

BAB III

METODE PENELITIAN

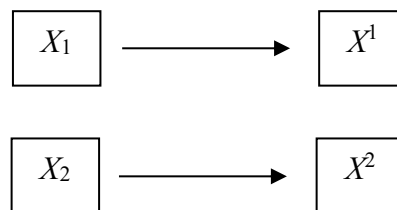
A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasional analitik. Penelitian observasional analitik digunakan untuk menganalisis hubungan atau perbedaan variabel sebagaimana adanya pada kondisi alami (Kemenkes RI, 2017).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*, memungkinkan peneliti memperoleh gambaran perbandingan hasil antara dua perlakuan atau kelompok pada satu waktu pengukuran, tanpa harus melakukan tindak lanjut atau intervensi berulang. Desain *cross sectional* memungkinkan pengukuran dilakukan pada waktu yang sama (serentak) (Kemenkes RI, 2017).



Gambar 6. Desain Penelitian

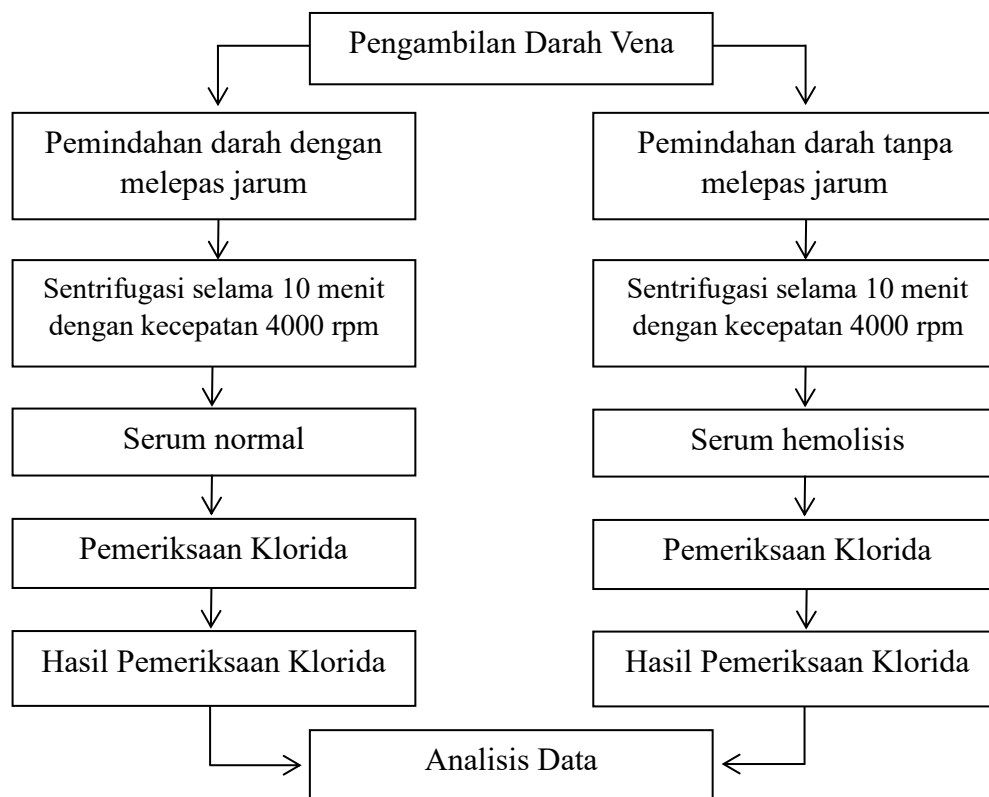
Keterangan:

X_1 = Teknik transfer darah dengan melepas jarum

X_2 = Teknik transfer darah tanpa melepas jarum

X^1 dan X^2 = Nilai kadar klorida

B. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa semester akhir Prodi Program Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Populasi tersebut dipilih karena memiliki pemahaman dasar tentang prosedur pengambilan dan penanganan spesimen darah, sehingga meminimalkan kesalahan teknis selama proses penelitian.

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah mahasiswa semester 7 kelas RPL dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Sampel pemeriksaan yang digunakan berupa serum darah, yang diperoleh dari hasil sentrifugasi darah vena responden. Pemilihan sampel dilakukan agar mewakili kondisi fisiologis normal dan tidak

dipengaruhi oleh faktor patologis yang dapat mengganggu hasil pemeriksaan kadar klorida.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Tidak memiliki riwayat penyakit yang dapat menyebabkan hemolisis serum, seperti anemia hemolitik atau riwayat *incompatible blood transfusion*, serta tidak memiliki vena yang rapuh.
- 2) Tidak mengonsumsi makanan atau minuman tinggi elektrolit, 8-12 jam sebelum pemeriksaan.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Sampel menunjukkan kondisi lipemik (keruh akibat kadar lemak tinggi).
- 2) Sampel menunjukkan kondisi ikterik (berwarna kuning akibat kadar bilirubin tinggi).

3. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah purposive sampling, yaitu metode penentuan sampel berdasarkan kriteria tertentu yang relevan dengan tujuan penelitian.

4. Perhitungan Besar Sampel

Penentuan ukuran sampel dalam penelitian ini menggunakan acuan teoretis dari Sugiyono (2018). Jika subjek penelitian kurang dari 100, sebaiknya diambil semua sehingga penelitiannya merupakan penelitian populasi total sampling. Namun, apabila subjek penelitian berjumlah besar, maka dapat diambil sampel dengan mempertimbangkan prinsip dasar bahwa ukuran sampel minimal yang memadai untuk analisis statistik adalah 30 subjek per-variabel atau kelompok.

Dengan demikian, jumlah minimal sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini yaitu sebanyak 30 sampel, dengan dua perlakuan, maka jumlah pengulangan keseluruhan yaitu $30 \times 2 = 60$ data sampel. Jumlah ini dianggap cukup untuk memenuhi syarat ketelitian dan kredibilitas hasil penelitian.

D. Waktu dan Tempat

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2026.

2. Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dan Laboratorium Patologi Klinik RSUD Sleman.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah teknik transfer darah dari spuit ke tabung pemeriksaan, dengan melepas jarum spuit dan tanpa melepas jarum spuit.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar klorida serum, yaitu hasil pemeriksaan klorida yang diperoleh dari masing-masing teknik transfer darah.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: Teknik transfer darah

Melakukan pemindahan sampel darah dari spuit ke tabung yang dilakukan dengan dua cara, yaitu jarum dilepas kemudian darah dituangkan perlahan ke dinding tabung, dan jarum tidak dilepas sehingga darah dimasukkan melalui stopper tabung.

Satuan : -

Skala data : Nominal

2. Variabel terikat: Kadar klorida serum

Pemeriksaan konsentrasi ion klorida (Cl^-) yang terkandung dalam serum darah vena setelah proses pemisahan melalui sentrifugasi.

Satuan : mmol/L

Skala data : Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan adalah data primer, yaitu hasil pemeriksaan langsung kadar klorida serum dari dua teknik transfer darah (dengan dan tanpa pelepasan jarum) menggunakan metode *Ion Selektive Electrode* (ISE) (Rinaldi & Mujianto, 2017).

2. Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan melalui pemeriksaan laboratorium yang dibagi menjadi tiga tahapan inti:

a. Penerapan Perlakuan

Penerapan variable bebas dilakukan dengan membagi sampel darah untuk dua teknik transfer. Transfer dari spuit ke tabung vakum tanpa melepas jarum, dan transfer setelah jarum spuit dilepaskan.

b. Pengukuran Hemolisis Serum

Hemolisis serum diukur setelah sampel disentrifugasi. Pengukuran dilakukan secara visual (semi-kuantitatif) dengan mencatat perubahan warna kemerahan pada serum, yang mengindikasikan tingkat pecahnya eritrosit akibat perlakuan transfer darah.

c. Pengukuran Kadar Klorida Serum

Kadar klorida serum diukur sebagai hasil utama menggunakan Elektrolit Analyzer dengan metode ISE.

H. Alat Ukur dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Spuit (*syringe*) 5 mL
- b. *Tourniquet*
- c. Alcohol swab
- d. *Vacutainer tube* tanpa antikoagulan
- e. Kapas
- f. Sentrifugasi
- g. Tabung sentrifugasi dan rak
- h. Mikropipet dan tip

- i. Elektrolit analyzer
 - j. Tisu
2. Bahan
- a. Sampel serum
 - b. Reagen pemeriksaan
 - c. Kontrol Kualitas (QC) dan blank

I. Uji Validitas dan Reliabilitas

1. Uji Validitas

Uji validitas dilakukan untuk memastikan bahwa alat ukur, yaitu *electrolyte analyzer*, mampu memberikan hasil yang akurat sesuai dengan nilai rujukan. Validitas diuji menggunakan *quality control* (QC) dengan serum kontrol komersial Assayed sebelum pemeriksaan kadar klorida serum dilakukan. Nilai hasil QC dibandingkan dengan rentang nilai rujukan yang tercantum pada kit serum kontrol. Apabila hasil QC berada dalam rentang tersebut, maka alat dinyatakan valid. Namun, apabila hasil tidak sesuai, perlu dilakukan evaluasi terhadap alat, bahan yang digunakan, serta seluruh prosedur kerja untuk memastikan tidak ada kesalahan teknis atau gangguan pada alat.

2. Uji Reliabilitas

Uji reliabilitas dilakukan untuk menilai konsistensi hasil pengukuran yang dihasilkan oleh alat. Reliabilitas ditentukan berdasarkan kestabilan nilai QC yang dijalankan secara berulang. Jika hasil QC konsisten dan tetap berada dalam rentang nilai rujukan pada setiap pemeriksaan, maka alat dianggap reliabel dan mampu memberikan hasil yang stabil. Konsistensi ini menunjukkan bahwa *electrolyte analyzer* memiliki kemampuan pengukuran yang dapat dipercaya dan layak digunakan sepanjang penelitian.

J. Prosedur Penelitian

1. Praanalitik

- a. Membuat dan mengajukan perizinan penelitian.
- b. Persiapan alat dan bahan.

c. Labeling dan randomisasi

- 1) Terdapat dua kode sampel yaitu A dan B untuk setiap subjek.
- 2) Randomisasi urutan perlakuan per subjek menggunakan daftar acak yang sudah dibuat sebelum penelitian. Catat urutan di lembar kerja.

d. Persiapan responden

Responden didata untuk mendapatkan informasi tentang kondisi tubuh, usia, dan jenis kelamin, serta diberikan penjelasan dan penandatanganan *informed consent* sebelum dilakukan pengambilan darah.

e. Pengambilan darah

- 1) Petugas laboratorium mengucapkan salam kepada pasien.
- 2) Petugas laboratorium menggunakan APD sebelum melakukan tindakan pengambilan darah.
- 3) Tangan pasien diletakkan lurus di atas meja dengan telapak tangan menghadap ke atas.
- 4) Petugas memasang tourniquet pada lengan pasien untuk membendung aliran darah.
- 5) Pasien diminta mengepalkan tangan.
- 6) Petugas melakukan palpasi vena untuk menentukan lokasi penusukan.
- 7) Area pengambilan darah dibersihkan menggunakan kapas alkohol 70% dan dibiarkan hingga kering.
- 8) Kulit diregangkan menggunakan ibu jari dan telunjuk tangan kiri, kemudian jarum dimasukkan dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas membentuk sudut sekitar 25°.
- 9) Darah diambil sesuai kebutuhan pemeriksaan laboratorium.
- 10) Setelah darah cukup, pasien diminta melepaskan kepalan tangan dan tourniquet dilepaskan.
- 11) Jarum dicabut secara perlahan lalu area penusukan ditekan menggunakan kapas kering.
- 12) Area bekas penusukan ditutup menggunakan plester.

- 13) Darah dipindahkan ke tabung spesimen melalui dinding tabung setelah jarum dilepas dari spuit.
 - 14) Petugas melakukan cuci tangan setelah selesai pengambilan darah.
- f. Transfer ke dua tabung sesuai randomisasi
- 1) Perlakuan “melepas jarum → tuang”: lepaskan jarum dari spuit, dekatkan bibir spuit ke dinding tabung, tuangkan perlahan sepanjang dinding sampai mencapai volume yang diperlukan. Hindari menyentuh stopper/tabung dengan bibir spuit. Catat waktu selesai.
 - 2) Perlakuan “*needle-to-tube* (tanpa melepas jarum)”: tusukkan jarum ke stopper tabung sesuai prosedur dan posisikan spuit stabil. Catat waktu selesai dan catat adanya percikan/busa.
 - 3) Ketentuan waktu: setiap transfer selesai < 60 detik setelah pengambilan spuit; total waktu antara t_0 dan akhir transfer kedua idealnya ≤ 2 menit.
- g. Observasi visual dan pencatatan
- Segera setelah pengisian, periksa dan catat: adanya busa/foam, tampak *mikro-clot*, dan volume tercapai.
- h. Clotting dan sentrifugasi
- Tabung plain dibiarkan berdiri untuk pembekuan/*clotting* selama 15 menit pada suhu ruang. Sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dan catat warna cairan (jernih/merah muda/merah tua).
- i. Keamanan dan biohazard
- Jarum dibuang ke *sharps container* segera setelah transfer.
2. Analitik
- a. Pengaturan QC (*Quality Control*) dan kalibrasi
- Melakukan kontrol kualitas internal (*low/normal/high*) dan memastikan analyzer elektrolit (ISE) dalam rentang yang diterima sebelum mengukur sampel. Catat hasil QC.

b. Persiapan sampel

Membawa sampel ke area analitik, pastikan sampel tidak terkontaminasi atau berkondensasi. Homogenisasi ringan bila diperlukan.

c. Pemeriksaan Klorida

- 1) Melakukan kontrol kualitas (Quality Control/QC) pada alat CBS 400 Electrolyte Analyzer (ISE) menggunakan bahan kontrol sesuai level yang tersedia (QCB-1, QCB-2, dan QCB-3) sebelum pemeriksaan sampel pasien dilakukan. Pastikan hasil QC berada dalam rentang yang diterima, kemudian catat seluruh hasil QC pada lembar kontrol harian alat.
- 2) Memastikan reagent pack, elektroda, dan tubing alat dalam kondisi baik serta volume reagen masih mencukupi (>5%).
- 3) Menyalakan alat dan menunggu proses self-check selesai hingga layar menunjukkan status “READY”.
- 4) Melakukan priming apabila diperlukan melalui menu: OPERATION → Priming. Untuk memastikan seluruh jalur cairan dan tubing terisi sempurna oleh reagen.
- 5) Melakukan kalibrasi alat melalui menu: OPERATION → Calibration. Kemudian memastikan hasil kalibrasi menunjukkan status “OK”.
- 6) Menyiapkan sampel serum dalam sample cup dengan volume minimal $\pm 200 \mu\text{L}$ agar proses aspirasi berjalan optimal.
- 7) Memastikan mode pemeriksaan berada pada mode “Serum” melalui menu: SAMPLE → Serum.
- 8) Memastikan alat dalam kondisi “READY” pada layar utama.
- 9) Menginput nomor identitas pasien melalui menu: OPERATION → Change ID. Apabila diperlukan.
- 10) Membuka pintu sampel (sample door).
- 11) Layar akan menampilkan pesan: “Probe in Serum?”.

- 12) Menekan tombol YES untuk memulai proses aspirasi sampel oleh pompa alat.
 - 13) Meletakkan sample cup tepat di bawah probe (jarum aspirasi) hingga probe menyedot serum secara otomatis sebanyak $\pm 120\text{--}150\ \mu\text{L}$.
 - 14) Menunggu hingga proses penghisapan selesai yang biasanya ditandai dengan bunyi indikator atau instruksi pada layar alat.
 - 15) Setelah proses aspirasi selesai, segera membersihkan bagian ujung probe menggunakan tissue bebas serat (lint-free tissue) untuk mencegah kontaminasi silang antar sampel.
 - 16) Menutup kembali pintu sampel (sample door).
 - 17) Alat akan menampilkan pesan: “Analyzing...”. Dan melakukan proses pembacaan ion elektrolit menggunakan metode Ion Selective Electrode (ISE).
 - 18) Sampel akan dialirkan melalui tubing menuju ruang elektroda (electrode chamber), kemudian bercampur dengan larutan referensi internal untuk proses pembacaan ion.
 - 19) Proses analisis berlangsung sekitar ± 30 detik hingga alat selesai melakukan pengukuran.
 - 20) Hasil pemeriksaan berupa kadar: K^+ Na^+ Cl^- Ca^{2+} pH. Akan muncul pada layar monitor dan tercetak otomatis melalui printer internal alat.
 - 21) Memeriksa kembali hasil pemeriksaan dan memastikan tidak terdapat error message pada alat.
 - 22) Mencatat dan mendokumentasikan seluruh hasil pemeriksaan.
 - 23) Membersihkan area kerja dan memastikan alat kembali pada posisi READY setelah pemeriksaan selesai.
- d. Pencatatan dan backup data
- Semua hasil raw data (QC, visual, hasil kadar klorida) direkam ke lembar hasil dan basis data digital.

3. Pascaanalitik

a. Validasi hasil

Memeriksa QC harian. Bila QC di luar batas, mengulangi pengukuran dan mencatat tindakan koreksi.

b. Pembersihan data dan pengolahan

Memeriksa seluruh hasil pemeriksaan untuk memastikan tidak terdapat *outlier* atau data yang hilang (*missing value*), serta mendokumentasikan alasan pengecualian seperti adanya hemolisis berat atau volume sampel yang tidak mencukupi. Setelah data dinyatakan layak, dilakukan perhitungan selisih kadar klorida (Δ) pada setiap subjek antara perlakuan dengan melepas jarum dan tanpa melepas jarum. Seluruh hasil pengolahan kemudian disimpan dalam dataset yang telah terkode untuk digunakan pada tahap analisis statistik selanjutnya.

c. Analisis Statistik

Data kadar klorida dari kedua perlakuan (dengan dan tanpa pelepasan jarum) dianalisis menggunakan uji statistik *Unpaired Sample T-Test* atau *Mann-Whitney U Test* sesuai distribusi data.

d. Analisis Klinis

Analisis klinis dilakukan dengan menghitung *percent difference* dan membandingkannya dengan batas kesalahan total (TEa) klorida menurut standar CLIA sebesar $\pm 5\%$.

e. Pelaporan dan penyimpulan data

Hasil analisis kemudian diinterpretasikan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan bermakna antara kedua teknik transfer darah. Seluruh data disimpan dengan kode anonim dan dilaporkan sesuai standar etika penelitian laboratorium.

K. Manajemen Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan melalui pemeriksaan sampel darah secara langsung di laboratorium. Data yang diperoleh merupakan data primer, yaitu data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti dari hasil pengukuran kadar klorida serum pada dua perlakuan teknik transfer

darah, yaitu dengan melepas jarum dan tanpa melepas jarum (Kemenkes RI, 2017). Setiap hasil pemeriksaan dicatat secara sistematis ke dalam lembar kerja dan kemudian dimasukkan ke dalam lembar kerja elektronik (*Microsoft Excel*) untuk memudahkan proses analisis. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan inferensial (statistik).

1. Analisis deskriptif

Data yang diperoleh, di analisis secara deskriptif untuk menggambarkan karakteristik data berupa nilai rerata, simpangan baku, nilai minimum, dan maksimum kadar klorida dari masing-masing teknik transfer darah. Hasilnya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik batang untuk memudahkan interpretasi.

2. Analisis statistik

Data yang didapat dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan kadar klorida antara dua teknik transfer darah. Uji normalitas data dilakukan terlebih dahulu menggunakan Shapiro-Wilk test. Jika data berdistribusi normal ($p \geq 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji *Unpaired Sample T-Test*. Apabila data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), maka digunakan uji *Mann-Whitney U Test*. Seluruh pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25.0 for Window.

3. Analisis Klinis

Analisis klinis dilakukan sebagai pelengkap analisis statistik untuk menentukan relevansi perbedaan kadar klorida secara praktik laboratorium. Setiap nilai selisih (Δ) dihitung *percent difference*-nya dan dibandingkan dengan TEa klorida menurut CLIA sebesar $\pm 5\%$. Nilai yang melebihi batas tersebut dikategorikan bermakna secara klinis, sedangkan nilai yang berada dalam batas diterima sebagai tidak signifikan secara klinis. Hasil analisis klinis ini kemudian digunakan bersamaan dengan hasil statistik untuk memberikan kesimpulan yang lebih komprehensif mengenai efek teknik transfer darah terhadap hasil pengukuran klorida

L. Etika Penelitian

Penelitian ini melibatkan penggunaan sampel darah manusia, sehingga pelaksanaannya hanya dapat dilakukan setelah memperoleh persetujuan resmi dari pihak yang berwenang.

1. Surat persetujuan *Ethical Clearance* dari Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta

Penelitian ini hanya dapat dilakukan setelah memperoleh surat persetujuan *Ethical Clearance* dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/082/2026. Persetujuan etik ini menjamin bahwa seluruh tahapan penelitian dilaksanakan dengan menghormati hak, keselamatan, dan kenyamanan subjek penelitian serta memastikan tidak adanya risiko yang tidak perlu bagi peserta.

2. Lembar penjelasan sebelum persetujuan

Lembar ini berfungsi untuk memberikan informasi yang lengkap dan mudah dipahami kepada calon responden mengenai tujuan, prosedur, potensi risiko, serta manfaat dari penelitian. Dokumen ini merupakan bagian dari proses *informed consent*, di mana peserta penelitian harus memahami sepenuhnya seluruh informasi yang berkaitan dengan penelitian sebelum memberikan persetujuan untuk berpartisipasi secara sukarela.

3. *Informed Consent*

Informed consent merupakan dokumen persetujuan tertulis yang ditandatangani oleh responden setelah menerima penjelasan yang memadai mengenai penelitian. Dokumen ini menegaskan bahwa peserta bersedia ikut serta secara sukarela serta telah memahami seluruh informasi penting terkait penelitian yang akan dilakukan.