

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

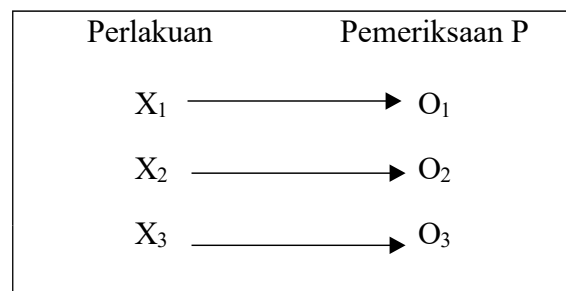
Jenis penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini bersifat eksperimental semu (*Quasi Eksperimental Design*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suatu perbedaan nilai pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) pada sampel yang diberi perlakuan hemolisis ringan, hemolisis sedang dan non hemolisis.

Pada penelitian ini peneliti ingin menganalisis perbedaan yang terjadi antara sampel hemolisis (hemolisis ringan dan hemolisis sedang) dan non hemolisis yang diambil dari Mahasiswa Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Setelah itu dilanjutkan dengan pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) untuk mengetahui apakah sampel hemolisis dapat mempengaruhi pemeriksaan APTT.

2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan adalah *posttest-only control design*, desain ini melibatkan dua kelompok yang dipilih melalui random assignment, yaitu kelompok eksperimen yang diberikan perlakuan tertentu dan kelompok kontrol yang tidak menerima perlakuan diberikan (*posttest*) tanpa adanya pengukuran awal (*pretest*). Pemilihan desain ini bertujuan untuk menghindari efek pengukuran awal (*testing effect*) yang dapat mempengaruhi respons subjek terhadap perlakuan serta memastikan bahwa

perbedaan hasil pada kedua kelompok setelah perlakuan dapat diinterpretasikan sebagai pengaruh langsung dari intervensi (Sugiyono, 2019).



Gambar 3. 1 Desain Penelitian

Keterangan :

X₁= Kelompok kontrol, berupa sampel darah non hemolisis

X₂= Kelompok eksperimen, berupa sampel darah hemolisis ringan

X₃= Kelompok eksperimen, berupa sampel darah hemolisis sedang

O₁= Hasil pemeriksaan APTT pada sampel darah non hemolisis

O₂= Hasil pemeriksaan APTT pada sampel darah hemolisis ringan

O₃= Hasil pemeriksaan APTT pada sampel darah hemolisis sedang

B. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian kali ini adalah mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis semester 8 kelas RPL Tahun Ajaran 2025/2026 Poltekkes Kemenkes Yogyakarta berjumlah 46 orang. Subjek yang akan menjadi sampel dipilih dengan cara melakukan undian nama, mahasiswa-mahasiswi yang namanya keluar saat pengambilan undian nama merupakan responden yang dipilih sebagai sampel. Dari total 46 mahasiswa hanya 14

mahasiswa yang digunakan sebagai subjek penelitian. Adapun kriteria yang sudah ditentukan sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi :

- 1) Mahasiswa aktif Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- 2) Bersedia menjadi responden penelitian dan menandatangani *Informed consent*.
- 3) Subjek dalam kondisi sehat secara klinis berdasarkan pengakuan subjek (tidak sedang sakit).
- 4) Sampel darah diambil menggunakan tabung Natrium Sitrat 3,2% (tabung tutup biru muda) dengan perbandingan 9:1.

b. Kriteria Eksklusi :

- 1) Individu yang mengalami hematom,
- 2) Individu dengan gangguan perdarahan,
- 3) Individu yang memiliki penyakit tertentu sehingga dapat mempengaruhi hasil APTT.
- 4) Sampel darah yang mengalami kesalahan pra-analitik, meliputi:
 - a) Terbentuknya bekuan (*Clotting*).
 - b) Volume darah tidak sesuai dengan antikoagulan.
 - c) Waktu pengolahan sampel melebihi batas yang ditetapkan.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah nilai APTT yang diperoleh dari pemeriksaan menggunakan plasma sitrat hemolisis dan dibandingkan dengan plasma sitrat normal.

3. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Random Sampling*. *Random Sampling* yaitu teknik penentuan sampel secara acak, berdasarkan kriteria tertentu yang relevan dengan tujuan penelitian. Sampel dipilih berdasarkan pertimbangan peneliti sehingga hanya responden yang memiliki karakteristik sesuai dengan fokus penelitian yang dijadikan peserta (Subhaktiyasa, 2024). Perhitungan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus *Federer* sebagai berikut :

Rumus : $(n-1)(t-1) \geq 15$

Keterangan : n : Jumlah Sampel Tiap Kelompok

t : Jumlah Kelompok Perlakuan

Berdasarkan rumus *Federer*, maka dapat dihitung banyaknya pengulangan yang dapat dilakukan dengan 3 kelompok perlakuan :

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(3 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) 2 \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 17/2$$

$$n \geq 8,5 \approx 9 \leq$$

Berdasarkan rumus *Federer* yang telah dijabarkan di atas didapatkan minimal sampel minimal 9. Namun pada penelitian ini untuk menghindari kesalahan dari pengambilan responden maka peneliti menambahkan 50 % dari jumlah rumus federer yaitu 4 sampel, sehingga jumlah sampel penelitian menjadi 14 sampel. Sampel penelitian dilakukan 3 perlakuan, sehingga jumlah data yang akan didapatkan sebesar 42 data.

C. Waktu dan Tempat

1. Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian berlangsung pada tanggal 24 Februari 2026.

2. Tempat Penelitian

Proses pengambilan dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas ialah variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan pada variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini ialah sampel hemolisis dan non hemolisis.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dapat dipengaruhi atau yang menjadi akibat dari adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT).

E. Definisi Operasional

Definisi operasional adalah uraian tentang batasan variabel yang dimaksud, atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan.

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No	Variabel		Definisi Operasional	Skala ukur	Hasil UKur
1.	Variabel Bebas	Sampel Hemolisis	Sampel Plasma Natrium Sitrat yang telah dilisiskan menjadi hemolisis ringan dan sedang, dengan perlakuan aspirat kuat dan dilakukan pengukuran HB <i>Cyanmeth.</i> Hasil yang didapatkan yaitu hemolisis ringan 0,2-0,5 g/L dan hemolisis sedang 0,5-2,0 g/L.	Nominal	(01) Hemolisis Ringan dengan kadar HB : 0,2-0,5 g/L (02) Hemolisis Sedang dengan kadar HB : 0,5-2,0 g/L
2.	Variabel Bebas	Sampel Non Hemolisis	Sampel Plasma natrium sitrat yang dilakukan pengukuran HB <i>Cyanmeth.</i> Hasil yang didapatkan plasma berwarna kuning dengan nilai normal < 0,18 g/L.	Nominal	(03) Non Hemolisis : plasma berwarna kuning dengan kadar HB : < 0,18 g/L
3.	Variabel Terikat	<i>Activated Partial Thromboplastin Time</i> (APTT)	Nilai APTT dalam plasma natrium sitrat dari sampel hemolisis ringan, hemolisis sedang, dan non hemolisis yang di ukur menggunakan alat foto optik	Nominal	(04) APTT normal : 27-42 detik

F. Jenis Dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan didalam penelitian ini adalah hasil pembacaan data primer. Data primer merupakan data yang dikumpulkan sendiri oleh peneliti pada saat penelitian berlangsung yaitu berupa hasil pembacaan yang dilakukan di poltekkes kemenkes yogyakarta.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan untuk mendapatkan data primer pada penelitian ini ialah pengukuran nilai APTT dengan menggunakan alat Karl Kolb tipe CA-01C dengan menggunakan 14 sampel untuk masing-masing perlakuan yaitu sampel non hemolisis, hemolisis ringan dan hemolisis sedang.

G. Alat Ukur/ Instrumen dan Bahan Penelitian

Instrument penelitian merupakan alat ukur yang digunakan untuk pengumpulan data penelitian. Dalam penelitian biasanya seorang peneliti mengumpulkan informasi data yang konsisten dan akurat. Adapun instrument yang terlampir digunakan dalam pengumpulan dan pada penelitian ini yaitu : *Informed Consent*, Surat izin penelitian, Form hasil pemeriksaan, Elektronik (Laptop dan Handphone), Alat dan bahan pemeriksaan, Dokumentasi, *Ethical Clearance*, Rekapitulasi Hasil (SPSS).

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : APD, Tourniquet , Cup holder, Vacutainer, Kapas alkohol 70%, Kapas kering, Plaster, Rak

tabung, Tabung reaksi, Mikropipet, Tip, Fotometer, *Centrifuge*, Alat foto optik, Kuvet, Timer

2. Bahan Penelitian

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah Sampel plasma Natrium sitrat 3 ml, aquadest, Reagen drabkins, Reagen pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT), dan *Calcium Chloride* 0,025 M (CaCl_2)

H. Uji Validitas dan Realibitas

Alat ukur yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Karl Kolb tipe CA-01C yang berada di Laboratorium Hematologi Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Uji Validitas dilakukan dengan menggunakan plasma sitrat kontrol normal yang telah diperiksa secara duplo setiap dan sebelum alat digunakan untuk melakukan pemeriksaan sampel. Jika nilai APTT pada plasma kontrol tersebut normal, maka validitas instrumen dinyatakan baik dan bisa digunakan untuk pemeriksaan.

I. Prosedur Penelitian

1. Tahap Pra Analitik

a. Persiapan data sampel

- 1) Pengisian *informed consent* : Nama Lengkap, umur, jenis kelamin, prosedur tanggal pengambilan darah.
- 2) Disiapkan alat dan bahan sebelum flebotomi. Penulisan identitas sampel pada tabung vacuum.
- 3) Dilakukan prosedur *hygiene* seperti mencuci tangan, gunakan sarung

tangan.

- 4) Strategi komunikasi seperti mengucapkan salam, pendekatan, memberi wawasan sampling darah untuk bahan pemeriksaan, mengucapkan maaf dan terimakasih.
- 5) Pemilihan daerah flebotomi seperti *vena mediana cubity* (disarankan), *vena cephalica*, *vena basilica* (besar, elastis, bentuk lurus dan rangsangan sakit kurang).

b. Flebotomi

- 1) Responden diminta duduk dan ulurkan sebelah tangannya;
- 2) Siapkan alat: holder tabung vakum/ adapter, jarum ganda (multi-sample needle) atau jarum khusus, torniquet, alkohol swab / antiseptik, kasa steril, plaster, tabung vakum sesuai jenis & urutan isi, tempat pembuangan jarum (safety box);
- 3) Pasang torniquet kira-kira 5-10 sm di atas situs tusukan. Hal ini membantu mengisi vena;
- 4) Minta pasien mengepalkan dan membuka tangan beberapa kali untuk membantu vena menonjol;
- 5) Pilih vena yang cocok : biasanya *vena median cubital*, *vena cephalica*, *vena basilika difossa antekubital*. Hindari vena yang keras, pecah, area pembengkakan, atau dekat bekas infus/hematoma;
- 6) Palpasi (raba) vena sebelum ditusuk, untuk memastikan lintasan dan kondisi vena;

- 7) Bersihkan area tusukan dengan alkohol swab / antiseptik (gerakan memutar ke luar) dan biarkan kering (jangan ditiup)
- 8) Jangan melepas tourniquet sampai jarum sudah berada di dalam vena dan tabung sudah mulai mengisi (kecuali dalam kondisi khusus);
- 9) Pegang jarum + holder dengan stabil, tusukkan jarum ke vena dengan sudut sekitar 15° – 30° (bevel menghadap ke atas) secara perlahan dan mantap;
- 10) Setelah jarum berada di dalam vena, pasang tabung vakum ke holder dan dorong perlahan sehingga tabung tertusuk ke dalam bagian jarum dan darah akan masuk ke tabung secara otomatis oleh efek vakum;
- 11) Bila perlu ambil lebih dari satu tabung, mengganti tabung sesuai urutan pengisian (*order of draw*) tanpa melepas jarum (jika menggunakan jarum *multi-sample*);
- 12) Lepaskan tourniquet segera setelah aliran darah stabil dan sebelum menarik tabung terakhir (untuk menghindari stasis yang lama).
- 13) Setelah volume darah yang dibutuhkan tercapai, lepaskan tabung dari holder.
- 14) Lepaskan jarum perlahan dari vena, sambil menekan area tusukan menggunakan kasa steril
- 15) Tahan area tusuk dengan tekanan selama beberapa menit hingga

perdarahan berhenti. Bila perlu, pasang plester.

16) Label tabung segera (nama pasien, tanggal & waktu, jenis pemeriksaan) dan letakkan tabung ke tempat yang aman.

17) Buang jarum dan komponen yang terkontaminasi ke wadah “*sharp/ safety box*” sesuai protokol *biohazard*.

18) Lepas sarung tangan dan lakukan cuci tangan kembali.

c. Rekayasa Pembuatan sampel hemolisis

Sampel Hemolisis di laboratorium biasanya terjadi akibat adanya masalah pra analitik, analitik maupun pasca analitik. Kesalahan-kesalahan ini juga terjadi akibat adanya kesalahan secara *in-vitro* dan *in-vivo*. Kesalahan *in-vitro* ini biasanya terjadi pada saat pengambilan sampel yang salah serta prosedur yang salah. Sedangkan *in-vivo* hemolisis terjadi akibat adanya sejumlah keadaan/penyakit pada pasien.

1) Hemolisis ringan

- a. Sampel darah natrium sitrat tadi, kemudian dilakukan aspirasi sampel sebanyak 10 sampai 15 kali atau hingga sesuai dengan hemolisis *chart pallete*.
- b. *Centrifuge* dengan kecepatan 3.000 rpm, selama 10 menit.
- c. Lakukan pengecekan hemoglobin pada sampel plasma yang mengalami hemolisis, dengan menggunakan sampel plasma sebanyak 20 ul, dan larutan drabkins sebanyak 5000 ul, lalu homogenkan dan periksa menggunakan fotometer dengan

panjang gelombang 540 nm dengan nilai hemoglobin (0,2-0,5 g/L) (Lippi, Cervellin dan Mattiuzzi, 2013)

- d. Jika kadar Hb belum sesuai dengan standar nilai Hb lisis ringan, maka lakukan pengulangan prosedur sampai didapatkan nilai Hb yang diinginkan.

2) Hemolisis sedang

- a. Sampel darah natrium sitrat yang tadi, kemudian dilakukan aspirasi sampel sebanyak 30 kali atau hingga sesuai dengan hemolisis *chart pallete*.
- b. *Centrifuge* dengan kecepatan 3.000 rpm, selama 10 menit.
- c. Lakukan pengecekan hemoglobin pada sampel plasma yang mengalami hemolisis, dengan menggunakan sampel plasma sebanyak 20 ul, dan larutan drabkins sebanyak 5000 ul, lalu homogenkan dan periksa menggunakan fotometer dengan panjang gelombang 540 nm dengan nilai hemoglobin (0,5-2,0 g/L) (Lippi, Cervellin dan Mattiuzzi, 2013).
- d. Jika kadar Hb belum sesuai dengan standar nilai Hb lisis ringan, maka lakukan pengulangan prosedur sampai didapatkan nilai Hb yang diinginkan.

2. Tahap Analitik

a. Pemeriksaan Plasma Kontrol :

- 1) Menghidupkan alat koagulometer dan tunggu selama 15 menit.
- 2) Setting alat koagulanmeter untuk pemeriksaan APTT.

- 3) Menyiapkan kuvet yang bersih, kemudian letakkan didalam alat koagulanmeter untuk dipanaskan pada suhu 37°C.
 - 4) Memipet plasma kontrol sebanyak 50ul dan masukan kedalam kuvet.
 - 5) Menekan tombol enter, dan inkubasi selama 2 menit
 - 6) Pipet 50 ul plasma kontrol ke dalam kuvet.
 - 7) Pipet 50 ul pospolipid, lalu klik enter test 1 dan tunggu 3 menit inkubasi
 - 8) Pipet CaCl₂ sebanyak 50 ul, lalu klik enter test 1 dan tunggu 1 menit.
 - 9) Interpretasi hasil pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT).
 - 10) Catat waktu terjadinya bekuan fibrin = hasil APTT
 - 11) Didapatkan hasil plasma kontrol
- b. Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT)
- 1) Setting alat dengan klik enter lalu pilih metode pemeriksaan,
 - 2) Menyiapkan koagulameter dan tunggu selama 15 menit
 - 3) Pipet 50 ul plasma pasien ke dalam kuvet.
 - 4) Pipet 50 ul pospolipid, lalu klik enter test 1 dan tunggu 3 menit inkubasi
 - 5) Pipet CaCl₂ sebanyak 50 ul, lalu klik enter test 1 dan tunggu 1 menit.
 - 6) Interpretasi hasil pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT).

7) Catat hasil

3. Tahap Pasca Analitik

Mencatat dan mengolah hasil pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) yang didapat dari pemeriksaan.

J. Manajemen Data

Penelitian ini menghasilkan data nilai APTT terhadap sampel hemolisis. Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif dan dianalisis secara statistik.

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, dianalisis secara deskriptif meliputi hasil perhitungan rerata, standar deviasi pada masing-masing nilai kelompok perlakuan sampel.

2. Analisis Statistik

Data yang diperoleh adalah data primer dari pengukuran nilai APTT dengan menggunakan alat karl kolb tipe CA-01C. Uji statistik dilakukan dengan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) for Windows untuk menganalisis perbedaan nilai APTT pada sampel plasma sitrat yang hemolisis. Proses analisis diawali dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menentukan apakah data mengikuti distribusi normal atau tidak. Data dianggap berdistribusi normal jika nilai signifikansi (p) lebih besar dari α (0,05), sedangkan data dinyatakan tidak normal jika nilai kurang dari α (0,05). Apabila data berdistribusi normal, analisis dilanjutkan dengan uji perbedaan dua sampel berpasangan (*paired sample T-test*). Sebaliknya, jika data tidak berdistribusi normal, pengujian dilanjutkan

menggunakan uji non-parametrik *Wilcoxon*.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan sejujur-jujurnya berdasarkan fakta yang terjadi di lapangan. Penelitian ini dilakukan dengan etika penelitian yaitu:

1. Kaji Etik

Penelitian ini menggunakan sampel darah manusia yang berasal dari Mahasiswa Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, sehingga dibutuhkan *Ethical Clearance* yang diajukan kepada Komisi Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/155/2026.

2. Surat Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP)

Peneliti menjelaskan maksud, tujuan, lama dan prosedur penelitian secara singkat dan jelas. Calon subjek selain membantu peneliti dalam penelitian ini juga mendapatkan keuntungan. Peneliti menyatakan bahwa identitas calon subjek akan dirahasiakan, sehingga calon subjek tidak perlu merasa khawatir. Partisipasi subyek bersifat sukarela.

3. *Informed Consent*

Peneliti akan memberikan penjelasan terkait prosedur pengambilan sampel dan tidak memaksa kepada pasien atau calon subjek penelitian sehingga subjek penelitian didapatkan berdasarkan kesukarelaan. Apabila pasien atau calon subjek menolak maka peneliti akan berhenti melakukan penjelasan, dan apabila pasien bersedia untuk ikut serta maka dilakukan persetujuan dalam bentuk *informed consent* yakni mengisi data diri serta

menandatangananinya. Kemungkinan yang dapat terjadi adalah pasien sewaktu-waktu mundur dari penelitian, bahkan setelah menandatangani *informed consent* sebelum pengambilan darah. Pasien yang sudah ikut berpartisipasi dalam penelitian dan diambil darahnya akan mendapatkan sebagai ucapan terima.