

BAB III

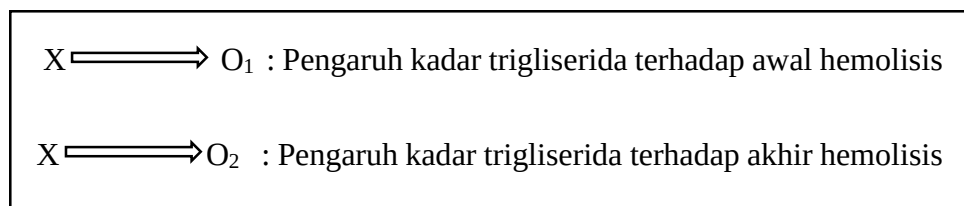
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik. Penelitian observasional analitik adalah penelitian yang mengamati dan mengukur variabel sebagaimana adanya tanpa memberikan intervensi atau perlakuan khusus kepada subjek, kemudian menganalisis hubungan atau pengaruh antar variabel menggunakan uji statistik. Pendekatan yang digunakan adalah *cross sectional*, yaitu pengukuran variabel dilakukan sekali pada satu periode waktu tertentu terhadap subjek yang memenuhi kriteria penelitian (Azad and Siddarth 2022)

2. Desain Penelitian

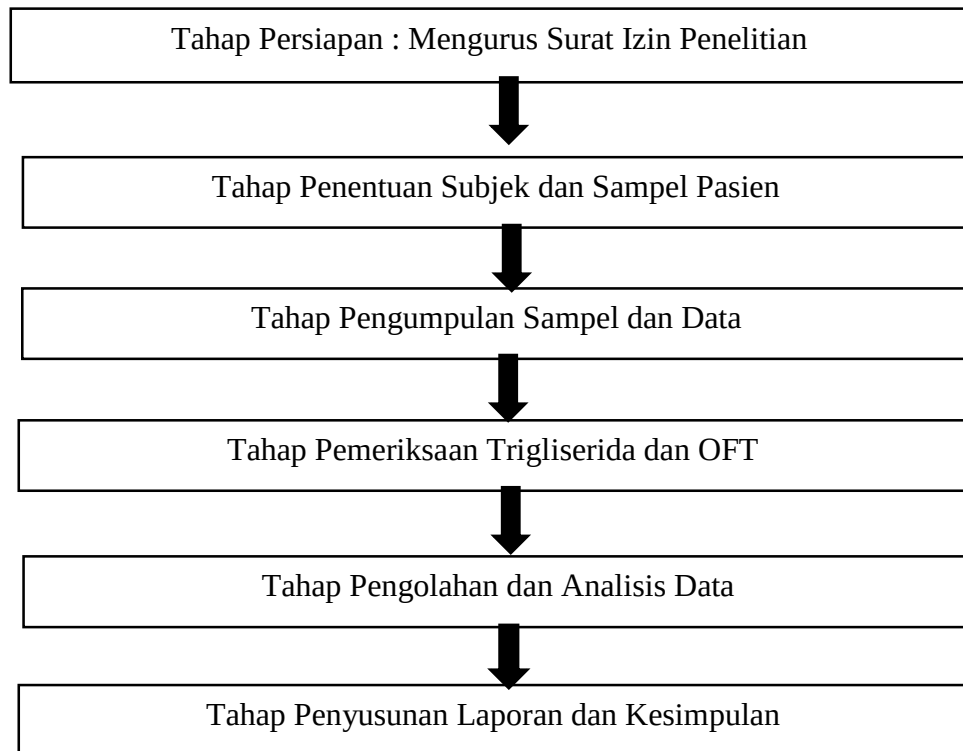


Gambar 4. Desain Penelitian (*cross-sectional*)

Kadar trigliserida (x) berperan sebagai variabel bebas yang diduga memengaruhi hasil Osmotic Fragility Test (OFT), yaitu awal hemolisis (O_1) dan hemolisis lengkap (O_2).

B. Alur Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan melalui beberapa tahapan yang saling berurutan mulai dari persiapan hingga pelaporan hasil. Tahapan tersebut dapat dilihat pada gambar sebagai berikut:



Gambar 5. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah pasien yang melakukan pemeriksaan kadar triglisierida di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta dan memenuhi kriteria yang telah ditetapkan peneliti, yaitu pasien dengan kadar triglisierida di atas nilai rujukan laboratorium (hipertriglisieridemia).

a). Kriteria Inklusi

1. Pasien yang melakukan pemeriksaan kadar trigliserida di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta pada periode penelitian.
2. Usia ≥ 18 tahun.
3. Memiliki volume darah vena yang cukup untuk pemeriksaan kadar trigliserida dan *Osmotic Fragility Test*.
4. Bersedia menjadi responden.
5. Memiliki kadar trigliserida di atas nilai rujukan laboratorium (hipertrigliseridemia: >150 mg/dL).

b). Kriteria Eksklusi

1. Sampel darah mengalami hemolisis berat.
2. Pasien dengan riwayat kelainan hematologi yang diketahui dapat memengaruhi fragilitas osmotik eritrosit
3. Sampel yang tidak dapat diproses sesuai waktu dan prosedur yang ditetapkan peneliti.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah sampel darah vena dan hasil pemeriksaan laboratorium yang berkaitan dengan variabel penelitian, yaitu kadar trigliserida dan hasil *Osmotic Fragility Test* (OFT). Sampel darah vena diambil dari Subjek penelitian, kemudian diproses untuk mendapatkan Serum yang digunakan untuk pemeriksaan kadar trigliserida dan Suspensi eritrosit yang digunakan untuk pemeriksaan *Osmotic Fragility Test*.

Dengan demikian, objek yang dinilai secara langsung dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida serta hasil pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* yang menggambarkan fragilitas osmotik eritrosit pada masing-masing kelompok.

3. Penentuan Jumlah Sampel

Sampel adalah sebagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono 2020). Sampel diambil dengan tujuan agar data yang diperoleh dapat mewakili populasi sehingga kesimpulan yang ditarik dari penelitian dapat digeneralisasikan secara proporsional. Dalam penelitian ini, jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Slovin. (Sugiyono, 2020) menyebut bahwa rumus Slovin banyak digunakan dalam penelitian karena sederhana dan praktis ketika peneliti mengetahui jumlah populasi tetapi keterbatasan informasi lain, sehingga rumus ini dapat membantu memperkirakan ukuran sampel minimum yang dibutuhkan. Penentuan jumlah sampel dapat mengacu pada rumus slovin yaitu:

$$n = \frac{N}{1 + N(e)^2}$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel

N = Jumlah populasi (pasien yang melakukan pemeriksaan trigliserida di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta pada periode penelitian)

e = Tingkat kesalahan yang masih dapat ditoleransi (misalnya 10% atau 15%)

Pada penelitian ini, peneliti menetapkan batas kesalahan (*error*) sebesar 10% atau 0,1. Nilai tersebut dipandang masih dapat diterima mengingat keterbatasan waktu, tenaga, dan biaya, namun tetap diupayakan agar data yang diperoleh mampu mewakili populasi (55 pasien) secara memadai. Dengan batas kesalahan tersebut, peluang terjadinya kekeliruan dalam pengambilan keputusan masih berada pada taraf yang dianggap wajar dalam penelitian tingkat skripsi, meskipun tingkat kepercayaannya lebih rendah dibandingkan penggunaan batas kesalahan 5%. Penetapan *error* 10% ini setara dengan tingkat kepercayaan sekitar 90%. Berdasarkan ketentuan tersebut, jumlah sampel dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Slovin sebagai berikut:

$$n = \frac{N}{1 + N (e)^2}$$

$$n = \frac{55}{1 + 55 (0,10)^2}$$

$$n = \frac{55}{1 + (55 \times 0,01)}$$

$$n = \frac{55}{1 + 0,55}$$

$$n = \frac{55}{1,55}$$

$$n = 35,48 = 35 \text{ Pasien hipertrigliseridemia.}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, diperoleh nilai $n = 35,48$ yang kemudian dibulatkan menjadi 35. Dengan demikian, jumlah sampel minimal yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 pasien hipertrigliseridemia yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi.

4. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah purposive sampling, yaitu teknik pengambilan sampel non-probabilitas di mana sampel dipilih secara sengaja berdasarkan kriteria tertentu yang telah ditetapkan peneliti. Dalam penelitian ini, sampel dipilih dari pasien yang melakukan pemeriksaan kadar trigliserida di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta pada periode penelitian, memenuhi kriteria inklusi, tidak termasuk kriteria eksklusi, dan memiliki sampel darah vena yang layak diperiksa, kemudian digunakan untuk pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* (OFT).

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret 2026 -Mei 2026.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta yang beralamat di Jl. Pangeran Diponegoro Nomor 91, Kelurahan Bumijo, Kecamatan Jetis, Kota Yogyakarta, dengan menggunakan fasilitas dan peralatan laboratorium yang tersedia.

E. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat dua variabel utama, yaitu variabel bebas (independen) dan variabel terikat (dependen).

1. Variabel Bebas (X)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida serum pada pasien hipertrigliseridemia, dinyatakan dalam satuan mg/dL sesuai hasil pemeriksaan di Laboratorium Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta.

2. Variabel Terikat (Y)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* (OFT), yaitu fragilitas osmotik eritrosit yang dinyatakan sesuai bentuk hasil yang digunakan di laboratorium (misalnya persentase hemolisis atau skor derajat hemolisis pada konsentrasi NaCl tertentu).

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala Ukur
1.	Status trigliserida (X)	Kadar trigliserida serum (mg/dL) pada pasien hipertrigliseridemia > 150 mg/dL	mg/dL	Rasio (untuk nilai mg/dL) dan Nominal (untuk kategori)

No	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala Ukur
2.	Hasil <i>Osmotic Fragility Test</i> (OFT) (Y)	Nilai fragilitas osmotik eritrosit yang diperoleh dari pemeriksaan <i>Osmotic Fragility Test</i> pada sampel darah vena, dinyatakan sebagai persentase hemolisis atau nilai fragilitas osmotik sesuai prosedur yang digunakan.	% hemolisis atau nilai fragilitas osmotik	Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Data primer adalah data yang diperoleh langsung dari sumber pertama melalui proses pengukuran atau pemeriksaan yang dilakukan oleh peneliti. Dalam penelitian ini, data primer berupa hasil pemeriksaan kadar trigliserida pasien di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta dan hasil pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* (OFT).

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik Teknik pengumpulan data dilakukan dengan cara pemeriksaan laboratorium dan pencatatan hasil. Pertama, dilakukan pengambilan darah vena pada pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi di Puskesmas Jetis Kota

Yogyakarta. Dari sampel tersebut diperoleh data kadar trigliserida yang digunakan sebagai variabel bebas (X) dalam penelitian dan dicatat pada lembar kerja penelitian. Sampel darah yang sama kemudian digunakan untuk pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* (OFT) dengan metode Dacie sesuai prosedur yang telah ditetapkan. Seluruh hasil pemeriksaan laboratorium (kadar trigliserida dan hasil OFT) dicatat dalam lembar kerja penelitian dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabel data untuk dianalisis.

H. Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Instrumen Penelitian

Pemeriksaan OFT dilakukan dengan metode Dacie, yaitu penilaian derajat hemolisis berdasarkan kejernihan atau kekeruhan supernatan pada serangkaian larutan NaCl hipotonik, tanpa pembacaan spektrofotometri.

Tabel 2. Alat Penelitian

No	Nama Alat	Kegunaan
1.	Alat pemeriksaan trigliserida (alat kimia klinik/analyzer)	Mengukur kadar trigliserida dalam serum sampel darah pasien di laboratorium Puskesmas Jetis.
2.	Sentrifuge	Memisahkan komponen darah (serum dan eritrosit) dari sampel darah vena.
3.	Tabung vacutainer	Wadah untuk pengambilan dan penampungan darah vena.
4.	Spuut / jarum sekali pakai	Melakukan venipunktur (pengambilan darah vena dari pasien).
5.	Tabung reaksi	Wadah untuk pemeriksaan <i>Osmotic Fragility Test</i> (OFT) dan penempatan larutan NaCl serta suspensi eritrosit.

No	Nama Alat	Kegunaan
6.	Rak tabung reaksi	Menopang dan merapikan tabung reaksi selama proses pemeriksaan.
7.	Pipet volume / mikropipet dan tip	Mengambil dan memindahkan volume tertentu serum, eritrosit, dan larutan NaCl secara tepat.
8.	Beaker glass / gelas ukur	Menyiapkan dan mengukur volume larutan, termasuk larutan NaCl.
9.	Vortex mixer (bila tersedia)	Menghomogenkan suspensi eritrosit dengan larutan NaCl.
10.	Timer / stopwatch	Mengatur dan memantau waktu inkubasi pada setiap tahap pemeriksaan.
11.	Alat tulis & lembar kerja penelitian	Mencatat hasil pemeriksaan laboratorium dan data Subjek penelitian.
12.	Komputer / laptop	Melakukan entri, penyimpanan, dan pengolahan data hasil penelitian.
13.	Alat pelindung diri (APD) (masker, sarung tangan, jas lab)	Melindungi peneliti dan menjaga keamanan serta keselamatan kerja di laboratorium.

2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah sampel darah vena dari pasien yang melakukan pemeriksaan trigliserida di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta dan memenuhi kriteria penelitian. Selain itu digunakan bahan-bahan laboratorium yang menunjang pemeriksaan, antara lain tabung vacutainer dan antikoagulan (sesuai prosedur yang digunakan), reagen pemeriksaan trigliserida *Proline Triglycerides* FS yang tersedia di laboratorium), larutan NaCl dengan berbagai konsentrasi untuk pemeriksaan *Osmotic Fragility Test*, aquades, kapas, alkohol swab, dan bahan habis pakai lain yang diperlukan selama proses pengambilan sampel dan pemeriksaan laboratorium.

I. Uji Validasi Instrumen

Uji validitas instrumen pada penelitian ini dilakukan melalui pengendalian mutu alat dan metode pemeriksaan yang digunakan. Alat spektrofotometer yang digunakan untuk pemeriksaan trigliserida telah menjalani kalibrasi dan pemantapan mutu internal sesuai prosedur laboratorium. Selain itu, reagen yang digunakan diperiksa masa berlaku dan kualitasnya untuk menjamin keakuratan hasil pemeriksaan. Pada pemeriksaan OFT, validitas hasil dijaga dengan memastikan ketepatan pembuatan konsentrasi larutan NaCl, ketelitian pemipetan, serta keseragaman prosedur pemeriksaan pada seluruh sampel. Dengan demikian, instrumen yang digunakan diharapkan mampu menghasilkan data yang akurat, valid, dan dapat dipercaya untuk mendukung tujuan penelitian.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap Penelitian

Peneliti menyusun dan merevisi proposal, mengurus izin penelitian ke Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dan Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta, menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, serta menyusun lembar kerja penelitian untuk pencatatan data.

2. Pemilihan Subjek Penelitian

Peneliti mengidentifikasi pasien yang melakukan pemeriksaan trigliserida di Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta pada periode penelitian, kemudian memilih Subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak

termasuk kriteria eksklusi, serta meminta persetujuan (*informed consent*) dari Subjek yang bersedia ikut penelitian.

3. Pengambilan Sampel Darah

Pada subjek yang telah terpilih, dilakukan pengambilan darah vena sesuai prosedur standar (venipunktur) menggunakan tabung vacutainer dan alat pelindung diri. Sampel darah kemudian diproses (disentrifugasi bila diperlukan) untuk pemeriksaan kadar trigliserida dan pemeriksaan *Osmotic Fragility Test*.

4. Pemeriksaan Kadar Trigliserida dan Pengelompokan Sampel

Sampel diperiksa kadar trigliseridanya di Laboratorium Puskesmas Jetis sesuai metode yang digunakan. Berdasarkan hasil tersebut, Subjek yang memiliki kadar trigliserida di atas nilai rujukan laboratorium diklasifikasikan sebagai hipertrigliseridemia dan dinyatakan memenuhi syarat sebagai sampel penelitian, kemudian hasil pemeriksaan trigliserida dicatat pada lembar kerja penelitian.

5. Pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* (OFT)

Sampel darah dari masing-masing kelompok dilakukan pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* sesuai prosedur yang telah ditetapkan (penyiapan suspensi eritrosit, pencampuran dengan larutan NaCl hipotonik, inkubasi, sentrifugasi, dan penilaian derajat hemolisis), kemudian hasil OFT dicatat untuk tiap sampel.

6. Cara Kerja Pemeriksaan

a. Cara Kerja Pemeriksaan Trigliserida

- 1). Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, antara lain tabung vacutainer, jarum, kapas alkohol, plester, serta reagen pemeriksaan trigliserida sesuai metode yang digunakan di Laboratorium Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta.
- 2). Melakukan pengambilan darah vena pada pasien hipertrigliseridemia sebanyak $\pm 3-5$ mL sesuai prosedur standar pengambilan darah vena.
- 3). Mengumpulkan darah ke dalam tabung kuning (SST) kemudian membiarkan darah membeku.
- 4). Melakukan sentrifugasi untuk memisahkan serum dari sel darah.
- 5). Mengambil serum jernih dan memasukkannya ke dalam cuvet atau wadah sampel alat kimia klinik.
- 6). Menjalankan pemeriksaan trigliserida menggunakan alat kimia klinik.
- 7). Mencatat hasil pemeriksaan trigliserida yang terbaca pada alat dalam satuan mg/dL pada lembar kerja penelitian sebagai data pendukung karakteristik subjek.

b. Cara Kerja Pemeriksaan OFT Metode Tabung Seri

- 1). Menyiapkan serangkaian tabung reaksi bersih yang berisi larutan NaCl dengan konsentrasi menurun (misalnya 0,60%; 0,55%; 0,50%; 0,45%; 0,40%; 0,35%; 0,30%, 0,25%, 0,20%, 0,15%)

serta satu tabung aquades sebagai kontrol hemolisis penuh, kemudian memberi label konsentrasi pada setiap tabung.

- 2). Mengambil darah vena pasien hipertrigliseridemia ke dalam tabung berantikoagulan (EDTA) sesuai SOP.
- 3). Menambahkan volume suspensi eritrosit yang sama sebanyak 0,02 mL ke masing-masing tabung berisi seri larutan NaCl hipotonik, kemudian menghomogenkan dengan cara mengocok perlahan setiap tabung.
- 4). Masing-masing tabung berisi seri larutan NaCl hipotonik, kemudian menghomogenkan dengan cara mengocok perlahan setiap tabung.
- 5). Menginkubasi seluruh tabung pada suhu ruang selama ± 15 menit sehingga proses hemolisis eritrosit dapat berlangsung secara optimal pada berbagai konsentrasi NaCl.
- 6). Menyentrifugasi setiap tabung pada kecepatan 2000 rpm selama 5 menit hingga terbentuk supernatan di bagian atas dan endapan eritrosit di bagian bawah.
- 7). Mengamati supernatan setiap tabung secara visual dengan cara melihat kejernihan atau kekeruhan: supernatan yang jernih menunjukkan hemolisis minimal, sedangkan supernatan yang berwarna merah keruh menunjukkan derajat hemolisis yang lebih besar.

- 8). Menentukan hasil OFT berdasarkan pola kekeruhan supernatan pada berbagai konsentrasi NaCl sesuai kriteria yang digunakan di laboratorium (misalnya konsentrasi NaCl saat hemolisis mulai tampak), kemudian mencatat hasil tersebut sebagai nilai OFT manual untuk masing-masing sampel.

K. Manajemen Data

Tabel 3. Manajemen Data

No	Jenis Data	Variabel	Skala Data	Pengolahan Data	Analisis Statistisk
1	Data Primer	Kadar trigliserida	Rasio	Entry data ke SPSS	Analisis deskriptif (rerata, SD, min-maks)
2	Data Primer	Hasil Osmotic Fragility Test (OFT)	Rasio	Entry data ke SPSS	Analisis deskriptif (rerata, SD, min-maks)
3	Data Primer	Kadar trigliserida	Rasio	Uji prasyarat analisis	Uji normalitas Shapiro-Wilk
4	Data Primer	Kadar trigliserida (X) terhadap hasil OFT (Y)	Rasio	Analisis inferensial	Regresi linear sederhana ($\alpha = 0,05$)

L. Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan memperhatikan prinsip etika penelitian kesehatan, yaitu menghormati hak Subjek, berbuat baik, tidak merugikan, dan keadilan. Sebelum pengambilan sampel darah dilakukan, peneliti terlebih dahulu menjelaskan tujuan, prosedur, manfaat, serta risiko minimal penelitian kepada calon Subjek, kemudian meminta kesediaan

mereka dengan mengisi dan menandatangani lembar persetujuan menjadi responden (*informed consent*). Identitas Subjek dijaga kerahasiaannya dengan cara memberikan kode pada setiap sampel dan lembar data, tanpa mencantumkan nama lengkap pada file analisis.

Penelitian ini hanya akan dilaksanakan setelah mendapatkan izin tertulis dari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dan Puskesmas Jetis Kota Yogyakarta, sehingga seluruh rangkaian kegiatan penelitian diupayakan berjalan sesuai ketentuan etika yang berlaku dan tidak merugikan Subjek penelitian.