

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *Pre-Experimental Design*. Jenis penelitian ini belum merupakan eksperimen sesungguhnya karena masih terdapat variabel luar yang berpengaruh terhadap variabel dependen (terikat). Jadi, hasil penelitian ini tidak hanya dipengaruhi oleh variabel bebas (Hardani dkk, 2020).

2. Desain Penelitian

Bentuk desain penelitian yang dipilih adalah *Posttest-only control group design*. Dalam desain ini, pengamatan terhadap variabel hasil dilakukan secara bersamaan pada kelompok kontrol dan kelompok yang menerima perlakuan. Kelompok kontrol merupakan kelompok tanpa perlakuan, sedangkan kelompok yang menerima perlakuan disebut kelompok eksperimen.

Experimen Grup : R X O1

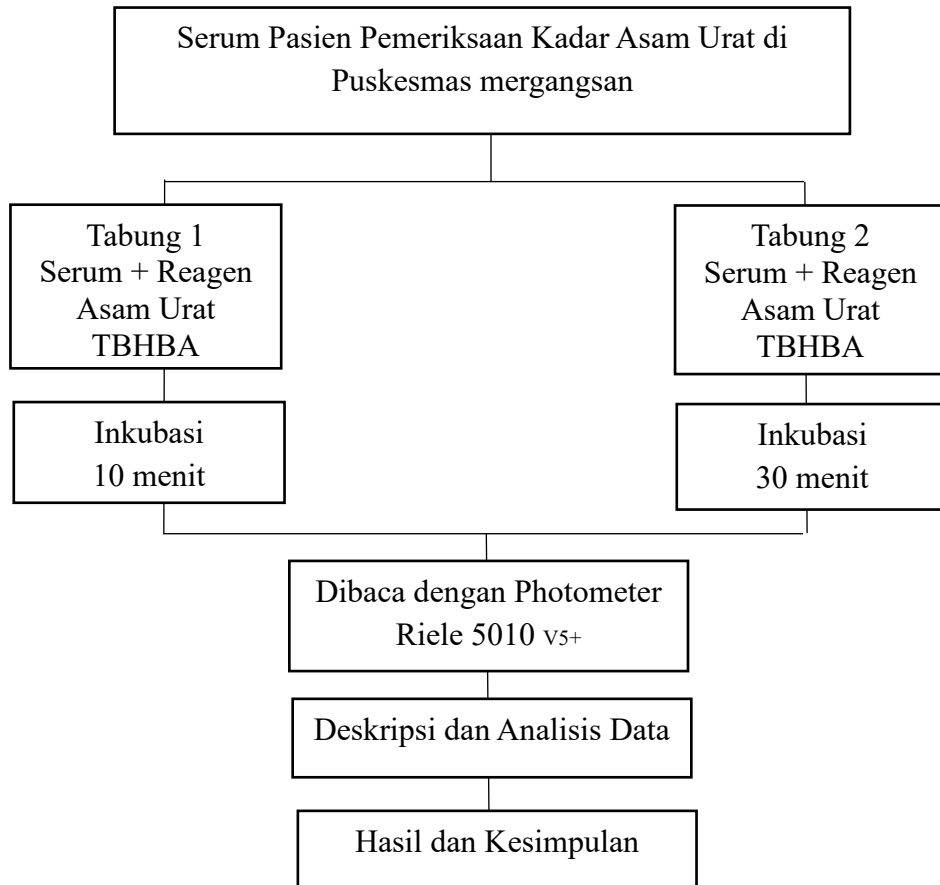
Kontrol Grup : R O2

X = Pemberian perlakuan (mempercepat waktu inkubasi sampel)

O1 = Hasil pengukuran kadar asam urat waktu inkubasi 10 menit

O2 = Hasil pengukuran kadar asam urat waktu inkubasi 30 menit

B. Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

C. Subyek dan Obyek Penelitian

1. Subyek Penelitian

Subyek dalam penelitian ini adalah pasien pemeriksaan kadar asam urat di Puskesmas Mergangsan. Terdapat beberapa kriteria sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini, antara lain:

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi merujuk pada karakteristik umum subjek penelitian yang diambil dari populasi target (Adiputra dkk, 2021).

Kriteria inklusi yang diambil dalam pemeriksaan ini adalah serum pasien yang melakukan pemeriksaan asam urat di Puskesmas Mergangsan.

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi merujuk pada karakteristik yang tidak boleh dimiliki oleh subjek penelitian (Adiputra dkk, 2021). Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah serum hemolisis (berwarna merah), serum lipemik (berwarna putih susu), dan serum ikterik (berwarna kuning tua hingga kecoklatan).

2. Obyek Penelitian

Obyek penelitian ini adalah serum darah pasien yang melakukan pemeriksaan asam urat di Puskesmas Mergangsan.

3. Besar Sampel

Pemilihan jumlah sampel merupakan faktor penting dalam validasi dan perbandingan metode, jumlah sampel yang digunakan sangat menentukan keandalan hasil analisis. Berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dalam pedoman EP09 menyarankan penggunaan minimal 40 hingga 100 sampel agar data yang diperoleh mampu memberikan estimasi bias dan batas kesepakatan yang valid secara statistik. Dalam penelitian ini digunakan 40 sampel. Jumlah tersebut dipilih berdasarkan pertimbangan praktis bahwa 40 sampel sudah cukup representatif untuk menghasilkan data yang dapat dipertanggungjawabkan, dengan tingkat kesalahan yang masih dapat

diterima dalam penelitian eksperimental maupun komparatif. Selain itu, jumlah tersebut telah memenuhi standar minimal yang direkomendasikan oleh CLSI, sekaligus mempertimbangkan efisiensi waktu, tenaga, dan biaya penelitian.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada 5-12 Januari 2026.

2. Tempat

Penelitian dan pemeriksaan kadar asam urat dilakukan di Laboratorium Klinik Puskesmas Mergangsan.

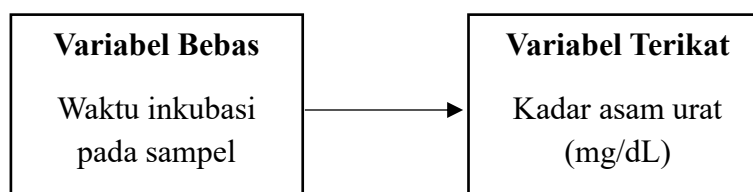
E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu inkubasi sampel metode TBHBA pada suhu ruang.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Kadar Asam Urat yang diperiksa.



Gambar 7. Hubungan Antar Variabel

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan faktor yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini berupa dua jenis perlakuan terhadap waktu inkubasi sampel pada suhu ruang. Perlakuan pertama menggunakan waktu inkubasi 10 menit dan perlakuan kedua 30 menit.

Satuan : -

Skala : Ordinal

2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah faktor yang diamati untuk menentukan adanya pengaruh dari variabel bebas. Hasil kadar asam urat metode TBHBA diukur menggunakan fotometer dengan dua perlakuan sebagaimana dijelaskan pada variabel bebas yaitu waktu inkubasi 10 dan 30 menit.

Satuan : mg/dL

Skala : Rasio

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis pengumpulan data yang digunakan peneliti adalah data primer yaitu data yang didapatkan secara langsung oleh peneliti.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan oleh peneliti dikumpulkan dari hasil pemeriksaan kadar asam urat metode TBHBA dengan pemakaian waktu inkubasi 10 dan 30 menit pada suhu ruang.

H. Alat Ukur atau Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Alat Ukur atau Instrumen

- a. Photometer Riele 5010 V5+
- b. Tabung reaksi
- c. Mikropipet
- d. *Yellow Tip*
- e. *Blue Tip*
- f. *Stopwatch*
- g. Tissue

2. Bahan

- a. Sampel serum pasien
- b. Serum kontrol komersial
- c. Akuades
- d. Reagen pemeriksaan asam urat metode TBHBA

3. Reagen

Pada penelitian ini menggunakan reagen asam urat Proline, berikut komposisi dari reagen yang digunakan.

Tabel 3. Komposisi Reagen Asam Urat TBHBA

Reagen			
Reagen 1	<i>Phosphate buffer</i> TBHBA (2,4,6- <i>tribromo-3- hydroxybenzoic acid</i>)	pH 7,0	100 mmol/L 1,25 mmol/L
Reagen 2	<i>Phosphate buffer</i> 4- <i>Aminoantipyrine</i> $K_4[Fe(CN)_6]$ <i>Peroxidase</i> (POD) <i>Uricase</i>	pH 7,0	100 mmol/L 1,5 mmol/L 50 μ mol/L ≥ 10 KU/L ≥ 150 U/L

Sumber: (Proline, 2024)

I. Uji Validitas Instrumen

Pada penelitian ini menggunakan alat fotometer Riele 5010 V5+ yang terdapat pada Laboratorium Kimia Klinik Puskesmas Mergangsan, tingkat keandalan dan kebersihan alat ukur sudah standar dengan kalibrasi alat dilakukan setiap 1 tahun sekali. Validitas instrumen dilakukan melalui kegiatan *Quality Control* (QC) menggunakan serum kontrol komersial assyed. Hasil dari pemeriksaan kadar asam urat menggunakan serum kontrol komersial *assayed* kemudian dibandingkan dengan nilai rujukan yang sudah ditetapkan pada prosedur kit reagen.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan
 - a. Perizinan melakukan penelitian di Puskesmas Mergangsan
 - b. Disiapkan Alat dan Bahan
2. Tahap Pelaksanaan
 - a. Tahap Uji Validitas Instrumen
 - b. Tahap Pemeriksaan Kadar Asam Urat
 - 1) Menyiapkan alat dan bahan

- 2) Memipet reagen dan sampel dalam tabung reaksi untuk diperiksa kadar asam uratnya, masing-masing dipipet sesuai tabel:

Tabel 4. Cara Kerja Pemeriksaan Asam Urat

	Blanko	Sampel/Kalibrator
Sampel/Kalibrator	-	20 μ L
Blanko Air	20 μ L	-
Reagen 1	1000 μ L	1000 μ L
Campurkan, Inkubasi	5 Menit,	Kemudian tambahkan:
Reagen 2	250 μ L	250 μ L

- 3) Mencampur dan menginkubasi dengan dua perlakuan
- 10 menit pada suhu ruang (25°C), mempercepat waktu inkubasi sampel
 - 30 menit pada suhu ruang (25°C), sesuai SOP pada reagen kit
- 4) Hasil pembacaan dicatat sebagai kadar asam urat.

K. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan langsung pada 40 sampel. Data yang diperoleh merupakan data primer karena pengumpulan data langsung dari sumber. Analisis deskriptif bertujuan untuk menggambarkan karakteristik variabel penelitian. Data disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara deskriptif dengan menghitung nilai selisih dan rata-rata kadar asam urat pada masing-masing waktu inkubasi.

2. Analisis Analitik

Uji Bland-Altman adalah metode statistik yang digunakan untuk menilai kesesuaian antara dua metode pengukuran. Uji ini dilakukan dengan menghitung rata-rata dari kedua metode serta selisih diantara keduanya, kemudian menentukan bias (selisih rerata) dan *Limit of Agreement* (LoA), yaitu batas kesepakatan $\pm 1,96$ SD dari bias, sehingga mencerminkan rentang di mana 95% perbedaan antara dua metode pengukuran diharapkan berada dalam rentang batas kesepakatan yang dapat diterima secara klinis. Nilai akan ditentukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$LoA_{atas} = \bar{D} + (1.96 \times SD_D)$$

$$LoA_{bawah} = \bar{D} - (1.96 \times SD_D)$$

Keterangan:

- a. $\bar{D}$ = Rata-rata selisih
- b. (SD_D) = Standar deviasi selisih
- c. (LoA) = Batas kesepakatan

Berdasarkan standar *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA), selisih rata-rata dalam pengukuran asam urat yang dapat diterima adalah $\pm 0,5$ mg/dl. Jika perbedaan hasil antara kedua metode kecil dan tidak menunjukkan pola tertentu, maka kedua metode dapat dianggap sesuai.

Tabel 5. Kategori Kesesuaian Menggunakan Uji Bland Altman

Kategori Kesesuaian	Bias (selisih rerata)	(LoA)($\pm 1,96$ SD)	Interpretasi
Sangat Baik	Bias mendekati 0 ($\leq \pm 0,2$ mg/dL)	LoA sempit (dalam batas klinis, misalnya $\pm 0,5$ mg/dL)	Metode hampir identik, bisa dipakai bergantian tanpa koreksi.
Baik	Bias kecil ($\pm 0,2 - \pm 0,5$ mg/dL)	LoA relatif sempit (sedikit lebih lebar dari batas klinis)	Perbedaan kecil, masih bisa digunakan dengan sedikit pertimbangan.
Buruk	Bias besar ($> \pm 1,0$ mg/dL)	LoA sangat lebar (diluar batas klinis)	Perbedaan besar, tidak bisa digunakan bergantian tanpa penyesuaian,

Sumber: (Sari, 2025)

L. Etika Penelitian

Penelitian ini melibatkan pemeriksaan asam urat di Puskesmas Mergangsan dan telah mendapatkan surat izin penelitian yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Kota Yogyakarta. Penelitian juga telah memperoleh *Ethical Clearence* Nomor DP.04.03/e-KEPK.1/096/2026 dari Komite Etik Politeknik Kementrian Kesehatan Yogyakarta.