

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis *quasi-eksperimental*. Dalam hal ini peneliti secara sengaja memberikan perlakuan terhadap variabel bebas, kemudian mengamati dan mengukur pengaruhnya terhadap variabel terikat, sehingga diketahui hubungan sebab akibat dengan memberikan perlakuan, tanpa adanya pengacakan (randomisasi) secara penuh terhadap subjek penelitian (Ibrahim dan Hardjo, 2023). Penelitian ini menggunakan variasi waktu inkubasi 10 menit digunakan sebagai kelompok kontrol karena merupakan standar operasional prosedur (SOP), sedangkan variasi waktu inkubasi 90 menit digunakan sebagai kelompok eksperimen atau perlakuan untuk mengetahui adanya perbedaan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total terhadap kelompok kontrol tersebut.

Desain penelitian ini menggunakan *static group comparison design*, dimana yang satu memperoleh eksperimen atau diberi perlakuan, sedangkan yang lainnya tidak mendapatkan perlakuan apapun sebagai kontrol (sesuai standar operasional prosedur) (Ibrahim dan Hardjo, 2023). Desain penelitian ini digambarkan sebagai berikut:

X ₁	O ₁
X ₂	O ₂

Gambar 3.1 Desain Penelitian

Sumber: Ibrahim dan Hardjo, 2023.

Keterangan:

X₁: Perlakuan variasi waktu inkubasi 10 menit pada suhu ruang

X₂: Perlakuan variasi waktu inkubasi 90 menit pada suhu ruang

O₁: Hasil pengukuran kadar kolesterol (mg/dL) waktu inkubasi 10 menit pada suhu ruang

O₂: Hasil pengukuran kadar kolesterol (mg/dL) waktu inkubasi 90 menit pada suhu ruang.

B. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek

Subjek pada penelitian ini adalah Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Program Studi Diploma Tiga Semester Empat Kelas B. Terdapat beberapa kriteria sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini, antara lain:

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi adalah kriteria atau ciri-ciri yang perlu dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil sebagai sampel penelitian (Joachim Pum, 2021). Kriteria inklusi pada

penelitian ini adalah responden melakukan puasa selama 10-12 jam. Responden dalam kondisi sehat atau tidak dalam keadaan memiliki riwayat penyakit yang akan mengganggu kadar kolesterol seperti penyakit jantung, hipertensi (tekanan darah tinggi) dan stroke. Responden tidak mengonsumsi obat-obatan seperti *kortikosteroid*, *diuretik*, *beta bloker*, *ezetimibe* dan suplemen minyak ikan sebelum dilakukan pengambilan sampel.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kriteria atau ciri-ciri populasi yang tidak dapat diambil sebagai sampel (Joachim Pum, 2021). Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah serum hemolisis, lipemik dan ikterik.

Penelitian ini menggunakan teknik pengambilan sampel purposive sampling, yaitu pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu sesuai dengan tujuan penelitian (Sugiyono, 2018). Sampel penelitian diambil ketika subjek dalam penelitian ini telah memenuhi seluruh kriteria yang telah ditentukan.

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini telah memenuhi standar yang direkomendasikan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) EP09-A3 (2021). Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Program Studi Diploma Tiga Semester Empat Kelas B berjumlah 47 mahasiswa. Mahasiswa yang berjumlah 47 orang tersebut selanjutnya diberikan penjelasan melalui Naskah Sebelum

Persetujuan (PSP) terkait kriteria yang dapat diambil sebagai sampel penelitian. Mahasiswa yang memenuhi kriteria inklusi berjumlah 42 orang dan dilakukan pengambilan sampel, selanjutnya sampel tersebut disentrifugasi untuk mengetahui serum telah memenuhi kriteria eksklusi yang akan dilakukan pengukuran kadar kolesterol total sebagai objek penelitian. Lima mahasiswa tidak dapat memenuhi kriteria yang telah ditetapkan yaitu melakukan puasa selama 10-12 jam, sehingga lima mahasiswa tersebut tidak dilakukan pengambilan sampel.

Menurut Budiu, dkk (2021) ukuran sampel yang layak dalam penelitian kuantitatif adalah 40-500 sampel. Semakin besar sampel dari besarnya populasi yang ada maka akan semakin baik. Jumlah sampel minimal 40 akan menghasilkan tingkat kepercayaan atau tingkat keberhasilan sebesar 95% dan margin kesalahan sekitar 5% (Budiu, dkk, 2021).

Penelitian ini menggunakan 42 sampel dengan teknik pengambilan sampel purposive sampling untuk meningkatkan kekuatan statistik dalam mengidentifikasi perbedaan yang bermakna antara inkubasi selama 10 menit dan 90 menit, hal ini penting karena pengukuran kadar kolesterol serum seringkali dipengaruhi oleh variasi biologis dan teknis yang inheren.

2. Objek

Kadar kolesterol total pada mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Program Studi Diploma Tiga Semester Empat Kelas B

C. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Januari sampai bulan Maret tahun 2026.

2. Tempat penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Penelitian ini menggunakan variabel bebas atau variable independen yakni variasi waktu pengukuran 10 menit dan 90 menit.

2. Variabel terikat

Variabel terikat atau variable dependent dari penelitian ini yakni kadar kolesterol total.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel bebas

Variasi waktu inkubasi bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan hasil pemeriksaan kadar kolesterol

total pada waktu inkubasi yang berbeda. Waktu inkubasi yang dilakukan yaitu variasi waktu dibaca 10 menit dan dilakukan perpanjangan waktu selama 90 menit setelah dibaca pada alat spektrometer. Skala data nominal dan dinyatakan dalam satuan menit.

2. Variabel terikat

Kadar kolesterol total pada sampel normal bertujuan untuk mengelompokkan pemeriksaan kadar kolesterol pada sampel dengan dilakukan inkubasi dan pembacaan absorbansi dengan waktu 10 menit dan ditambah perpanjangan waktu yaitu selama 90 menit. Skala data yaitu rasio dan diukur dengan alat spektrofotometer dan dinyatakan dalam satuan mg/dL.

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini bersifat kuantitatif dan jenis data primer dengan melakukan penelitian di laboratorium kimia klinik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Inkubasi selama 10 menit sesuai *Standar Operasional Prosedur*, dan perlakuan waktu inkubasi 90 menit sebagai data eksperimen.

G. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat ukur/instrumen

- a. Lembar observasi pengukuran kadar kolesterol total

Lembar observasi ini digunakan untuk mencatat hasil pengukuran kadar kolesterol total setelah diinkubasi dan dibaca pada alat spektrometer.

b. Alat dalam melakukan penelitian

- 1) Spektrofotometer
- 2) Mikropipet dan tip
- 3) Kuvet
- 4) Tisu
- 5) *Timer* atau *stopwatch*
- 6) Spuit
- 7) Tourniquet
- 8) *Serum separator tube* (SST)
- 9) Alkohol swab
- 10) Plaster

2. Bahan dan reagen

- a. Serum kontrol
- b. Sampel serum
- c. *Aquadest*
- d. Reagen *calibration standart* (CAL)

Tabel 3.1 Komposisi *Calibration Standart*

Reagen	Jumlah
<i>Standard</i>	200 mg/dL (5.2 mmol/L)

Sumber: Labiosis, 2024

e. *monoreagent* pemeriksaan kadar kolesterol

Tabel 3.2 Komposisi *monoreagent* kolesterol

Reagen	Komposisi	Jumlah
R1	<i>Good's buffer</i>	50 mmol/L
	<i>Phenol</i>	5 mmol/L
	<i>4-Aminoantipyrine</i>	0.03 mmol/L
	<i>Cholesterol esterase</i>	≥ 200 U/L
	<i>Cholesterol oxidase</i>	≥ 50 U/L
	<i>Peroxidase</i>	≥ 3 U/L

Sumber: Labiosis, 2024

H. Uji Validitas Instrumen

Validasi alat merupakan hal yang penting dalam mendukung keakuratan hasil yang dikeluarkan. Validasi dilakukan untuk memastikan bahwa alat spektrofotometer yang digunakan berfungsi dengan baik (Amani fida, dkk, 2019). Penelitian ini melakukan uji validitas menggunakan serum kontrol normal pada alat spektrofotometer dilaboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

I. Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan

a. Tahap perizinan

Pengajuan permohonan izin menggunakan laboratorium kimia klinik jurusan teknologi laboratorium medis poltekkes kemenkes yogyakarta sebagai tempat penelitian.

b. Tahap persiapan sampel

Subjek penelitian ini adalah Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Program Studi Diploma Tiga Semester Empat Kelas B yang telah memenuhi

kriteria inklusi dan eksklusi. Mahasiswa diberikan penjelasan melalui Naskah Sebelum Persetujuan (PSP) terkait kriteria yang dapat diambil sebagai sampel penelitian. Mahasiswa yang memenuhi kriteria selanjutnya mengisi lembar persetujuan *inform consent* dan dilakukan pengambilan sampel darah vena pada lengan kanan atau kiri sebanyak 3 cc. Sampel tersebut kemudian dilakukan sentrifugasi untuk mengetahui serum yang dihasilkan telah memenuhi kriteria eksklusi yaitu serum yang tidak hemolisis, lipemik dan ikterik.

c. Tahap persiapan alat dan bahan

Disiapkan alat dan bahan yang diperlukan dalam melakukan penelitian serta memastikannya dalam keadaan baik dan dapat digunakan.

2. Tahap pelaksanaan penelitian

a. Metode pemeriksaan

Pemeriksaan kadar kolesterol menggunakan metode CHOD-PAP enzimatis kolorimetrik dengan alat ukur spektrofotometer.

b. Prinsip pemeriksaan

Prinsip pemeriksaan dari metode ini yaitu kolesterol ester diurai menjadi kolesterol dan asam lemak menggunakan enzim kolesterol esterase. Kolesterol yang terbentuk kemudian diubah menjadi *cholesterol-3-one* dan hidrogen peroksida oleh enzim kolesterol oksidase. Hidrogen peroksida yang terbentuk beserta

fenol dan *4-aminoantipirin* oleh peroksidase diubah menjadi zat yang berwarna merah (*quinoneimine*). Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar kolesterol dalam sampel dan diukur pada panjang gelombang 520 nm (Amani fida, dkk, 2019).

c. Tahap pembuatan serum

Darah pada tabung *Serum Separator Tube* (SST) yang telah beku dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 RPM selama 10 menit. Gel separator akan memisahkan antara serum dan sel darah.

d. Validasi alat spektrofotometer

- 1) Disiapkan alat dan bahan
- 2) Dilakukan pengukuran dengan serum kontrol dengan menambahkan 1000 µl reagen kolesterol ditambah 10 µl serum kontrol.
- 3) Dipastikan bahwa serum kontrol berada dalam rentang nilai normal berdasarkan *Tru lab* yaitu 125 mg/dL – 166 mg/dL.

e. Cara kerja pemeriksaan kolesterol

- 1) Disiapkan alat dan bahan
- 2) Disiapkan 3 kuvet
- 3) Kuvet pertama sebagai blanko yang berisi 1000 µl reagen kolesterol dan 10 µl aquades
- 4) Kuvet kedua sebagai standar yang berisi 1000 µl reagen kolesterol dan 10 µl standar.

- 5) Kuvet pertama sebagai sampel yang berisi 1000 μ l reagen kolesterol dan 10 μ l serum.
 - 6) Dihomogenkan, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit dan dilakukan pengukuran pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm.
 - 7) Sampel yang diperiksa dilakukan inkubasi selama 10 menit kemudian diperiksa pada spektrofotometer. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 90 menit dan dibaca pada alat spektrofotometer.
 - 8) Dicatat hasil absorbansi yang terdapat pada alat spektrofotometer.
2. Tahap akhir penelitian (pengolahan data penelitian)
 - a. Penyusunan laporan hasil penelitian
 - b. Konsultasi pembimbing dan melakukan revisi
 - c. Laporan

J. Manajemen Data

Data pada penelitian ini diperoleh berdasarkan analisis deskriptif dan statistik sehingga dapat digunakan dalam pengambilan keputusan kesimpulan dari penelitian. Data diolah menggunakan SPSS 24.0 *for windows*.

1. Analisis deskriptif

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dianalisa secara deskriptif untuk menggambarkan kadar kolesterol dalam

serum yang dilakukan inkubasi selama 10 menit dan perpanjangan waktu yaitu 90 menit.

2. Analisis statistik

Penelitian ini menggunakan dua perlakuan yakni inkubasi sesuai Standar Operasional prosedur (SOP) selama 10 menit dan tidak sesuai SOP selama 90 menit, kemudian diamati adanya perbedaan hasil pemeriksaan dari sampel tersebut. Data di analisis menggunakan SPSS 24.0 *for windows*. Analisis statistik yang digunakan yakni uji distribusi data untuk mengetahui data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Data berdistribusi normal atau nilai signifikan $p > \alpha$ (0,05) maka dilanjutkan uji *paired sample T test*. Sedangkan jika tidak berdistribusi normal nilai signifikan $p < \alpha$ (0,05) maka dilanjutkan dengan statistik *non parametrik* menggunakan uji *wilcoxon*. Hipotesis data sebagai berikut:

- a. H_0 : Tidak Ada Perbedaan Hasil Variasi Inkubasi Terhadap Kadar Kolesterol Sampel Serum Selama 10 Menit dan 90 Menit pada Suhu Ruang Menggunakan Spektrometer
- b. H_a : Ada Perbedaan Hasil Variasi Inkubasi Terhadap Kadar Kolesterol Sampel Serum Selama 10 Menit dan 90 Menit pada Suhu Ruang Menggunakan Spektrometer.

K. Etika Penelitian

Naskah skripsi ini telah dilakukan penelitian sejujur-jujurnya berdasarkan fakta yang terjadi di lapangan. Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin dari Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis

Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta, penelitian dilakukan dengan etika penelitian yaitu:

1. Komisi etik

Naskah skripsi ini diajukan kepada komisi etik Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Yogyakarta dan mendapatkan persetujuan etik (*ethical clearance*) dengan nomor DP.04.03/e-KEPK.1/1341/2025 pada tanggal 31 Desember 2025 sampai dengan tanggal 31 Desember 2026 berdasarkan 7 Standar WHO 2011 yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016.

2. Surat penjelasan sebelum persetujuan

Surat penjelasan sebelum persetujuan (PSP) berisi penjelasan singkat terkait penelitian seperti tujuan, prosedur, resiko dan manfaat yang akan dilakukan kepada responden.

3. *Inform consent*

Inform consent berisi persetujuan dari responden untuk berpartisipasi dalam pengambilan sampel sebagai subjek penelitian setelah mendapatkan penjelasan lengkap mengenai tujuan, prosedur, resiko dan manfaat penelitian.