

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif yaitu pra eksperimen. Sampel pada penelitian jenis pra eksperimental tidak dipilih secara random. Sampel yang digunakan untuk kelompok eksperimen yaitu serum lipemik yang diolah dengan flokulan kitosan dan sebagai kelompok kontrol yaitu sampel lipemik yang ditangani dengan *high speed* sentrifugasi dengan kecepatan 10.200 rpm selama 15 menit pada suhu 25°C (Castro, dkk. 2018). Hasil dari perlakuan tersebut berupa kadar trigliserida yang diukur secara spektrofotometri.

2. Desain Penelitian

Desain penelitian ini yaitu rancangan *static group comparison*. Desain ini tidak dilakukan *pretest* karena peneliti hanya ingin membandingkan kadar trigliserida pada serum lipemik yang ditambah flokulan kitosan dengan kontrol *high speed* sentrifugasi kecepatan 10.200 rpm selama 15 menit pada suhu 25°C. Sampel pada penelitian dipilih secara *purposive sampling* dan dibagi mejadi dua kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok eksperimen yaitu serum lipemik diberi perlakuan penambahan flokulan kitosan dan sebagai *posttest*. Kelompok kedua adalah kelompok kontrol yaitu serum dilakukan *high speed* sentrifugasi pada kecepatan 10.200 rpm selama 15 menit pada suhu 25°C. Bentuk rancangan desain penelitian dapat dilihat di Tabel 3.

Tabel 3. Desain Penelitian *Static Group Comparison*

Perlakuan	Post Test
X	O ₁
	O ₂

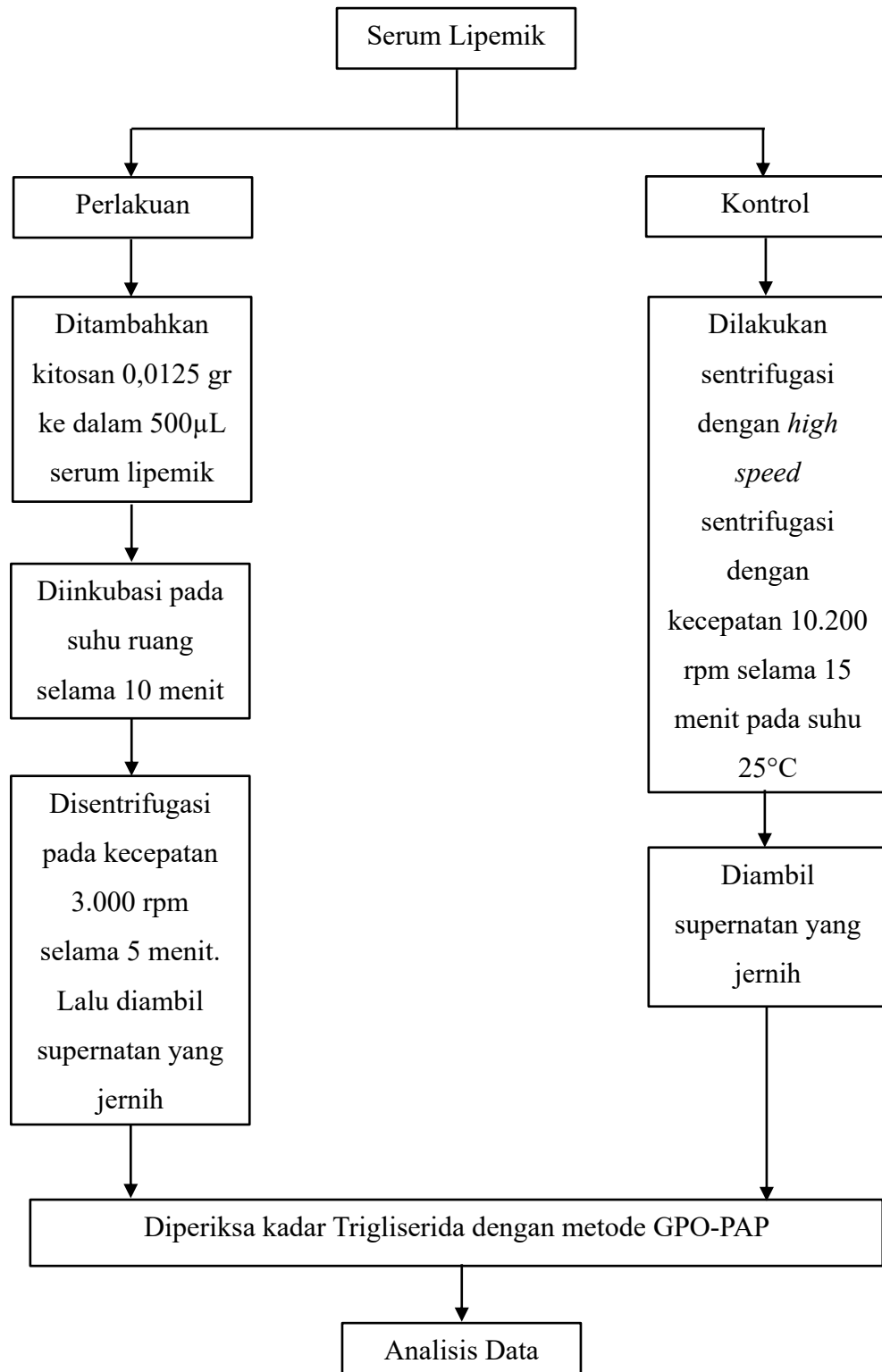
Sumber: Sugiyono, 2019.

Keterangan:

X : Penambahan flokulan kitosan

O₁ : Perhitungan kadar trigliserida setelah penambahan flokulan kitosan

O₂ : Perhitungan kadar trigliserida setelah dilakukan *high speed*
sentrifugasi

B. Alur Penelitian

Gambar 4. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah sisa serum lipemik dari RSUP Dr. Sardjito. Dalam penentuan besar sampel, Sugiyono (2019) mengemukakan bahwa ukuran sampel yang layak dalam penelitian antara 30 sampai dengan 500. Sehingga dalam penelitian ini akan menggunakan batas minimal sampel yaitu 30. Untuk mengantisipasi kemungkinan subjek terpilih yang *drop out*, *loss to follow up* atau subjek yang tidak taat maka dilakukan koreksi (Sastroasmoro, 2014):

$$n' = \frac{n}{(1 - f)}$$

Keterangan :

n' : Besar sampel dengan *drop out*

n : Besar sampel yang didapat

f : Perkiraan proporsi drop out (20%)

Dari rumus di atas didapatkan:

$$n' = \frac{n}{(1 - f)}$$

$$n' = \frac{30}{(1-0,2)}$$

$$n' = 37,5$$

$$n' = 38$$

Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan, besar sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 38 sampel serum lipemik. Namun, kemudian dilakukan pembulatan ke atas, sehingga banyaknya serum lipemik

yang diperiksa yaitu sejumlah 40 sampel serum lipemik dari RSUP Dr. Sardjito.

a. Kriteria inklusi:

Serum lipemik dengan tingkat lipemik sedang atau memiliki kadar trigliserida 500 – 799 mg/dL

b. Kriteria eksklusi:

1. Serum hemolisis
2. Serum ikterik

2. Objek Penelitian

Objek Penelitian ini adalah kadar trigliserida pada serum lipemik dengan penambahan flokulan kitosan dan *high speed* sentrifugasi.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 29 Desember 2025.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium patologi klinik Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Kota Yogyakarta (BB Labkesmas Yogyakarta).

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penambahan flokulan kitosan pada serum lipemik dan penggunaan *high speed* sentrifugasi pada serum lipemik.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida yang ditambahkan kitosan dan yang diolah dengan *high speed* sentrifugasi.

F. Definisi Operasional

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penanganan serum lipemik dengan penambahan flokulan kitosan dan *high speed* sentrifugasi. Penanganan serum lipemik dengan penambahan flokulan kitosan adalah perlakuan pada sampel serum lipemik tingkat sedang dengan kadar trigliserida 500-799 mg/dL dengan cara menambahkan serbuk kitosan ke dalam serum untuk mengikat dan mengendapkan partikel lipoprotein penyebab lipemik, sehingga diperoleh serum yang lebih jernih. Penanganan serum lipemik dengan *high speed* sentrifugasi adalah perlakuan pada sampel serum lipemik tingkat sedang dengan kadar trigliserida 500-799 mg/dL dengan cara melakukan sentrifugasi kecepatan tinggi dengan kisaran 10.000-30.000 rpm. Penambahan flokulan kitosan sebanyak 0,0125 gram atau dengan perbandingan 40:1 (40 bagian serum lipemik dan 1 bagian serbuk kitosan). Untuk *high speed* sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 10.200 rpm selama 15 menit.

Satuan: -

Skala : Nominal

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida pada serum lipemik pada tingkat sedang setelah dilakukan penanganan dengan flokulan kitosan dan kadar trigliserida pada serum lipemik pada tingkat sedang setelah dilakukan penanganan dengan *high speed* sentrifugasi. Kadar trigliserida adalah jumlah trigliserida dalam darah yang dinyatakan dalam satuan mg/dL.

Satuan: mg/dL

Skala: Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan untuk penelitian ini adalah data primer karena data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti didapatkan secara langsung dari sumber datanya. Data primer pada penelitian ini diperoleh langsung melalui pemeriksaan kadar trigliserida pada sisa serum lipemik dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengukuran. Data diperoleh setelah melakukan pemeriksaan kadar trigliserida pada sampel serum lipemik yang didapat sebelum proses penambahan flokulan kitosan dan perlakuan *high speed* sentrifugasi serta setelah proses penambahan flokulan kitosan dan perlakuan *high speed* sentrifugasi.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Kimia *analyzer* otomatis (*chemistry biosystem A15*)
- b. Alat high speed sentrifugasi
- c. *Centrifuge*
- d. Cup spesimen
- e. Mikropipet
- f. Tip biru
- g. Tip kuning
- h. Neraca analitik
- i. Botol timbang
- j. Sendok
- k. *Microtube*
- l. *Cooler box*

2. Bahan Penelitian

- a. Sampel serum lipemik
- b. Serbuk kitosan
- c. *System liquid*
- d. *Washing solution*
- e. *Calibrator Biosystem*
- f. Serum kontrol level 1 dan 2
- g. Aquabides
- h. Reagen

Tabel 4. Komposisi Reagen Triglicerida

Kandungan	Jumlah
Buffer PIPES (pH 7,2)	50 mmol/l
4-aminoantipyrine (4-AAP)	0.4 mmol/l
ATP	1.0 mmol/l
Chromogen	2.0 mmol/l
Glycerol kinase (GK)	≥ 300 U/L
Glycerol-3-phosphate oxidase (GPO)	≥ 1000 U/L
Peroxidase (POD)	≥ 500 U/L
Lipoprotein lipase (LPL)	≥ 2000 U/L
Activators & Stabilizers	

Sumber: Biosystem, G., 2025

I. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas instrumen menggunakan serum kontrol komersial yang dibuktikan dengan grafik. Serum kontrol diperiksa dengan metode *day to day*, yaitu pemeriksaan serum kontrol yang dilakukan setiap hari, kemudian dibuat grafik *Levey-Jennings*. Data pemeriksaan yang telah memenuhi syarat lalu dicari mean, standar deviasi dan koefisien variasi. Selanjutnya data di terapkan dalam grafik *Levey-Jennings* dan di analis menggunakan aturan *Westgard*.

J. Prosedur Penelitian

Data penelitian diperoleh dari melakukan pengukuran kadar trigliserida dengan tahap-tahap sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan

- a. Pengurusan surat keterangan layak etik di Komisi Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

- b. Pengurusan perizinan untuk melakukan penelitian di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Kota Yogyakarta.
- c. Pengurusan perizinan pengambilan serum lipemik sisa dari RSUP Dr. Sardjito.
- d. Pengadaan serbuk kitosan.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pengumpulan Serum Lipemik

Serum lipemik dikumpulkan sebanyak 40 serum dengan tingkatan lipemik sedang yang berdasarkan kadar trigliserida serta tidak hemolisis dan ikterik yang berasal dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito. Apabila serum lipemik tidak langsung diperiksa, maka dapat disimpan dengan ketentuan sebagai berikut:

- 1) Serum lipemik disimpan pada suhu 20-25°C selama 6 jam.
- 2) Serum lipemik disimpan pada suhu 4°C selama 6 hari.
- 3) Serum lipemik disimpan pada suhu -20°C selama 6 bulan.

Serum lipemik yang disimpan dan dapat digunakan untuk pemeriksaan adalah serum lipemik yang penyimpanannya tidak melebihi persyaratan di atas. Pengiriman sampel dari Instalasi Laboratorium Klinik RSUP Dr. Sardjito ke Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Kota Yogyakarta dengan cara disimpan menggunakan *cooler box* agar tidak merusak komponen dari serum.

- b. Serum lipemik yang telah terkumpul masing-masing dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama merupakan serum lipemik yang ditambahkan

dengan flokulan kitosan sebanyak 0,0125 gram (Rahayu, 2021). Dan bagian kedua merupakan serum lipemik yang diberi perlakuan *high speed* sentrifugasi.

- c. Menimbang kitosan dengan menggunakan neraca analitik sebesar 0,0125 gram.
- d. Pemeriksaan serum kontrol (*Quality Control*)
 - 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
 - 2) Alat dinyalakan dengan menekan tombol *on* pada belakang alat
 - 3) Komputer dihidupkan
 - 4) Setelah terdengar bunyi '*BEEP*' masuk ke A15 user
 - 5) Dilakukan login dengan memasukkan *username* dan *password*.
 - 6) Dilakukan proses warming up dan ditunggu lebih kurang 20 menit.
 - 7) Dilakukan klik ikon bergambar tabung reaksi.
 - 8) Dilakukan klik pada menu sampel data lalu diklik pada menu *class* dan pilih *control*.
 - 9) Didaftarkan parameter yang akan diperiksa yaitu parameter trigliserida.
 - 10) Bahan control serum level 1 dan 2 Biosystem diposisikan di rak reagen kemudian ditekan tombol *accept*.
 - 11) Alat akan melakukan proses running dan ditunggu hingga proses selesai.
- e. Prosedur pemeriksaan kadar trigliserida untuk sampel lipemik yang ditambahkan dengan flokulan kitosan

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - 2) Dipipet 500 μ L serum lipemik ke dalam *microtube* lalu ditambahkan dengan 0,0125 gr serbuk kitosan kemudian dihomogenkan.
 - 3) Diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.
 - 4) Sampel disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 3.000 rpm.
 - 5) Supernatan dipipet dan dimasukkan ke dalam cup spesimen
 - 6) Cup spesimen ditekan di rak spesimen pada alat *chemistry biosystem A15* untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar trigliserida.
- f. Prosedur pemeriksaan kadar trigliserida untuk sampel lipemik yang diberi perlakuan *high speed* sentrifugasi
- 1) Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - 2) Dipipet 500 μ L serum lipemik ke dalam *microtube* lalu dimasukkan ke dalam alat *high speed* sentrifugasi.
 - 3) Dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 10.200 rpm selama 15 menit.
 - 4) Serum jernih yang dihasilkan dipisahkan dengan cara dipipet dan dimasukkan ke dalam cup spesimen untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar trigliserida.
- g. Tahap Pemeriksaan Kadar Trigliserida dengan menggunakan alat *chemistry biosystem A15*
- 1) Menjalankan Blank
 - a) Dilakukan klik ikon bergambar tabung reaksi.

- b) Dilakukan klik pada menu sampel data lalu diklik pada menu *class* dan pilih *control*.
- c) Didaftarkan parameter yang akan diperiksa yaitu trigliserida.
- d) Cairan berisi aquabides diletakkandi rak reagen, kemudian tekan *accept*
- e) Alat akan melakukan proses *running* dan tunggu sampai proses selesai.

2) Pemeriksaan Spesimen

- a) Disipakan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b) Dilakukan klik ikon bergambar tabung reaksi.
- c) Dilakukan klik pada menu sampel data lalu diklik pada menu *class* dan pilih *control*.
- d) Didaftarkan parameter yang akan diperiksa yaitu parameter trigliserida.
- e) Sampel yang akan diperiksa diposisikan di rak kemudian ditekan tombol *accept*.
- f) Alat akan melakukan proses pemipetan sampel secara otomatis.

Ketentuan pemipetan reagen dan sampel yang akan dilakukan oleh alat secara otomatis sebagai berikut:

	Blank	Standar	Test
Reagen	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Aquabides	10 μ L		
Standar		10 μ L	
Sampel			10 μ L

Sampel akan dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit

pada suhu 37°C atau selama 20 menit pada suhu 25-30°C

didalam alat. Semua proses akan dilakukan secara otomatis oleh alat.

- g) Alat akan melakukan proses *running*. Pemeriksaan trigliserida dilakukan pada panjang gelombang 546 nm. Tunggu hingga proses selesai.

K. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh merupakan data hasil pemeriksaan trigliserida pada serum lipemik yang langsung diperiksa, serum lipemik dengan penambahan kitosan dan serum lipemik yang diolah dengan *high speed* sentrifugasi. Data dianalisis secara deskriptif kemudian dilakukan uji statistik. Analisis deskriptif berupa tabel dan diagram batang, selanjutnya dianalisis secara deskriptif dalam penyebaran data melalui perhitungan rerata dan selisih rerata hasil dan disajikan dalam bentuk diagram batang.

2. Analisis Komparatif

Data yang diperoleh merupakan data hasil pemeriksaan trigliserida pada serum lipemik dengan penambahan kitosan dan serum lipemik yang diolah dengan *high speed* sentrifugasi. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala rasio. Data yang diperoleh tersebut dilakukan uji *Shapiro-Wilk Test*, jika data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan *Paired Sample T-test*, sedangkan jika data tidak berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon (2 Related Sample)* dan ditambah dengan uji *Paired Sample T-test* untuk mendapatkan nilai

upper limit dan *lower limit*. Analisis dilakukan dengan bantuan perangkat lunak dan SPSS 25 *for windows* dengan taraf *significant* 5%, artinya hipotesis diterima apabila *asympt sig* > 0,5.

Analisis analitik selanjutnya adalah evaluasi bias yang dilakukan dengan menetapkan *high speed* sentrifugasi sebagai kontrol atau pembanding. Analisis ini dilakukan untuk menilai kesetaraan klinis hasil pemeriksaan trigliserida antara penambahan kitosan dan *high speed* sentrifugasi. Dari analisis statistik akan didapatkan nilai *upper limit* dan *lower limit*, selanjutnya kedua nilai tersebut dibandingkan dengan TEa (*Total Error Allowable*) pemeriksaan trigliserida yang telah ditetapkan oleh CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*). TEa untuk pemeriksaan trigliserida adalah $\pm 15\%$.

Perbandingan ini digunakan untuk menentukan apakah perbedaan hasil antara kedua metode masih berada dalam batas kesalahan yang dapat diterima secara klinis. Jika nilai *upper limit* dan *lower limit* masih berada dalam batas TEa CLIA yang diperbolehkan maka hasil diterima, jika salah satu nilai atau kedua nilai limit berada di atas batas TEa CLIA maka hasil ditolak.

L. Etika Penelitian

Etika Penelitian dalam penelitian ini membahas tentang bagaimana peneliti melakukan penelitian secara etik dan tidak melakukan pengubahan data atau informasi. Penelitian telah memperoleh surat kelayakan etik No.DP.04.03/e-

KEPK.1/1317/2025. Subjek penelitian ini adalah sisa serum lipemik sehingga tidak memerlukan *informed consent* dan PSP (Penjelasan Sebelum Persetujuan).