

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

###### **1. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dengan pendekatan pre-eksperimental di laboratorium. Penelitian ini termasuk pre-eksperimental karena pemilihan sampel dilakukan tanpa randomisasi dan efek perlakuan dinilai dengan membandingkan dua kondisi perlakuan pada sampel yang sama. Peneliti berupaya mengendalikan variabel luar yang berpotensi memengaruhi proses penelitian, seperti hemolisis dan ikterik pada sampel (Sugiyono, 2019).

Perlakuan eksperimen berupa serum lipemik dengan penambahan flokulan kitosan murni sebanyak 0,0125 g (2,5%) (Suarsana, dkk., 2012; Fathurrohman, dkk., 2022). Perlakuan kontrol menggunakan *high speed* sentrifugasi dengan percepatan  $10.000 \times g$  ( $\approx 10.200$  rpm) selama 15 menit pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  (Castro, dkk., 2018). Setelah perlakuan, sampel diperiksa untuk menilai hasilnya. Parameter penilaian adalah kadar glukosa yang diukur dengan metode GOD-PAP secara spektrofotometri.

###### **2. Desain Penelitian**

Desain penelitian ini menggunakan rancangan *One Group Pretest-Posttest*, yakni membandingkan kondisi sampel sebelum dan setelah perlakuan (Sugiyono, 2019). Satu kelompok sampel serum lipemik diukur kadar glukosanya sebelum perlakuan untuk mengetahui kondisi dasar, kemudian

dialikuot menjadi dua bagian yang masing-masing diberi perlakuan berbeda, yaitu penambahan flokulan kitosan dan penggunaan *high speed* sentrifugasi sebagai kontrol. Skema rancangan penelitian disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Desain Penelitian *One Group Pretest-Posttest*

| <i>Pretest</i> | Perlakuan      | <i>Posttest</i> |
|----------------|----------------|-----------------|
| O <sub>0</sub> | X <sub>1</sub> | O <sub>1</sub>  |
| O <sub>0</sub> | X <sub>2</sub> | O <sub>2</sub>  |

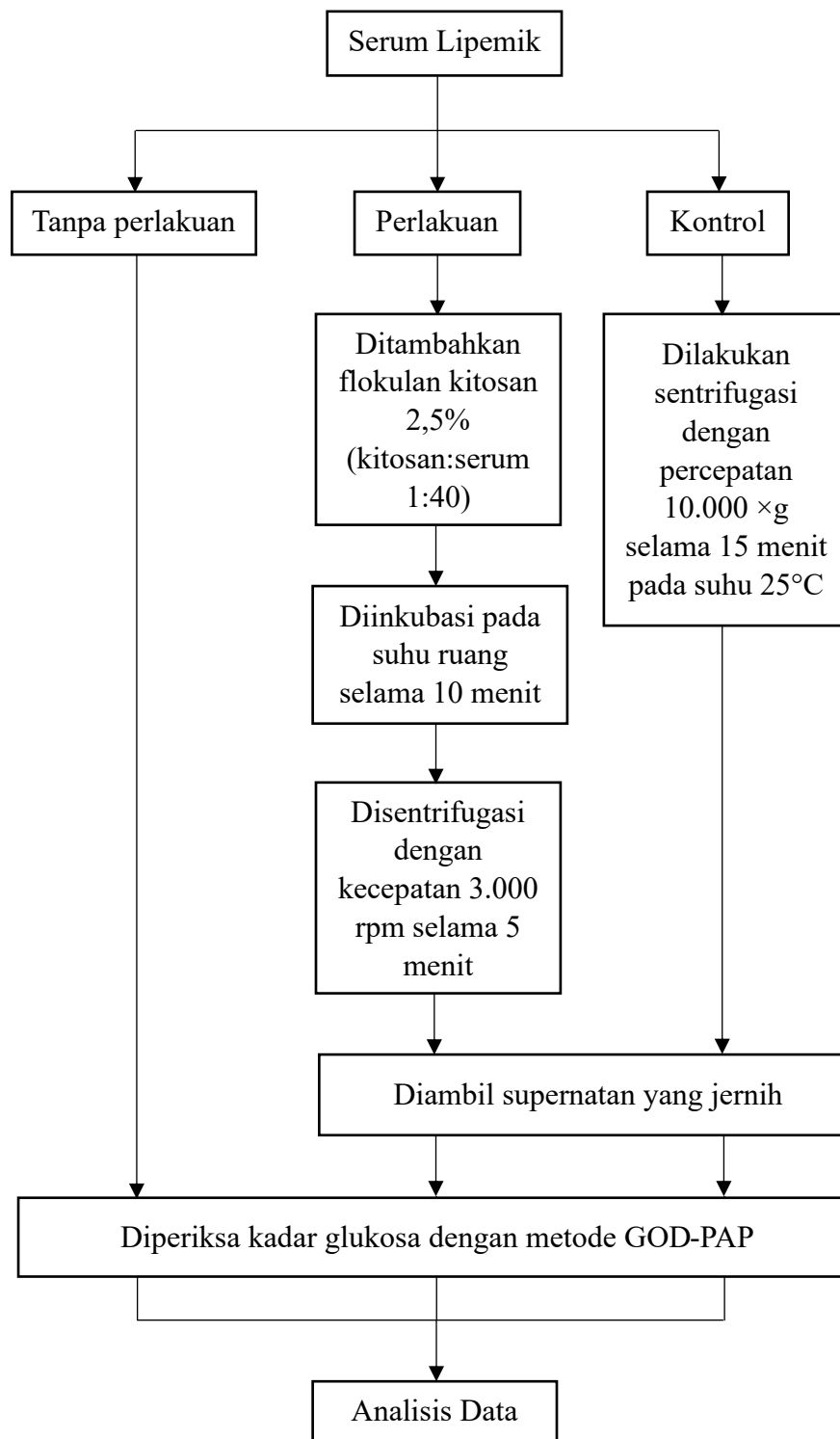
Sumber: Sugiyono, 2013.

Keterangan:

- O<sub>0</sub> : Pengukuran kadar glukosa sebelum perlakuan
- X<sub>1</sub> : Perlakuan menggunakan flokulan kitosan
- X<sub>2</sub> : Perlakuan menggunakan *high speed* sentrifugasi (sebagai kontrol)
- O<sub>1</sub> : Pengukuran kadar glukosa setelah perlakuan menggunakan flokulan kitosan
- O<sub>2</sub> : Pengukuran kadar glukosa setelah perlakuan menggunakan *high speed* sentrifugasi

## B. Alur Penelitian

Alur penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Alur Penelitian

### C. Subjek dan Objek Penelitian

#### 1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah sisa serum lipemik dari RSUP Dr. Sardjito. Perhitungan besar sampel dilakukan dengan mempertimbangkan perbedaan rerata kadar glukosa antara penanganan menggunakan flokulan kitosan dan *high speed* sentrifugasi sebagai perbedaan utama yang ingin dideteksi. Menurut Dahlan (2013), besar sampel untuk analisis numerik berpasangan dihitung berdasarkan rumus berikut:

$$n = \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X1 - X2} \right]^2$$

$$n = \left[ \frac{(1,96 + 1,282)14,812}{10,89} \right]^2$$

$$n = [4,409]^2$$

$$n = 19,43$$

$$n = 20$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

Z $\alpha$  = kesalahan tipe I (5%)

Z $\beta$  = kesalahan tipe II (10%)

S = simpang baku dari selisih antar kelompok

X1-X2 = selisih minimal rerata yang dianggap bermakna

Dalam penelitian kesehatan, besar sampel tidak cukup ditentukan dengan aturan praktis, tetapi harus dihitung berdasarkan desain penelitian, jenis *outcome*, tingkat kesalahan dan *power* yang diinginkan. World Health

Organization menekankan bahwa penentuan besar sampel dalam studi kesehatan perlu disesuaikan dengan tujuan, jenis data dan metode analisis yang akan digunakan (Chow, dkk., 2018; Lwanga dan Lemeshow, 1991). Sejalan dengan itu, Dahlan (2013) menyusun rumus besar sampel khusus untuk berbagai jenis penelitian kedokteran dan kesehatan dengan mengklasifikasikan desain menjadi deskriptif dan analitik, numerik dan kategorik, berpasangan dan tidak berpasangan. Oleh karena itu, pada penelitian ini besar sampel dihitung menggunakan rumus komparatif numerik berpasangan menurut Dahlan (2013).

Teknik pengumpulan subjek penelitian ini dilakukan secara *purposive sampling* dengan kriteria sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Serum yang secara visual tampak keruh.
- 2) Serum dengan kadar trigliserida  $\geq 500$  sampai  $\leq 799$  mg/dL.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Serum hemolitik.
- 2) Serum ikterik.

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah kadar glukosa sebelum dan setelah penanganan menggunakan flokulan kitosan serta *high speed* sentrifugasi.

#### **D. Waktu dan Tempat Penelitian**

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 29 Desember 2025.

## 2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik BB Labkesmas Yogyakarta.

## E. Variabel Penelitian

### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penanganan sampel serum lipemik menggunakan flokulan kitosan dan *high speed* sentrifugasi.

### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan kadar glukosa.

## F. Definisi Operasional Variabel

1. Penanganan sampel serum lipemik adalah proses pengolahan serum lipemik dari keruh menjadi jernih menggunakan:
  - a. Teknik flokulasi kitosan yaitu perlakuan kelompok eksperimen dengan menambahkan serbuk kitosan 0,0125 g pada 0,5 mL serum lipemik (rasio kitosan:serum 1:40).
  - b. Teknik *high speed* sentrifugasi yaitu perlakuan kelompok kontrol dengan percepatan  $10.000 \times g$  ( $\approx 10.200$  rpm) selama 15 menit pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ .
2. Hasil pemeriksaan kadar glukosa adalah hasil pengukuran kadar glukosa dalam serum menggunakan metode GOD-PAP pada tiga kondisi, yaitu sebelum penanganan, setelah penanganan menggunakan flokulan kitosan dan setelah penanganan menggunakan *high speed* sentrifugasi yang ditetapkan dalam bentuk angka dengan satuan mg/dL dan skala data rasio.

## **G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis Pengumpulan Data**

Jenis pengumpulan data yang digunakan adalah data primer, yaitu data yang diperoleh langsung dari sumbernya melalui pelaksanaan penelitian di laboratorium sehingga bersifat mutakhir.

### **2. Teknik Pengumpulan Data**

Teknik pengumpulan data dilakukan melalui pemeriksaan dan pengukuran kadar glukosa pada serum lipemik.

## **H. Alat dan Bahan Penelitian**

### **1. Alat dan Instrumen**

- a. *Chemistry Analyzer* BioSystems A15
- b. *Cup specimen*
- c. Mikropipet 500 $\mu$ L dan 200 $\mu$ L
- d. Tip kuning
- e. Mikrotube
- f. Neraca analitik
- g. Botol timbang
- h. *Centrifuge*
- i. *High speed centrifuge*
- j. *Stopwatch*
- k. *Cool box*

## 2. Bahan

- a. Reagen KIT glukosa merk BioSystems
- b. *System liquid*
- c. *Washing solution*
- d. Control serum level 1 dan 2
- e. Aquabides
- f. Spesimen serum lipemik sebanyak 20 sampel
- g. Hand sanitizer
- h. Sepatu
- i. Jas laboratorium
- j. Masker
- k. Sarung tangan sekali pakai

### I. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas instrumen dilakukan pada alat *Chemistry Analyzer* BioSystems A15 menggunakan bahan kontrol sebagai *Quality Control* (QC) sebelum pemeriksaan sampel. Metode yang diterapkan adalah *within day*, yaitu QC diukur berulang sebanyak 20 kali dalam satu hari. Hasil pengukuran QC kemudian dipetakan pada grafik Levey-Jennings. Grafik harus menunjukkan tidak ada penyimpangan menurut aturan Westgard (*in control*). Jika terjadi penyimpangan hasil (*out of control*), dilakukan evaluasi terhadap instrumen dan reagen hingga hasil kembali *in control*.

## J. Prosedur Penelitian

### 1. Tahap persiapan

- a. Pengurusan perizinan penelitian di Laboratorium Patologi Klinik BB Labkesmas Yogyakarta.
- b. Pengajuan etika penelitian kepada Komisi Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- c. Perizinan dan permintaan sisa serum lipemik di Laboratorium RSUP Dr. Sardjito.
- d. Pengadaan serbuk kitosan murni.

### 2. Tahap pelaksanaan

- a. Pengumpulan serum lipemik

Serum lipemik sebanyak 20 sampel dikumpulkan dari RSUP Dr. Sardjito dengan kriteria tampak keruh, kadar trigliserida 500–799 mg/dL, tidak mengalami hemolisis dan tidak ikterik. Jika pemeriksaan kadar glukosa tidak dapat dilakukan segera, serum disimpan dengan ketentuan berikut:

- 1) Pada suhu 20–25°C, stabil hingga 6 jam.
- 2) Pada suhu 2–8°C, stabil hingga 3 hari.
- 3) Pada suhu –20°C, stabil hingga 3 bulan.

Sampel yang berasal dari RSUP Dr. Sardjito disimpan pada suhu –20°C dan stabil hingga 3 bulan. Pengiriman ke Laboratorium Patologi Klinik BB Labkesmas Yogyakarta dilakukan menggunakan *cool box* sehingga kondisi tetap dingin dan stabil sepanjang pengiriman.

## b. Persiapan pemeriksaan

- 1) Alat dan bahan disiapkan.
- 2) Tangan dibersihkan menggunakan sabun atau hand sanitizer dengan enam langkah.
- 3) Alat pelindung diri (sepatu, jas laboratorium, masker dan sarung tangan sekali pakai) digunakan.
- 4) Wadah limbah dipastikan kosong dan wadah reagen dipastikan telah terisi serta terpasang dengan baik.
- 5) Alat dinyalakan dengan menekan tombol “ON” pada bagian belakang, kemudian komputer dihidupkan.
- 6) Menu A15 User diakses setelah bunyi “BIP” terdengar.
- 7) Username dan password “lab” dimasukkan untuk *login* ke sistem.
- 8) Proses pemanasan (*warming up*) dilakukan selama  $\pm 20$  menit.
- 9) Perintah N-rotor diklik apabila rotor baru dipasang dan proses diselesaikan dalam waktu  $\pm 5$  menit.
- 10) Alat siap digunakan untuk pemeriksaan *Blank*, *Quality Control* dan *Running Spesimen*.

Tabel 5. Prosedur Pemeriksaan Kadar Glukosa oleh *Chemistry Analyzer BioSystems A15*

| Reagen                                                                                        | Blank (B)          | Standard (S)       | Test (T)           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| R1 Reagen Glukosa                                                                             | 1000 $\mu\text{L}$ | 1000 $\mu\text{L}$ | 1000 $\mu\text{L}$ |
| Aquabides                                                                                     | 10 $\mu\text{L}$   |                    |                    |
| R2 Standard Glukosa                                                                           |                    | 10 $\mu\text{L}$   |                    |
| Sampel/ Kontrol                                                                               |                    |                    | 10 $\mu\text{L}$   |
| Dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C atau 15 menit pada suhu 20-25°C. |                    |                    |                    |
| Dibaca pada panjang gelombang 500 nm.                                                         |                    |                    |                    |

Sumber: Genuine Biosystem, 2025.

c. Pemeriksaan *Blank*

- 1) Alat dan bahan disiapkan.
- 2) Ikon bergambar “tabung reaksi” diklik.
- 3) Menu “Sampel Data” dipilih, kemudian opsi “Class” dan “Blank” dipilih.
- 4) Parameter yang akan diperiksa, yaitu glukosa, didaftarkan.
- 5) Cup spesimen yang berisi cairan aquabides diposisikan pada rak reagen, kemudian tombol “Accept” ditekan.
- 6) Proses analisis pada alat dijalankan dan ditunggu hingga selesai.

d. Pemeriksaan *Quality Control*

- 1) Alat dan bahan disiapkan.
- 2) Ikon bergambar “tabung reaksi” diklik.
- 3) Menu “Sampel Data” dipilih, kemudian opsi “Class” dan “Control” dipilih.
- 4) Parameter yang akan diperiksa, yaitu glukosa, didaftarkan.
- 5) Kontrol yang berisi bahan kontrol serum level 1 dan level 2 BioSystems diposisikan pada rak reagen, kemudian tombol “Accept” ditekan.
- 6) Proses analisis pada alat dijalankan dan ditunggu hingga selesai.

e. Persiapan perlakuan

Setiap satu sampel serum lipemik dibagi menjadi tiga aliquot:

- 1) Aliquot pertama sebanyak 200  $\mu\text{L}$  serum lipemik dipipetkan ke dalam cup spesimen untuk pemeriksaan kadar glukosa tanpa perlakuan.
- 2) Aliquot kedua sebanyak 500  $\mu\text{L}$  serum lipemik dipipetkan ke dalam mikrotube untuk perlakuan menggunakan flokulan kitosan sebagai kelompok eksperimen.
- 3) Aliquot ketiga sebanyak 500  $\mu\text{L}$  serum lipemik dipipetkan ke dalam mikrotube untuk perlakuan menggunakan *high speed* sentrifugasi sebagai kelompok kontrol.

f. Perlakuan menggunakan flokulan kitosan

- 1) Alat neraca analitik dinyalakan.
- 2) Serbuk kitosan murni ditimbang menggunakan neraca analitik sebanyak 0,0125 g.
- 3) Serbuk kitosan yang sudah ditimbang ditambahkan ke mikrotube berisi 500  $\mu\text{L}$  serum lipemik.
- 4) Campuran serum–kitosan dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang (20–25°C).
- 5) Campuran disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 3.000 rpm.
- 6) Supernatan sebanyak 200  $\mu\text{L}$  dipipetkan ke dalam cup spesimen untuk pemeriksaan kadar glukosa.

g. Perlakuan menggunakan *high speed* sentrifugasi

- 1) Alat *high speed* sentrifugasi dinyalakan.
- 2) Serum lipemik yang sudah dialikuot ke dalam mikrotube disentrifugasi dengan percepatan  $10.000 \times g$  ( $\approx 10.200$  rpm) selama 15 menit pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ .
- 3) Supernatan sebanyak  $200 \mu\text{L}$  dipipetkan ke dalam cup spesimen untuk pemeriksaan kadar glukosa.

h. Pemeriksaan kadar glukosa

- 1) Alat dan bahan disiapkan.
- 2) Ikon bergambar “tabung reaksi” diklik.
- 3) Menu “Sampel Data” dipilih, kemudian opsi “Class” dan “Sampel” dipilih.
- 4) Parameter yang akan diperiksa, yaitu glukosa, didaftarkan.
- 5) Cup spesimen diposisikan pada rak sampel, kemudian tombol “Accept” ditekan.
- 6) Proses analisis pada alat dijalankan dan ditunggu hingga selesai.

## K. Manajemen Data

### 1. Analisis Deskriptif

Analisis deskriptif dilakukan untuk menggambarkan kadar glukosa pada serum lipemik dalam tiga kondisi, yaitu sebelum penanganan, setelah penanganan menggunakan flokulan kitosan dan setelah penanganan menggunakan *high speed* sentrifugasi. Data tiap kondisi disajikan dalam satu tabel kemudian dilengkapi dengan nilai rerata dan jumlah sampel ( $n$ ).

Untuk menilai perubahan, dihitung selisih kadar glukosa ( $\Delta$ ) dan persentase selisih ( $\%\Delta$ ) pada masing-masing penanganan terhadap nilai sebelum penanganan. Selain itu, dihitung pula selisih dan persentase selisih antara hasil pascapenanganan kitosan dan pascapenanganan *high speed* sentrifugasi. Sebagai pelengkap, data juga divisualisasikan dalam bentuk diagram batang.

## 2. Analisis Komparatif

Analisis komparatif pertama dilakukan untuk menguji perbedaan kadar glukosa pada tiga kondisi, yaitu sebelum penanganan, setelah penanganan menggunakan flokulan kitosan dan setelah penanganan menggunakan *high speed* sentrifugasi. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala rasio. Data primer tersebut dilakukan uji distribusi menggunakan Shapiro–Wilk. Jika data berdistribusi normal, digunakan uji parametrik Repeated Measures ANOVA dan dilanjutkan uji Post Hoc. Jika data tidak berdistribusi normal, digunakan uji nonparametrik Friedman. Analisis dikerjakan menggunakan perangkat lunak SPSS dengan tingkat signifikansi 5 persen dan hipotesis nol dinyatakan diterima apabila nilai Sig. lebih besar dari 0,05 (Sugiyono, 2019).

Analisis komparatif selanjutnya yaitu evaluasi bias dengan menetapkan *high speed* sentrifugasi sebagai metode pembandingan (kontrol). Analisis dilakukan untuk menilai kesamaan klinis hasil pemeriksaan kadar glukosa antara penanganan menggunakan flokulan kitosan dan *high speed* sentrifugasi berdasarkan batas bawah dan batas atas Bland–Altman serta

pemenuhannya terhadap TEa CLIA, dengan TEa untuk parameter glukosa ditetapkan sebesar  $\pm 8\%$ . Hasil dinyatakan diterima apabila kedua batas Bland–Altman berada dalam rentang TEa CLIA. Jika salah satu batas berada di luar rentang, hasil tidak diterima (Bland dan Altman, 1986; CLSI EP09, 2018).

#### **L. Etika Penelitian**

Penelitian ini telah diajukan ke komisi etik penelitian kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Berdasarkan persetujuan Komisi Etik No. DP.04.03/e-KEPK.1/1314/2025, Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Poltekkes Kemenkes Yogyakarta menyatakan bahwa penelitian ini dinyatakan memiliki kelaikan etik pada tanggal 22 Desember 2025.