan spektrofotometer menggunakan serum control sebanyak satu kali sehari sebelum alat digunakan untuk pemeriksaan sampel. Selanjutnya membandingkan hasil pemeriksaan kadar glukosa plasma NaF menggunakan serum kontrol dengan nilai rujukan pada prosedur kit, apakah masuk dalam rentang nilai atau tidak. Jika hasil pemeriksaan dengan serum SST tidak masuk dalam nilai rentang normal, maka dapat diperkirakan pendiaman serum SST selama 40 menit dapat menurunkan glukosa, tetapi harus dilakukan evaluasi kembali. Evaluasi dilakukan terhadap alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini seperti reagen glukosa yang digunakan, spektrofotometer dan melakukan evaluasi terhadap langkah-langkah pemeriksaan kadar glukosa apakah sudah sesuai dengan prosedur kerja.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan

a. Perizinan

Perizinan yang diperlukan adalah menggunakan Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

b. Persiapan alat, bahan dan pengadaan reagen KIT glukosa

c. Persiapan formulir pencatatan

2. Tahap pelaksanaan

a. Uji validasi

- 1) Mempersiapkan alat yang akan digunakan (mikropipet, kuvet, yellow tip, blue tip dan spektrofotometer)
- 2) Mempersiapkan bahan yang digunakan (serum kontrol, reagen kit glukosa darah dan aquades)
- 3) Serum control glukosa darah dilakukan pemeriksaan dengan spektrofotometer setiap kali sebelum pemeriksaan kadar glukosa plasma NaF dan serum SST dari subjek penelitian
- 4) Membandingkan hasil pemeriksaan kadar glukosa plasma NaF dan serum SST menggunakan serum control dengan nilai rujukan yang terdapat pada prosedur kit. Jika hasil pemeriksaan masuk dalam rentang nilai normal, maka

spektrofotometer dapat digunakan dalam pemeriksaan sampel subyek penelitian.

b. Tahap pelaksanaan

1) Pengambilan darah vena

Pengambilan darah vena sebanyak 3 ml pada setiap responden. Pengambilan sampel akan digunakan untuk pemeriksaan sebaiknya dilakukan dengan baik dan benar sehingga bisa mewakili keadaan sebenarnya. Menurut Riswanto (2013), tahap-tahap pengambilan darah vena sebagai berikut :

- a) Siapkan alat-alat yang akan digunakan
- b) Mintalah pasien untuk duduk dengan tenang. Posisi tangan lurus, telapak tangan menghadap ke atas
- c) Pasang tourniquet kira-kira 3-4 jari diatas lipatan siku dan pasien diminta mengepalkan tangannya
- d) Penelitian melakukan palpasi untuk menentukan letak vena (vena yang dipilih bagian median kubital)
- e) Desinfeksi kulit dengan alcohol swab 70% dan biarkan mengering. Jangan pegang daerah yang sudah dibersihkan dengan alkohol *swab*

- f) Posisikan holder dan jarumnya dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas. Lakukan pungsi vena, jangan ragu-ragu.
 - g) Tabung vakum SST lalu dimasukkan secara perlahan, bisa di dorong dengan ibu jari, lepas tourniquet perlahan
 - h) Secara perlahan lepaskan tabung vakum dari tabung evakuasi yang ada dalam holder
 - i) Ulangi langkah g dan h menggunakan tabung NaF
 - j) Letakkan kapas kering selama beberapa menit pada bekas tusukan lalu tarik jarum perlahan dan plester
 - k) Beri identitas dan label pada tabung vacutainer
 - l) Diamkan sampel darah pada tabung SST selama 40 menit untuk memisahkan darah dengan serum
 - m) Serum siap diperiksa
- 2) Tahap penanganan dan pengolahan plasma
- a) Mengambil sampel darah sebanyak 3 ml pada pasien setiap responden lalu dimasukkan ke dalam tabung NaF
 - b) Memasukkan tabung vaku NaF ke dalam sentrifuge lalu diputar dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit

- c) Plasma siap diperiksa
- 3) Tahap penanganan dan pengelolaan serum
 - a) Mengambil sampel darah sebanyak 3 ml pada pasien setiap responden lalu dimasukkan ke dalam tabung SST
 - b) Diamkan tabung SST selama 40 menit untuk memisahkan darah dengan serum
 - c) Serum siap diperiksa
- 4) Tahap pemeriksaan kadar glukosa plasma NaF dan serum serum
 - a) Metode : Enzimatik Kolorimetri GOD-PAP

Prinsip pemeriksaan kadar glukosa yaitu glukosa diokdasi secara enzimatik menggunakan enzim GOD (glukosa oksidase), membentuk asam glukonik dan H_2O_2 kemudian bereaksi dengan 4-aminoantipirin dengan enzim peroksidase (POD) sebagai katalisator membentuk quinoeimin (merah-violet). Intensitas warna yang terentuk sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam sampel dan diukur secara spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm (*Glory Diagnostics*, 2018).

5) Cara kerja pemeriksaan

Tabel 1. Cara pemeriksaan kadar glukosa

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Sampel	-	-	10 µl
Standar	-	10 µl	-
Aquades	10 µl	-	-
Reagen	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Sumber: *Glory Diagnostics, 2018*.

6) Nilai rujukan glukosa darah

Tabel 2. Nilai rujukan kadar glukosa darah

Kategori Dewasa	Kadar Glukosa (mg/dL)
Glukosa Darah Sewaktu	≤ 140 mg/dL
Glukosa Puasa	70-110 mg/dL
Glukosa Post Prandial	≤ 140 mg/dL

Sumber: *Glory Diagnostics, 2018*.

7) Rumus perhitungan kadar glukosa

$$\text{Kadar Glukosa (mg/dl)} = \frac{A \text{ Sampel}}{A \text{ Standar}} \times \text{konst. standar}$$

K. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk grafik dengan satuan mg/dL. Selanjutnya, data dianalisis secara deskriptif dalam perhitungan penyebaran data melalui perhitungan rata-rata glukosa menggunakan tabung SST dan NaF.

2. Analisis Statistik

Data yang diperoleh dan diolah menggunakan program SPSS 16.0 Data tersebut di uji normalitas datanya terlebih dahulu dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui apakah data distribusi normal atau tidak. Data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikan yaitu $p \geq \alpha$ (0,05) sedangkan data tidak berdistribusi normal jika nilai signifikan yaitu $p < \alpha$ (0,05).

Hasil data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji t 2 sampel berpasangan atau *Paired Sampel T-test*. Apabila data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametric menggunakan *Wilcoxon*. Uji ini dilakukan untuk membuktikan ada tidaknya pengaruh perlakuan penelitian dan hasilnya diuraikan dengan jawaban sementara yang termuat pada hipotesis. Kesimpulan yang diambil berdasarkan nilai *Sig* yang diperoleh untuk mengetahui apakah hipotesis diterima atau ditolak. Apabila diperoleh nilai *Sig* $p \geq \alpha$ (0,05) maka H_0 diterima dan apabila nilai *Sig* $p < \alpha$ (0,05) maka H_0 ditolak. Kemudian data dianalisis persentase *means differences* antara plasma NaF yang segera diperiksa dengan serum SST yang didiamkan selama 40 menit sebelum disentrifuge dengan menyimpulkan kebermanaknaan klinis berdasarkan pedoman klinis dari *Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)*.

L. Etika Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel darah manusia dan dilakukan dengan sejujur-jujurnya berdasarkan fakta yang terjadi di lapangan. Penelitian ini dilakukan dengan etika penelitian antara lain :

1. Kaji Etik

Mengajukan kaji etik kepada Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

2. Surat Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP) Peneliti akan menjelaskan maksud, tujuan serta prosedur penelitian yang akan dilakukan secara singkat dan jelas. Partisipasi calon subjek bersifat sukarela. Peneliti akan menjamin kerahasiaan identitas serta informasi lain mengenai calon subjek sehingga calon subjek tidak perlu khawatir.

3. Surat Persetujuan menjadi Subjek Penelitian

Peneliti akan menjelaskan maksud serta tujuan penelitian kepada calon subjek penelitian. Apabila calon subjek penelitian bersedia menjadi sampel penelitian, maka calon subjek diminta untuk menandatangani *informed consent*. Peneliti tidak akan melakukan pemaksaan kepada mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta sehingga subjek penelitian didapatkan berdasarkan kesukarelaan.