

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

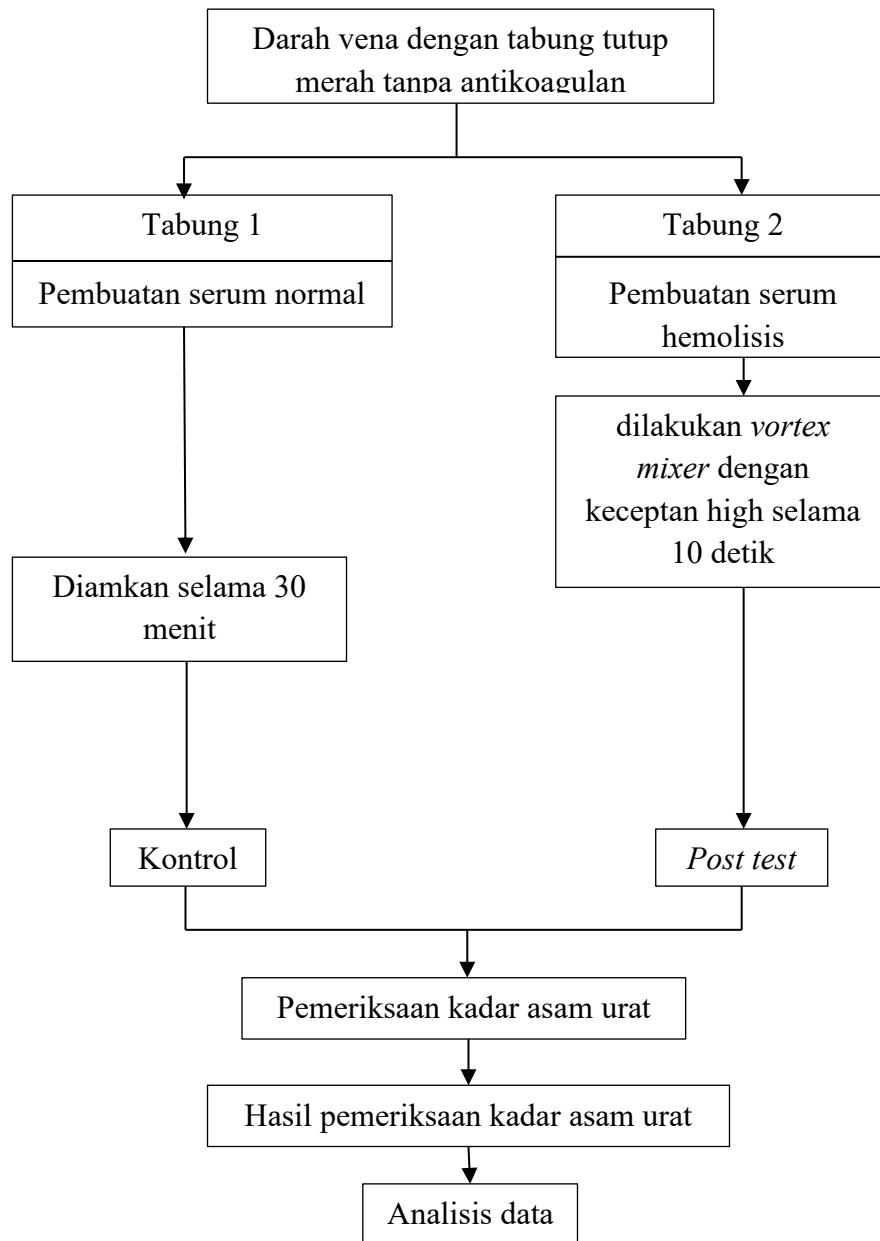
Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan kuantitatif dengan rancangan *Quasi-Experimental Design*. Pendekatan kuantitatif dipilih karena penelitian ini bertujuan untuk mengukur perbedaan hasil pemeriksaan kadar asam urat dengan sampel serum normal dan serum hemolisis ringan setelah perlakuan tertentu secara terukur. Dikatakan sebagai eksperimen semu karena dalam penelitian ini terdapat variabel pengganggu yang seharusnya dikontrol tetapi tidak dapat atau sulit dikendalikan (Hardani dkk., 2021). Peneliti ingin menguji efek perlakuan atau intervensi terhadap sampel, tetapi tidak memungkinkan untuk melakukan randomisasi secara penuh dari populasi yang lebih luas.

Pada penelitian ini eksperimen yang akan dilakukan adalah memberi perlakuan atau intervensi terhadap sampel darah dengan melakukan *vortex mixer* dengan kecepatan *high* selama 10 detik untuk mendapatkan serum hemolisis ringan (kadar hemoglobin 0,02-0,1 g/dL). Selanjutnya kadar hemoglobin diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer untuk memastikan tingkat hemolisis yang diinginkan. Hasil dari perlakuan tersebut yaitu kadar asam urat yang diukur menggunakan alat spektrofotometer dengan

metode enzimatik kolorimetri (Uricase-PAP). Dengan pendekatan ini, peneliti tetap dapat mengontrol variabel penting seperti suhu penyimpanan sampel, waktu pengukuran, dan konsistensi prosedur vortex, agar perbedaan hasil yang diamati benar-benar disebabkan oleh perlakuan hemolisis, bukan faktor lain.

2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Posttest-Only Control Design* atau melakukan pengukuran setelah diberi perlakuan dengan menggunakan kontrol. Desain penelitian ini memungkinkan untuk mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen atau yang diberi perlakuan khusus dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol (Hardani dkk., 2021). Kelompok eksperimen dalam penelitian ini yaitu memberi perlakuan dengan melakukan *vortex mixer* hingga diperoleh hemolisis ringan sebagai *post test*. Kelompok kontrol yaitu serum yang normal tanpa perlakuan. Desain penelitian ini membandingkan kelompok eksperimen pada serum hemolisis ringan dengan kelompok kontrol serum normal tanpa perlakuan.

B. Alur Penelitian

Gambar 5. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek

Subjek dari penelitian ini menggunakan serum darah yang diambil dari mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan kriteria berikut:

a. Kriteria inklusi

- 1) Bersedia menjadi responden penelitian
- 2) Tidak mempunyai riwayat penyakit seperti anemia hemolitik dan vena rapuh

b. Kriteria eksklusi

- 1) Hemolisis sedang
- 2) Hemolisis berat
- 3) Serum lipemik
- 4) Serum ikterik

2. Objek Penelitian

Objek dari penelitian ini adalah kadar asam urat

3. Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini mengacu pada (Sugiyono, 2021) yang menyatakan bahwa ukuran sampel minimal dalam penelitian kuantitatif adalah 30 sampel. Untuk mengantisipasi kemungkinan *drop out* atau sampel yang tidak dapat dianalisis akibat kesalahan pra-analitik pemeriksaan laboratorium, dilakukan penambahan sampel sebesar 16,7% atau sebanyak 5 sampel.

Persentase tersebut masih berada dalam rentang 10–20% (Dahlan, 2020). Dengan demikian, jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 35 sampel.

4. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*, karena pemilihan sampel dilakukan secara sengaja berdasarkan pertimbangan dan kriteria tertentu yang relevan dengan tujuan penelitian (Sugiyono, 2021). Sampel berupa darah vena dari subjek manusia sehat yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2026

2. Tempat Penelitian

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

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (*Independent variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah serum hemolisis ringan dan serum non hemolisis.

2. Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil pemeriksaan kadar asam urat metode kolorimetri (Uricase-PAP).

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah serum lipemik dan serum ikterik.

F. Definisi Operasional

1. Variabel bebas: serum hemolisis ringan dan serum non hemolisis

Serum hemolisis adalah eritrosit yang pecah disertai keluarnya zat-zat yang terkandung di dalamnya sehingga serum tampak kemerahan dan dapat menyebabkan kesalahan dalam pemeriksaan laboratorium. Serum non hemolisis adalah serum yang tidak mengalami kerusakan pada sel dan langsung diperiksa.

Satuan: -

Skala: ordinal

2. Variabel terikat: kadar asam urat

Kadar asam urat adalah jumlah milligram asam urat per 100 ml serum yang dinyatakan dalam satuan mg/dL. Kadar asam urat diukur dengan metode enzimatik kolorimetri (Uricase-PAP) menggunakan alat spektrofotometer.

Satuan: mg/dL

Skala data: rasio

3. Variabel Pengganggu: serum ikterik dan serum lipemik

- a. Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning coklat akibat adanya peningkatan kadar bilirubin dalam darah

(Sujono dkk., 2023). Pengendalian dengan tidak menggunakan serum ikterik sebagai sampel penelitian.

b. Serum lipemik adalah

Serum lipemik adalah serum berwarna putih keruh yang kekeruhannya disebabkan karena peningkatan konsentrasi lipoprotein tinggi trigliserida (Ridwansyah & Riyani, 2024). Pengendalian yang dilakukan dengan tidak menggunakan serum lipemik sebagai sampel penelitian.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang diperoleh peneliti secara langsung dari sumber data nya. Data primer diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar asam urat dari sampel mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang diberi perlakuan dengan tingkat variasi hemolisis ringan.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik dan pengukuran berdasarkan *post test* yaitu mengukur kadar asam urat. Data diperoleh melalui pengukuran sampel setelah diberi perlakuan yaitu kadar serum hemolisis ringan.

H. Alat Ukur atau Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat Ukur atau Instrumen

- a. Peralatan sampling: jarum *vacutainer*, *holder vacutainer*, tourniquet, alcohol swab, tabung *vacutainer* tutup merah (*plain*), kapas dan plester.
- b. Sentrifus
- c. Mikropipet dan tip
- d. *Stopwatch*
- e. Cup sampel
- f. Rak tabung reaksi
- g. Kuvet
- h. Spektrofotometer
- i. *Vortex mixer*

2. Bahan Penelitian

- a. Darah vena
- b. Reagen kit asam urat

Tabel 3. Reagen Kit Asam Urat (Labiosis, 2026)

Reagen	Komponen	Konsentrasi/Keterangan
R1	Phosphate buffer	100 mmol/L, pH 7,8
	Uricase	> 0,5 kU/L
	Peroxidase	> 0,5 kU/L
	Ascorbate oxidase	> 1 kU/L
	4-Aminoantipyrine	0,5 mmol/L

	DCBS	2 mmol/L
	Non-ionic tensioactives	2 g/L (w/v)
	Biocides	
CAL	Uric acid standard	6 mg/dL (357 μ mol/L)
	Organic matrix based primary standard	
	Traceable to CRM 914a dan CRM 909	

I. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas dengan melakukan *Quality Control* (QC) menggunakan *assayed control serum*. Alat ukur yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer yang ada di laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Uji validitas ini dilakukan dengan menggunakan serum kontrol sebanyak satu kali sehari sebelum alat digunakan untuk pemeriksaan sampel. Validitas hasil pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan alat ukur tersebut dibuktikan dengan serum kontrol normal. Jika hasil pemeriksaan dengan serum kontrol tidak sesuai dengan nilai rentang rujukan perlu dilakukan evaluasi terhadap alat dan bahan serta melakukan evaluasi langkah kerja yang digunakan.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Peneliti mengurus perizinan untuk melakukan penelitian ini di Laboratorium Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- b. Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- c. Persiapkan subjek penelitian dengan memberikan penjelasan dan memberikan *informed consent* untuk persetujuan sebagai responden sebelum dilakukan pengambilan darah vena.

2. Tahap Pelaksanaan

- a. Tahap pengambilan darah vena
 - 1) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan
 - 2) Menempatkan subyek penelitian duduk atau berbaring dengan lurus dan tidak membengkok siku serta meminta pasien untuk mengepalkan tangan
 - 3) Memasang torniquet pada lengan dengan jarak 3-4 jari dari area lipatan siku
 - 4) Melakukan palpasi dengan menggunakan jari tangan untuk memastikan letak vena
 - 5) Membersihkan area kulit yang akan diambil darah vena menggunakan alkohol swab 70%
 - 6) Menusuk vena dengan jarum menghadap ke atas dengan kemiringan 15-30 derajat. Jika jarum berhasil masuk ke vena,

akan terlihat darah masuk ke dalam spuit. Selanjutnya melepas tourniquet dan subyek diminta melepaskan kepala tangan.

- 7) Membiarkan darah mengalir hingga terpenuhi sesuai volume spuit
 - 8) Menarik jarum dan meletakkan kapas alkohol 70% pada bekas tusukan, lalu setelah darah berhenti, plester bagian bekas tusukan tersebut.
 - 9) Beri identitas pada tabung dan diberi label.
- b. Tahap Pemeriksaan Kadar Hemoglobin untuk skrining awal sebagai berikut:
- 1) Strip Hemoglobin dimasukkan ke alat POCT
 - 2) Darah tabung 1 di pipet sebanyak 10 µl ditetaskan ke strip hemoglobin.
- c. Tahap pembuatan variasi hemolisis dalam serum
- 1) Siapkan sampel darah, dilakukan *vortex mixer* dengan kecepatan *high* selama 10 detik.
 - 2) Setelah proses *vortex*, dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin terlebih dahulu menggunakan metode Drabkin. Sampel yang masuk kriteria hemolisis ringan dilanjutkan untuk tahap pembuatan serum.
 - 3) Melakukan pemusingan/ sentrifus sampel darah selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm

d. Tahap pembuatan serum non hemolisis

- 1) Sampel darah dibiarkan membeku pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- 2) Dipisahkan serum dari sel-sel darah dengan mengambil bagian atas atau supernatant. Serum yang berwarna kuning jernih.

e. Tahap pengukuran kadar hemoglobin pada serum non hemolisis dan serum hemolisis ringan

- 1) Nacl 0,9% di pipet sebanyak 900 μ l dimasukkan ke dalam kuvet dan ditambah serum tabung 1 di pipet sebanyak 100 μ l, dihomogenkan dan dibaca menggunakan spektrofotometer dengan 3 panjang gelombang (380 nm, 415 nm, 450nm).
- 2) Nacl 0,9% di pipet sebanyak 900 μ l dimasukkan ke dalam kuvet dan ditambah serum tabung 2 di pipet sebanyak 100 μ l, dihomogenkan dan dibaca menggunakan spektrofotometer dengan 3 panjang gelombang (380 nm, 415 nm, 450nm).
- 3) Dilakukan perhitungan dengan metode Harboe:

$$fHb \frac{mg}{dL} = 83,6 (2 \times A_{380 \text{ nm}} - A_{415 \text{ nm}} - A_{450 \text{ nm}}) \times FP$$

Keterangan:

FP = Faktor pengenceran

3. Tahap Pemeriksaan Kadar Asam Urat Untuk Serum Non Hemolisis dan Serum Hemolisis Tingkat Ringan

- a. Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan

Tabel 4. Prosedur Pemeriksaan Asam Urat

	Blanko	Standar	Sampel
Sampel	-	-	20 μ l
Standar	-	20 μ l	-
Reagen	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

Dicampur, inkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25°C 10 menit pada suhu 37°C. Membaca absorbansi sampel, blanko, dan standart reagen pada panjang gelombang 546 nm.

- b. Reagen dan sampel serum non hemolisis dipipet ke dalam kuvet, lalu diperiksa kadar asam urat.
- c. Reagen dan sampel serum hemolisis dipipet ke dalam kuvet lalu di periksa kadar asam urat.
- d. Memilih menu pengukuran sampel dan memeriksa sampel dengan menempatkan kuvet pada selang pemeriksaan.
- e. Alat otomatis mengeluarkan hasil pemeriksaan tanpa harus menghitung manual. Membilas dengan air untuk pemeriksaan sampel selanjutnya.

K. Manajemen Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang langsung memberi informasi kepada pengumpul data. Data

yang diperoleh berupa hasil pemeriksaan kadar asam urat dengan serum non hemolisis dan serum hemolisis atau serum yang diberikan perlakuan *vortex mixer* dengan tingkat hemolisis ringan. Data yang diperoleh berupa hasil pemeriksaan kadar asam urat, kemudian dianalisis secara deskriptif dan statistik sebagai berikut:

1. Analisis deskriptif

Analisis deskriptif dilakukan yaitu data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan atau menganalisis suatu statistik hasil penelitian. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik untuk menggambarkan hasil kadar asam urat dalam serum hemolisis ringan.

2. Analisis statistik

Perbedaan kadar asam urat yang diberi perlakuan *vortex mixer* dengan tingkat hemolisis ringan dan kadar asam urat pada serum normal tanpa perlakuan dapat diketahui dengan uji statistik. Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala data rasio. Uji statistik menggunakan aplikasi SPSS. Uji distribusi dilakukan menggunakan *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah subjek pada setiap kelompok ≤ 50 . Dasar pengambilan Keputusan dalam uji *Shapiro-Wilk* adalah apabila nilai Asymp. Sig $\geq 0,05$ maka data berdistribusi normal. Data yang berdistribusi normal dilakukan uji *Paired Sampel t-test*. Uji ini digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar asam urat pada serum non hemolisis dan serum hemolisis ringan.

L. Etika Penelitian.

Penelitian ini dilakukan dengan etika penelitian, yaitu:

1. Ethical Clearence

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Berdasarkan Persetujuan Etik No.DO.04.03/e-KEPK.1/606/202/2026. Menyatakan bahwa penelitian ini dapat dibebaskan dari persetujuan etik (terlampir).

2. Surat Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP)

Peneliti menjelaskan maksud, tujuan, lama dan prosedur penelitian secara singkat dan jelas. Peneliti menyatakan menjamin kerahasiaan identitas dan informasi calon subjek sehingga tidak perlu khawatir berpartisipasi dalam penelitian ini.

3. Informed Consent

Peneliti menjelaskan maksud dan tujuan penelitian kepada calon subjek penelitian. Calon subjek penelitian harus menandatangani *Informed Consent* apabila bersedia menjadi sampel penelitian. Peneliti tidak akan melakukan pemaksaan terhadap calon subjek penelitian sehingga didapatkan secara sukarela.