

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

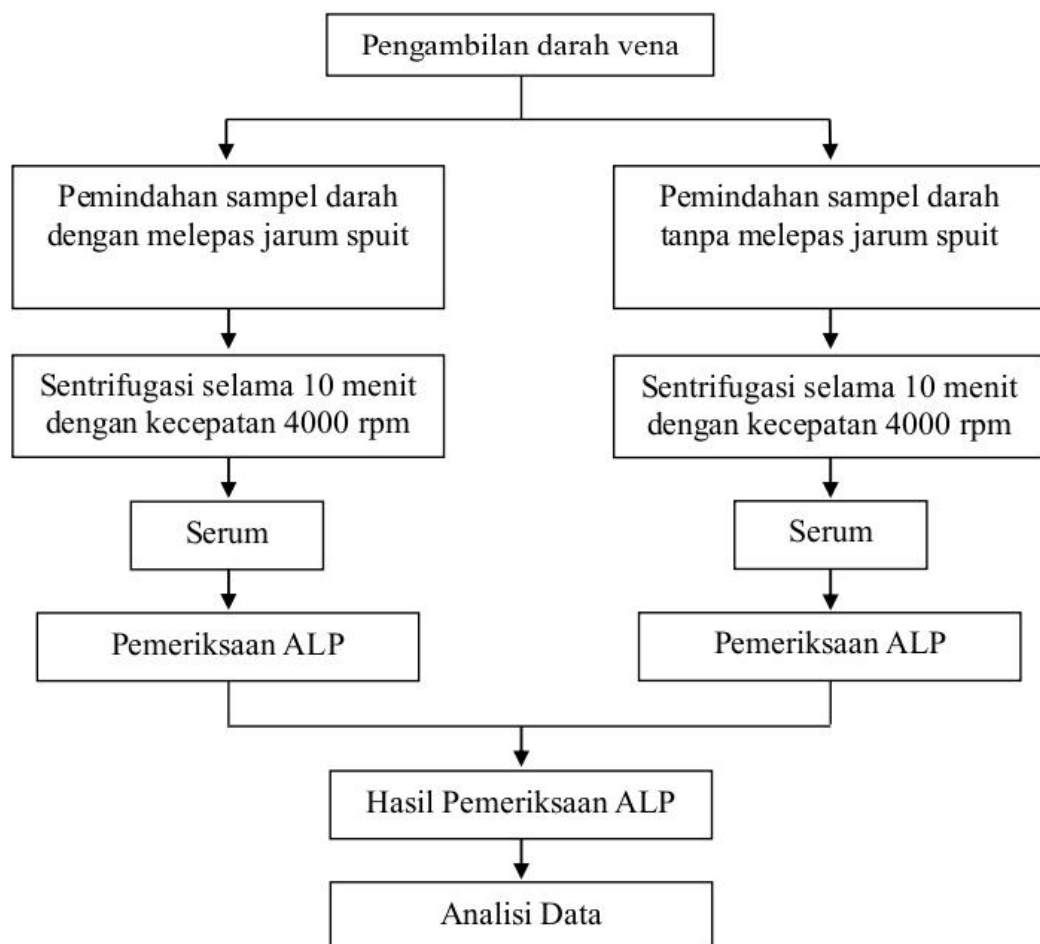
Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah observasional analitik. Penelitian observasional analitik merupakan desain penelitian yang bertujuan menganalisis hubungan sebab-akibat antara variabel bebas dan variabel terikat dengan melibatkan pengamatan dan pengukuran yang terstruktur. Menurut Sugiyono (2021), penelitian observasional analitik digunakan ketika peneliti ingin mengetahui adanya pengaruh atau hubungan antara dua variabel, yaitu antara pemindahan sampel darah dengan melepas jarum dan tanpa melepas jarum spuit terhadap aktivitas enzim alkali fosfatase dalam serum. Jenis penelitian ini digunakan karena peneliti tidak hanya mengamati, tetapi juga memberikan perlakuan yang berbeda pada sampel untuk kemudian menganalisis hasil pengukuran secara objektif (Sujarweni, 2019).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *cross sectional*. Menurut Sugiyono (2021), desain penelitian *cross sectional* adalah desain penelitian yang pengumpulan datanya dilakukan sekali pada satu waktu tertentu untuk menggambarkan hubungan antara variabel tanpa melakukan pengukuran ulang.

Desain ini yaitu pemindahan sampel darah dan nilai aktivitas enzim alkali fosfatase diukur pada waktu yang bersamaan dalam satu periode penelitian. Desain *cross sectional* memungkinkan peneliti menilai efek langsung dari terhadap hasil pemeriksaan dalam kondisi waktu dan lingkungan yang sama, sehingga meminimalkan pengaruh faktor luar yang tidak diinginkan (Notoadmodjo, 2018).

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah Mahasiswa semester II Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta yang berjumlah sebanyak 113 mahasiswa.

2. Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian ini yaitu sampel serum dari Mahasiswa semester II Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta yang berjumlah 113 mahasiswa akan diambil sampel dari 30 mahasiswa sesuai dengan kriteria sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Sampel darah vena yang berasal dari individu dengan kondisi fisik sehat berdasarkan hasil pengisian kuesioner.
- 2) Sampel darah yang diperoleh memiliki karakteristik serum normal (tidak ikterik dan tidak lipemik) setelah proses pembuatan serum.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Sampel darah yang mengalami ikterik.
- 2) Sampel darah yang mengalami lipemik.

3. Teknik Sampling

Teknik pengumpulan sampel pada penelitian ini menggunakan *Purposive Random Sampling*. Menurut Sugiyono (2021) *Purposive Random Sampling* adalah teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan peneliti, sedangkan random sampling memberikan kesempatan yang sama bagi setiap subjek yang memenuhi kriteria untuk dipilih. Kombinasi keduanya digunakan

ketika peneliti membutuhkan sampel dengan karakteristik khusus namun tetap mempertahankan unsur acak dalam pemilihannya.

Teknik ini dipilih karena penelitian dilakukan pada subjek manusia dengan kondisi khusus yang harus memenuhi kriteria tertentu untuk menjamin validitas data. Pengumpulan sampel dilakukan secara acak dari daftar responden yang lolos tahap seleksi awal sesuai kriteria inklusi.

4. Perhitungan Besar Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 sampel. Rentang ukuran sampel yang dianjurkan berada pada kisaran 30 hingga 500 sampel, dengan angka 30 sering dijadikan batas minimum untuk memperoleh distribusi data yang lebih mendekati normal sehingga hasil analisis lebih valid dalam mendukung kekuatan dan ketepatan karya tulis ilmiah (Sugiyono, 2021). Penelitian ini karena terdapat dua teknik pemindahan yaitu dengan melepas jarum spuit dan tanpa melepas jarum spuit, maka kebutuhan sampel dihitung dengan mengalikan jumlah minimal sampel per pelakuan, yaitu $30 \times 2 = 60$ data.

D. Waktu dan Tempat

1. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 24 Januari – 25 Januari 2026.

2. Tempat

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

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemindahan sampel darah ke dalam tabung *vacutainer* dengan melepas jarum spuit dan tanpa melepas jarum spuit.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai aktivitas enzim alkali fosfatase.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

a. Pemindahan sampel darah dengan melepas jarum spuit

Teknik pemindahan darah vena yang dialirkan secara perlahan ke dinding tabung *vacutainer* setelah jarum dilepas terlebih dahulu.

b. Pemindahan sampel darah tanpa melepas jarum spuit

Teknik pemindahan darah vena dari spuit langsung ke tabung *vacutainer* tanpa melepas jarum dengan menekan *plunger* spuit, di mana darah dikeluarkan melalui lubang jarum dengan menekan *plunger* spuit dengan tekanan sedang dengan kecepatan waktu pengeluaran darah sekitar 3 detik untuk setiap 1,5 ml darah.

Satuan : -

Skala Data : Nominal

2. Variabel Terikat

Nilai aktivitas enzim alkali fosfatase (ALP) adalah besarnya aktivitas enzim alkali fosfatase dalam serum darah yang dinyatakan dalam satuan unit per liter (U/L). Nilai ini diperoleh melalui pemeriksaan kimia klinik menggunakan metode kinetik sesuai standar IFCC dengan substrat p-nitrofenil fosfat dan pembacaan absorbansi secara spektrofotometri pada suhu 37°C.

Satuan : U/L

Skala Data : Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Data primer merupakan data yang dikumpulkan secara langsung oleh peneliti dari sumber pertama tanpa perantara. Menurut Sujarweni (2019), data primer diperoleh secara langsung di lapangan untuk menjawab rumusan masalah penelitian. Dalam penelitian ini, data primer diperoleh dari hasil pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase pada sampel darah yang diberi teknik pemindahan berbeda, yaitu pemindahan darah dengan dan tanpa melepas jarum spuit.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik yang digunakan pada penelitian ini dengan melakukan pengukuran terhadap nilai aktivitas enzim alkali fosfatase.

H. Alat Ukur/Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Fotometer
- b. *Tourniquet*
- c. Kapas Alkohol
- d. Sduit
- e. Plester
- f. Kapas Kering
- g. Tabung *Vacutainer*
- h. Sentrifugasi
- i. Rak Tabung Reaksi
- j. Mikropipet
- k. *Blue Tip*
- l. *Yellow Tip*
- m. Tube Serum
- n. Kuvet
- o. *Stopwatch*
- p. Tisu

2. Bahan

- a. Sampel uji laboratorium darah vena.
- b. Reagen Pemeriksaan Aktivitas Enzim Alkali Fosfatase.

Reagen pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase menurut Diasys (2018).

1) Reagen 1

- a) 2-Amino-2-methyl-1-propanol pH 10.4 1.1 mol/L
- b) Magnesium acetate 2 mmol/L
- c) Zinc sulphate 0.5 mmol/L
- d) HEDTA 2.5 mmol/L

2) Reagen 2

- a) p-Nitrophenylphosphatase 80 mmol/L

I. Uji Validitas dan Reabilitas

Alat ukur digunakan dalam penelitian ini adalah fotometer yang tersedia di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Sebelum pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase dilakukan, terlebih dahulu dilakukan uji validitas dan reliabilitas instrumen untuk memastikan keakuratan serta konsistensi hasil pengukuran. Uji validitas dilakukan dengan menggunakan serum kontrol sebagai bahan uji. Serum kontrol diperiksa terlebih dahulu menggunakan reagen pemeriksaan alkali fosfatase, kemudian hasilnya dibandingkan dengan nilai rujukan (range kontrol) yang tercantum dalam lembar petunjuk reagen kit. Jika hasil pemeriksaan dengan serum kontrol tidak masuk dalam rentang nilai rujukan maka perlu dilakukan evaluasi terhadap alat, bahan, dan langkah kerja yang digunakan dalam penelitian.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan
 - a. Melakukan proses izin penggunaan Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta sebagai tempat penelitian.
 - b. Responden diberikan penjelasan sebelum persetujuan (PSP) dan diminta untuk mengisi *informed consent* sebelum dilakukan pengambilan darah vena.
 - c. Mempersiapkan alat, bahan, dan reagen yang diperlukan dan memastikan semuanya dalam kondisi baik.
 - d. Mempersiapkan lembar untuk pencatatan hasil pemeriksaan.
2. Tahap pengambilan sampel
 - a. Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - b. Melakukan pendekatan kepada responden dengan tenang dan ramah serta mengusahakan pasien dalam keadaan yang nyaman.
 - c. Responden diposisikan duduk dengan posisi lengan lurus, telapak tangan menghadap ke atas dan siku tidak boleh dibengkokkan.
 - d. Responden diminta mengepalkan tangan untuk memperjelas letak vena.
 - e. Memasang tourniquet $\pm 5 - 10$ cm di atas lipatan siku untuk membantu menonjolkan vena.
 - f. Melakukan palpasi ringan atau perabaan untuk memastikan posisi dan arah vena.

- g. Mendesinfektan area penusukan menggunakan alkohol 70%, lalu dibiarkan hingga kering agar tidak menimbulkan rasa sakit dan mencegah hemolisis. Area yang sudah dibersihkan tidak boleh disentuh kembali.
 - h. Jarum disuntikkan pada vena dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas.
 - i. Darah diambil sebanyak 3 ml.
 - j. Setelah darah dirasa cukup, *tourniquet* dilepaskan, dan responden diminta untuk membuka kepalan tangannya.
 - k. Meletakkan kapas kering pada bekas tusukan, kemudian jarum dikeluarkan secara perlahan.
 - l. Responden diminta untuk menekan kapas pada bekas tusukan tersebut selama ± 2 menit. Setelah darah berhenti, area bekas tusukan ditutup dengan plester.
3. Tahap pembuatan serum
- a. Darah yang telah diambil dipindahkan sebanyak 1,5 ml ke dalam tabung *vacutainer* dengan cara melepas jarum dan membuka tutup tabung kemudian dialirkan perlahan melalui dinding tabung.
 - b. Sisa 1,5 ml darah berikutnya dipindahkan ke tabung *vacutainer* lain dengan cara memasang kembali jarum dan darah dikeluarkan dengan menekan pendorong (*plunger*).
 - c. Sampel darah didiamkan pada suhu kamar selama 15 menit hingga membeku sempurna.

- d. Setelah itu, tabung disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 4000 rpm untuk memisahkan komponen dalam darah.
 - e. Serum yang terbentuk dipisahkan dari endapan sel darah dengan cara mengambil bagian atas atau supernatan. Serum yang didapatkan dipindahkan ke dalam cup serum.
4. Tahap pemeriksaan Alkali Fosfatase (ALP)
- a. Membuat monoreagen

Membuat monoreagen dengan mencampur reagen 1 dan 2 dengan perbandingan 4:1, kemudian dihomogenkan. Monoreagen stabil selama 4 minggu pada suhu 3 – 8°C atau stabil selama 5 hari pada suhu 15 – 25°C (DiaSys, 2019).
 - b. Pemeriksaan Alkali Fosfatase
 - 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk pemeriksaan.
 - 2) Menyalakan alat fotometer 100 dengan menekan tombol daya (*main power*) pada saklar daya.
 - 3) Setelah alat aktif, lakukan pengaturan metode, panjang gelombang, dan suhu sesuai dengan petunjuk pada reagen kit.
 - 4) Melakukan pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase pada serum kontrol komersial satu kali sebelum memeriksa sampel penelitian.
 - 5) Membandingkan hasil pemeriksaan serum kontrol dengan nilai rujukan yang tertera pada lembar informasi kit untuk memastikan validitas dan reagen.

- 6) Pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase dilakukan dengan metode kinetik *sample start*:

Tabel 3. Skema Pemipetan Pemeriksaan Enzim Alkali Fosfatase

	Blanko	Pemeriksaan
Sampel	-	20 μ l
Aquadest	20 μ l	-
Monoreagen	1000 μ l	1000 μ l

Sumber : Diasys, 2019.

K. Manajemen Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan statistik sebagai berikut:

1. Analisis deskriptif

Data hasil pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase yang telah dikumpulkan selanjutnya dianalisis secara deskriptif untuk menampilkan gambaran umum dari hasil penelitian. Analisis ini digunakan untuk menunjukkan rata – rata nilai aktivitas enzim alkali fosfatase. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel dan grafik berbentuk diagram batang untuk menggambarkan adanya perbedaan atau perubahan nilai aktivitas enzim alkali fosfatase antara sampel darah yang dipindahkan dengan melepas jarum dan tanpa melepas jarum spuit.

2. Analisis statistik

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan data primer dengan skala rasio. Uji statistik menggunakan program SPSS versi 25.0 *for Windows*. Data tersebut diuji distribusi dengan Uji Normalitas *Shapiro*

Wilk karena desain penelitian bersifat berpasangan, sehingga normalitas harus diperiksa pada distribusi selisih antar teknik pemindahan. Apabila nilai $Sig \geq 0,05$ maka data berdistribusi normal dan dilanjutkan dengan *Uji Paired Sample T-Test*. Apabila ternyata didapatkan data tidak normal, maka untuk uji statistik lanjutannya digunakan uji statistik non parametrik menggunakan *Uji Wilcoxon*.

L. Etika Penelitian

Penelitian yang dilakukan menggunakan sampel manusia sehingga membutuhkan lembar Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP) dan *Informed Consent*. Peneliti juga mengajukan *Ethical Clearance* di Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) No. DP.04.03/e-KEPK.1/003/2026 Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.