

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

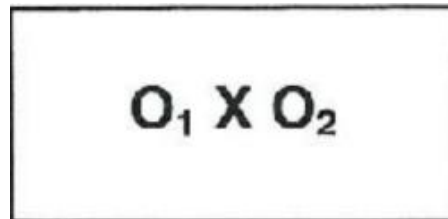
Jenis penelitian yang dilakukan yaitu *Pre-Experimental* yang bukan merupakan eksperimen sepenuhnya. Jenis penelitian *Pre-Experimental* digunakan dengan alasan karena terdapat variabel luar yang ikut berpengaruh terhadap variabel dependen (terikat). Jenis penelitian ini terdiri dari berbagai desain penelitian. Salah satu desain penelitian yang dapat digunakan yaitu *One Group Pretest Posttest Design Without Control* (Sugiyono, 2013).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian *One Group Pretest Posttest Design Without Control* ini merupakan pendekatan penelitian yang melibatkan pengujian partisipan dengan melakukan pretest terlebih dahulu (Muhandis dan Riyadi, 2023). Penelitian ini dilaksanakan pada suatu kelompok yang melibatkan pengukuran awal (*pretest*) sebelum perlakuan diberikan dan pengukuran akhir (*posttest*) setelah perlakuan diberikan (Sugiyono, 2013).

Pretest ini dilakukan dengan melakukan uji kadar kolesterol total sebanyak 20 kali dengan bahan kontrol *pooled serum* yang telah diproses kering beku (liofilisat) sebelum dilakukan penyimpanan. Penyimpanan *pooled serum* 2 bulan dengan suhu 2-8°C merupakan sebuah intervensi.

Posttest kali ini dilakukan dengan melakukan uji kadar kolesterol total setelah dilakukan penyimpanan 2 bulan pada suhu 2-8°C.



Gambar 3. Rancangan Penelitian

Sumber : Sugiyono, 2013

Keterangan :

1. X : Penyimpanan *pooled serum* yang diproses kering beku selama 2 bulan pada suhu 2-8°C.
2. O_1 : Kadar kolesterol total *pooled serum* yang diproses kering beku sebelum dilakukan penyimpanan selama 2 bulan pada suhu 2-8°C.
3. O_2 : Kadar kolesterol total *pooled serum* yang diproses kering beku sesudah dilakukan penyimpanan selama 2 bulan pada suhu 2-8°C.

B. Subjek dan Objek Penelitian

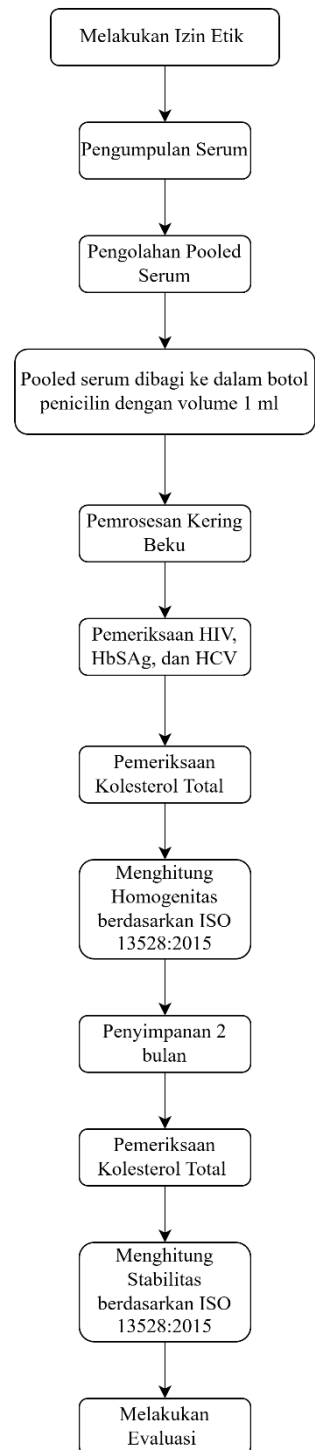
1. Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan subjek kadar kolesterol total pada *pooled serum* yang diproses secara kering beku atau liofilisasi. Peneliti mengukur kadar kolesterol total pada *pooled serum* sebelum penyimpanan sebagai uji homogenitas dan setelah dilakukan penyimpanan pada suhu 2-8°C selama 2 bulan sebagai uji stabilitas.

2. Objek Penelitian

Penelitian ini menggunakan objek *pooled serum* yang diproses kering beku dan disimpan di *freezer* pada suhu 2-8°C selama 2 bulan.

C. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada 12 Februari - 12 April 2026.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di beberapa tempat yaitu:

- a. Pengambilan sampel serum : General Medical Check Up Universitas Gadjah Mada.
- b. Proses liofilisasi : Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.
- c. Pemeriksaan kadar kolesterol : Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi (BLKK) Daerah Istimewa Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan adalah lama waktu penyimpanan *Pooled serum* yang diproses kering beku.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan adalah kadar pemeriksaan kolesterol total.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu yang digunakan adalah suhu saat penyimpanan.

F. Batasan Istilah

1. Sampel yang digunakan yaitu *pooled serum* dengan syarat tidak lisis, tidak lipemik, dan tidak ikterik.
2. *Pooled serum* tersebut diproses kering beku menjadi bentuk serbuk atau liofilisat.
3. Lama penyimpanan yaitu kurun waktu tertentu yang digunakan untuk menyimpan *pooled serum* yang sudah diproses kering beku. *Pooled serum* liofilisat tersebut disimpan selama 2 bulan.

Satuan : bulan

Skala : rasio

4. Suhu penyimpanan yang digunakan untuk penyimpanan *pooled serum* yang berbentuk liofilisat yaitu 2-8°C.

Satuan : *celcius*

Skala : *interval*

5. Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total adalah jumlah milligram kadar kolesterol dibagi dengan 100 dl serum yang diperiksa.

Satuan : mg/dl

Skala : rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan data primer (Suhono dan Fatta, 2021). Data primer pada umumnya dikumpulkan langsung dari sumber salah satunya melalui eksperimen. Data primer sering digunakan karena dianggap lebih akurat dan relevan lingkungan penelitian (Zakariah dan Afriani, 2021).

2. Teknik Pengumpulan Data

Peneliti menggunakan teknik pengumpulan data dengan melakukan pemeriksaan menggunakan *pooled serum* yang telah diproses kering beku (*lyofilisat*) sebelum dilakukan penyimpanan yaitu didapatkan sebanyak 20 data untuk uji homogenitas. Sedangkan setelah dilakukan penyimpanan selama 2 bulan pada suhu 2-8°C didapatkan sebanyak 6 data untuk uji stabilitas.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam proses penelitian ini beragam, dimana alat ini digunakan untuk mendukung proses pengumpulan, persiapan, dan pengujian. Beberapa alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sentrifus, gelas kimia, wadah penyimpan *pooled serum* sementara, spuit 3 ml, botol penisilin 1 ml, alat *freeze dryer* untuk proses pengeringan beku, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, tip kuning, tip biru, lemari pendingin bersuhu 2-8°C, kuvet, *magnetic stirrer* dan *vortex*. Secara keseluruhan,

penggunaan peralatan tersebut memastikan ketepatan dan efisiensi pada setiap tahap percobaan.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini juga tidak kalah penting. Bahan penelitian ini berguna sebagai bagian dari yang diperiksa. Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah sisa kumpulan serum atau *pooled serum* yang telah diproses kering beku (*lyofilisat*), natrium azida 0,1%, aquadest dan reagen pemeriksaan kolesterol total.

I. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas digunakan untuk memverifikasi ketepatan dalam instrumen penelitian dan untuk mengukur kejelasan kerangka dalam sebuah penelitian. Uji validitas pada penelitian ini adalah dengan memastikan instrument atau peralatan yang digunakan dalam penelitian dapat berfungsi secara normal. Hal tersebut dapat dilakukan dengan melakukan *Quality control* (QC) sebelum melakukan pemeriksaan. Tahap *Quality control* pada penelitian ini dapat dilakukan dengan memastikan suhu di dalam almari pendingin atau *freezer* sesuai.

Pengendalian suhu dilaksanakan dengan cara membuat jadwal secara berkala tiap minggunya. Memastikan kembali bahwasanya pemeriksaan dilakukan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP) dan memastikan bahwa alat-alat tersebut sudah terkalibrasi secara rutin.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Mengurus kaji etik pada Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- b. Mengurus izin pengambilan sampel yaitu *Pooled serum* di General MCU UGM.
- c. Mengurus izin penelitian di Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Daerah Istimewa Yogyakarta.
- d. Melakukan sterilisasi pada alat-alat yang akan digunakan.
- e. Menyediakan bahan-bahan habis pakai yang akan digunakan dalam penelitian.

2. Pengumpulan Serum

- a. Melakukan pengambilan darah vena menggunakan spuit sebanyak 3 ml.
- b. Memasukkan sampel darah vena ke dalam tabung *vacuntainer* merah (non koagulan).
- c. Menunggu sampel darah hingga membeku dengan sempurna.
- d. Melakukan sentrifugasi menggunakan sentrifus selama 5 menit pada 3000rpm.
- e. Mengambil serum menggunakan pipet tetes dari tabung *vacuntainer* merah (non koagulan) dan masukkan ke dalam gelas kimia.

3. Pengumpulan *Pooled serum*

- a. Menyipakan wadah dan diletakkan di General Medical Check Up UGM.
- b. Menampung *pooled serum* hingga batas yang digunakan.

4. Pemrosesan *Pooled Serum*

- a. Mengumpulkan serum sesuai pada gelas kimia dan tersimpan beku di dalam *freezer*/almari pendingin.
- b. Mengeluarkan gelas kimia yang berisi kumpulan serum dan dibiarkan mencair pada suhu kamar.
- c. Mengaduk kumpulan serum tersebut menggunakan batang pengaduk *magnetic stirrer* secara hati-hati dan memastikan semuanya tercampur rata.
- d. Melakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000rpm.
- e. Mengambil supernata di atas endapan secara hati-hati menggunakan mikropipet.
- f. Mengambil sebanyak 1 ml untuk pengecekan HIV, HBsAg, dan HCV pada serum yang sudah mencair dan tercampur sempurna.
- g. Setelah homogen sempurna, lakukan tahap penyaringan menggunakan kassa steril atau penyaring bakteri 0,22 ml. Dinaikkan di atas penambahan natrium azida.
- h. Setelah hasil negatif kemudian menambahkan Natrium Azida 0,1%.
- i. Membagi kedalam botol penicillin yang berukuran 1 ml.
- j. Masing-masing botol penicillin yang berisi 1 ml filtrat ditutup dengan parafilm.
- k. Botol penicillin dimasukkan ke dalam *refrigerator* dengan suhu 4-8°C selama 24 jam.
- l. Dimasukkan ke dalam *freezer* yang bersuhu -20°C selama 24 jam.

- m. Kemudian *pooled serum* dikirimkan ke laboratorium riset terpadu FKGM UGM untuk perlakuan kering beku.

5. Pembuatan Serum Liofilisat

Pembuatan serum liofilisat pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu Universitas Gadjah Mada sehingga botol penicillinnya diserahkan kepada pihak tersebut.

6. Uji Homogenitas

- a. Mengambil sampel yang akan diuji homogenitas secara acak sebanyak 10 vial.
- b. Memipet ke dalam kuvet sebagai berikut:

Tabel 2. Volume Pemeriksaan Kolesterol Total untuk Uji Homogenitas

Perlakuan	Blanko	Standar	Sampel
Serum kontrol	-	-	10 μ L
Standar	-	10 μ L	-
Reagen kerja	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L

- c. Melakukan homogenisasi pada setiap kuvet.
- d. Melakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit.
- e. Membaca absorban atau hasil pemeriksaan menggunakan spektrofotometer pada Panjang gelombang 520nm terhadap blanko reagen.
- f. Mencatat hasil.
- g. Sampel pemeriksaan dilakukan secara duplo.

Uji homogenitas pada serum liofilisat dapat dilakukan atau diuji berdasarkan ISO 13528: 2015.

7. Penyimpanan

Menyimpan serum yang telah diproses kering beku pada suhu 2–8°C selama 2 bulan di dalam *freezer*.

8. Uji Stabilitas

- a. Mengambil sampel yang akan diuji homogenitas secara acak sebanyak 3 vial.
- b. Memipet ke dalam kuvet sebagai berikut:

Tabel 3. Volume Pemeriksaan Kolesterol Total untuk Uji Stabilitas

Perlakuan	Blanko	Standar	Sampel
Serum kontrol	-	-	10
Standar	-	10 µL	-
Reagen kerja	1000 µL	1000 µL	1000 µL

- c. Melakukan homogenisasi pada setiap kuvet.
- d. Melakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit.
- e. Membaca absorban atau hasil pemeriksaan menggunakan spektrofotometer pada Panjang gelombang 520nm terhadap blanko reagen.
- f. Mencatat hasil pemeriksaan.
- g. Sampel pemeriksaan dilakukan secara duplo.

Uji stabilitas pada serum liofilisat dapat dilakukan atau diuji berdasarkan ISO 13528: 2015.

K. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Dalam penelitian kuantitatif, cakupan penuh dari analisis data mencakup semua langkah yang diperlukan untuk memproses, menguji, dan menafsirkan temuan yang telah dikumpulkan. Analisis ini menggabungkan baik perhitungan ringkasan (seperti rata-rata (mean), nilai tengah (median), dan sebaran data (simpangan baku)) (Susanto dkk, 2024).

Pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif atau analisis data dengan mengukur perhitungan rata-rata (mean), nilai tertinggi (max), nilai terendah (min), standar deviasi (SD), dan koefisiensi variasi (CV) pada *pooled serum* yang diproses secara kering beku terhadap kadar kolesterol total sebelum dilakukan penyimpanan dan setelah dilakukan penyimpanan pada suhu 2-8°C selama 2 bulan.

2. Uji Homogenitas dan Stabilitas

a. Uji Homogenitas

Pada bagian uji homogenitas dilakukan pengujian pada 10 sampel yang dilakukan secara duplo atau pengulangan. Perhitungan statistik uji homogenitas dapat dilakukan sebagai berikut:

- 1) Menghitung rata-rata hasil siplo dan duplo (X_t) dengan rumus:

$$X_t = \frac{(X_{t1} + X_{t2})}{2}, \text{ dimana } X_{t1} \text{ adalah hasil uji ke-1 dan } X_{t2} \text{ hasil uji ke-2.}$$

- 2) Menghitung selisih absolut (W_t) yang didapatkan dari hasil siplo dan duplo dengan rumus: $W_t = |X_{t1} - X_{t2}|$.

- 3) Menghitung rata-rata umum (X_r) dengan rumus:

$$X_r = \sum \frac{X_t}{g}, \text{ dimana } g \text{ adalah jumlah subsampel yang digunakan.}$$

- 4) Menghitung standar deviasi rata-rata pada subsampel (S_x) dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\sum \frac{(X_t - X_r)^2}{(g-1)}}$$

- 5) Menghitung standar deviasi *within samples* (S_w) dengan rumus:

$$S_w = \sqrt{\sum \frac{W_t^2}{2g}}$$

- 6) menghitung standar deviasi *between samples* (S_s) dengan rumus:

$$S_s = \sqrt{S_x^2 - \frac{S_w^2}{2}}$$

- 7) Sampel pemeriksaan dapat dikatakan cukup homogen jika: $ss \leq 0,3 \sigma_{pt}$. Dalam konteks tersebut di mana σ merupakan standar deviasi untuk penilaian profesiensi (SDPA), nilai σ dapat ditentukan menggunakan CV Horwitz.

- 8) Menentukan CV Horwitz menggunakan rumus: $2^{(1-0,5 \log C)}$, dimana C merupakan konsentrasi yang akan diukur.

Keterangan:

- a) $X_t 1$: hasil siplo (hasil uji 1)
- b) $X_t 2$: hasil duplo (hasil uji 2)
- c) g : jumlah subsample yang digunakan

b. Uji Stabilitas

Pada bagian uji stabilitas diambil sebanyak 3 sampel duplo untuk dilakukan perhitungan. Adapun uji stabilitas dapat dilakukan sebagai berikut:

- 1) Membandingkan jumlah rata-rata umum hasil dari pengukuran yang diperoleh dalam pemeriksaan sebelum distribusi/ uji homogenitas (X_r) dengan rata-rata umum hasil yang diperoleh dalam pemeriksaan stabilitas (Y_r).
- 2) Melakukan perhitungan dengan cara menghitung selisih antara uji homogenitas (X_r) dengan uji stabilitas (Y_r).
- 3) Sampel dapat dikatakan stabil apabila: $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$.

L. Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta pada tanggal 13 Januari 2026 dengan nomor *Ethical Clearance* No.DP.04.03/e-KEPK.1/038/2026.

M. Hambatan Penelitian

Hambatan dari penelitian ini terdapat pada perubahan suhu selama masa penyimpanan 2 bulan.