

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian dan Desain Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan termasuk dalam jenis penelitian eksperimen yang sifatnya *quasi-eksperimental* yaitu jenis penelitian kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu perlakuan (intervensi) terhadap variabel terikat, tetapi tanpa melakukan randomisasi subjek secara penuh ke dalam kelompok perlakuan dan kelompok kontrol baik karena keterbatasan etika, teknis maupun kondisi lapangan (Sugiyono, 2019). Pada jenis penelitian ini, subjek penelitian dibagi ke dalam kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Penggunaan kelompok kontrol yang tidak mendapat perlakuan berfungsi sebagai pembanding sehingga setiap perubahan pada kelompok eksperimen dapat ditafsirkan sebagai efek nyata dari perlakuan tersebut (Sanjaya, 2015).

Desain penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu *Posttest Only Control Group Design*. Desain ini menggunakan dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (eksperimen) dan kelompok kontrol. Desain ini tidak melakukan pengukuran awal (*pretest*) sehingga hanya mengukur variabel terikat setelah perlakuan diberikan untuk menilai efek dari intervensi yang diuji. Kelompok eksperimen diberikan suatu perlakuan tertentu, sedangkan kelompok kontrol tidak menerima perlakuan atau menerima perlakuan standar yang tidak memengaruhi variabel penelitian. Setelah perlakuan diberikan pada kelompok eksperimen, kedua kelompok

kemudian sama-sama diukur menggunakan instrumen yang sama sehingga perbedaan hasil antara kelompok eksperimen dan kontrol dapat diinterpretasikan sebagai pengaruh perlakuan (Sugiyono, 2019). Desain penelitian tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.

$$K_1 \quad X \quad O_1$$

$$K_2 \quad O_2$$

Gambar 5. Desain Penelitian

Sumber: Sugiyono, 2019

Keterangan :

K_1 : Kelompok eksperimen

K_2 : Kelompok kontrol

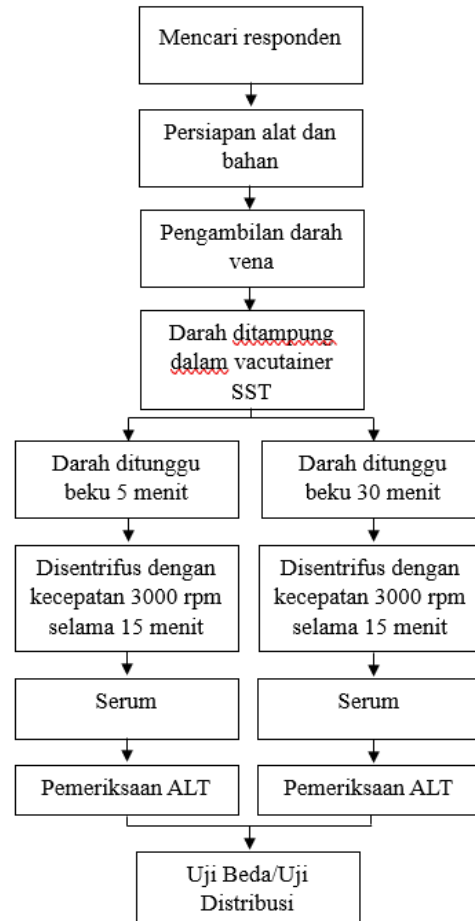
X : perlakuan atau intervensi

O_1 : Hasil pemeriksaan ALT yang didiamkan selama 5 menit

O_2 : Hasil pemeriksaan ALT yang didiamkan selama 30 menit

B. Alur Penelitian

Alur penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Alur Penelitian

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi adalah keseluruhan subjek atau objek penelitian yang memiliki karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2019). Dalam konteks penelitian kuantitatif, populasi mencakup seluruh individu atau unit analisis yang menjadi ruang lingkup generalisasi hasil penelitian (Notoatmodjo, 2018).

Subjek penelitian ini merupakan mahasiswa Semester 2 Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan jumlah total mahasiswa 247 orang berusia 17 –22 tahun yang sesuai dengan kriteria inklusi yang dapat diketahui melalui kuesioner dan telah mengisi lembar persetujuan (*informed consent*), kemudian dipilih sebanyak 40 orang. Sedangkan objek yang digunakan pada penelitian ini adalah darah vena responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang kemudian ditampung dalam *Serum Separator Tube* lalu didiamkan selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifus.

2. Sampel Penelitian

Sampel harus memenuhi kriteria tertentu baik kriteria inklusi maupun eksklusi agar benar-benar merepresentasikan populasi target serta menurunkan bias dalam penelitian (Sugiyono, 2019). Sampel pada penelitian ini merupakan bagian dari subjek dengan kriteria:

a. Inklusi

- 1) Bersedia untuk menjadi probandus penelitian dengan mengisi dan menandatangani *informed consent*
- 2) Tidak memiliki riwayat penyakit hati (hepatitis akut, nekrosis hati dan sirosis hati) yang dapat diketahui melalui kuesioner
- 3) Tidak memiliki riwayat konsumsi alkohol, obat-obatan/antibiotik/vitamin dan tidak merokok yang dapat diketahui melalui kuesioner.
- 4) Dalam keadaan sehat yang dapat diketahui melalui kuesioner.

b. Eksklusi

- 1) Serum hemolisis
- 2) Serum ikterik
- 3) Serum lipemik

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah teknik pengambilan sampel di mana subjek penelitian dipilih secara sengaja berdasarkan kriteria tertentu yang telah ditetapkan peneliti sesuai dengan tujuan penelitian. Peneliti menggunakan pertimbangan ilmiah dan pengetahuan terhadap karakteristik populasi untuk menentukan sampel yang dianggap paling representatif dan relevan terhadap variabel yang diteliti. Teknik ini digunakan untuk memastikan bahwa sampel benar-benar memiliki karakteristik yang dibutuhkan agar efek perlakuan dapat diamati secara jelas terutama ketika penelitian melibatkan kondisi biologis atau teknis tertentu (Sugiyono, 2019).

Penelitian ini melibatkan 40 responden dari 247 calon responden yang dipilih melalui kuesioner dan telah mengisi lembar persetujuan (informed consent). Jumlah 40 sampel ini memenuhi kriteria kelayakan menurut Sugiyono (2019) yang menyatakan bahwa ukuran sampel memadai berada pada rentang 30–500 responden dan jumlah tersebut dinilai layak untuk menghasilkan data yang konsisten dan mampu mewakili kondisi yang diteliti (Budi dan Moran, 2021).

D. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 5-6 Februari 2026.

2. Tempat Penelitian

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

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan pendiaman sampel darah dalam tabung *Serum Separator Tube* (SST) selama 5 dan 30 menit sebelum disentrifus.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan *Alanine Aminotransferase* (ALT).

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah suhu pengerjaan sampel.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Perlakuan pendiaman sampel darah adalah sampel darah sebanyak 3 cc yang didiamkan dalam tabung *Serum Separator Tube* (SST) pada suhu ruang terhitung mulai dari pengambilan darah hingga 5 dan 30 menit sebelum disentrifugasi menjadi variabel bebas dalam penelitian ini.

Satuan : menit

Skala data : nominal

2. Hasil pemeriksaan *Alanine Aminotransferase* (ALT) adalah nilai aktivitas ALT pada serum yang diukur dengan metode UV Kinetik spektrofotometri pada panjang gelombang 340 nm, satuan U/L, skala data rasio.
3. Variabel pengganggu pada penelitian ini adalah suhu pengerjaan sampel yang terlalu tinggi maupun terlalu rendah. Pemeriksaan *Alanine Aminotransferase* (ALT) idealnya dilakukan segera setelah sentrifugasi pada suhu ruang (20-25°C), namun jika pemeriksaan harus ditunda sampel serum sebaiknya disimpan pada suhu 2-8°C. Hal ini dapat dikendalikan dengan melakukan pemeriksaan *Alanine Aminotransferase* (ALT) segera setelah disentrifugasi.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer. Data primer adalah data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti dari sumber pertama melalui prosedur seperti wawancara, observasi, pengukuran, eksperimen maupun kuesioner. Data ini diperoleh secara langsung sesuai kebutuhan penelitian sehingga dianggap lebih akurat, aktual dan relevan dibanding data sekunder karena peneliti dapat mengendalikan proses pengumpulan, instrumen dan kondisi pengukuran. Data primer bersifat original karena belum pernah dipublikasikan atau dianalisis pihak lain. Oleh sebab itu, kualitas data

sangat bergantung pada ketepatan metode pengumpulan dan validitas instrumen yang digunakan (Sugiyono, 2019).

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan mengumpulkan data hasil pengukuran aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) menggunakan spektrofotometer yang tersedia di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

H. Instrumen dan Bahan Penelitian

Instrumen penelitian adalah seluruh alat yang digunakan untuk membantu proses pengumpulan, pengukuran serta analisis data dalam suatu penelitian laboratorium, sehingga data yang dihasilkan dapat terukur secara akurat dan reliabel (Sujarweni, 2014). Sedangkan bahan penelitian meliputi seluruh bahan habis pakai dan reagen yang digunakan untuk melakukan pemeriksaan maupun proses pendukung lainnya (Nursalam, 2020). Instrumen dan bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi:

1. Alat

- a. Jarum multisampel
- b. Holder
- c. Tourniquet
- d. Tabung *Serum Separator Tube* (SST)
- e. Kapas
- f. Plester

- g. *Alkohol swab*
- h. *Microtube*
- i. Spektrofotometri
- j. *Centrifuge*
- k. Tabung reaksi
- l. Mikropipet
- m. *Yellow tip*
- n. *Blue tip*.

2) Bahan

- a. Serum darah
- b. Reagen *Alanine Aminotransferase* (ALT)

Tabel 2. Komposisi Reagen ALT

Komposisi Reagen	
R1	ALT substrate. TRIS buffer 150 mmol/L pH 7.3, Lalanine 750 mmol/L, lactate dehydrogenase > 1350 U/L, sodium azide 0.95 g/L.
R2	ALT coenzyme. NADH 1.3 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L, sodium azide 0.95 g/L.

Sumber: Danur Diagnostic, 2023

I. Uji Validitas dan Reliabilitas

Pada penelitian ini instrumen utama yang digunakan untuk mengukur analit adalah spektrofotometer yang tersedia di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Uji validitas instrumen dilakukan guna memastikan bahwa instrumen penelitian benar-benar mampu mengukur apa yang seharusnya diukur sehingga data yang dihasilkan dapat menggambarkan konsep atau variabel secara tepat. Uji validitas dilakukan dengan memeriksa serum

kontrol 1 kali sehari sebelum instrumen digunakan untuk menganalisis sampel penelitian. Instrumen dinyatakan valid jika hasil pemeriksaan serum kontrol berada pada rentang normal yang telah ditetapkan.

Jika hasil pengukuran serum kontrol menunjukkan nilai yang berada di luar rentang yang telah ditetapkan, maka perlu dilakukan rangkaian evaluasi serta tindakan korektif secara sistematis. Proses evaluasi ini meliputi pemeriksaan menyeluruh terhadap kondisi dan kinerja instrumen analitik yang digunakan terutama spektrofotometer untuk memastikan tidak terjadi gangguan teknis yang dapat memengaruhi akurasi pembacaan. Selain itu kualitas, stabilitas serta masa berlaku reagen harus diverifikasi kembali guna memastikan bahwa bahan kimia yang digunakan masih memenuhi standar. Seluruh tahapan prosedur operasional baku pemeriksaan *Alanine Aminotransferase* (ALT) juga harus dilakukan peninjauan ulang mulai dari tahap persiapan sampel hingga pengukuran akhir untuk mengidentifikasi kemungkinan kesalahan teknis atau prosedural. Seluruh langkah ini merupakan bagian penting dari pelaksanaan *quality control* internal agar data hasil penelitian tetap valid, reliabel dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

J. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Peneliti mengajukan perizinan etik penelitian kepada Dewan Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta secara *online* melalui *website*

- b. Peneliti mengajukan perizinan penggunaan Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- c. Persiapan alat, bahan dan reagen.
- d. Persiapan responden termasuk melakukan pendataan guna mendapatkan informasi terkait nama, usia, riwayat penyakit, konsumsi obat-obatan serta memberikan penjelasan terkait *informed concent* sebelum prosedur pengambilan darah dilakukan.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Tahap Pelaksanaan *Quality Control*

1) Alat

- a) Spektrofotometer
- b) Mikropipet
- c) Tabung Reaksi
- d) Timer
- e) Kuvet
- f) *Blue tip*
- g) *Yellow tip*

2) Bahan

- a) Serum kontrol
- b) Reagen *Alanine Aminotransferase* (ALT)

3) Cara Kerja

- a) Melakukan pengukuran aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) pada serum kontrol

- b) Membandingkan hasil pengukuran aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) pada serum kontrol dengan nilai *range control* pada prosedur kit. Jika hasil masuk nilai *range control* maka pemeriksaan dapat dilanjutkan, namun jika hasil tidak masuk nilai *range control* maka perlu dilakukan evaluasi.

b. Tahap Pengambilan Darah

- 1) Meminta persetujuan dari responden melalui *informed consent* terkait kebersediaan mengikuti penelitian
- 2) Tahap pengambilan darah vena

a) Alat

- (1) *Alkohol swab* 70%
- (2) Holder
- (3) Jarum Multisampel (BD Vacutainer)
- (4) Kaps
- (5) Plester
- (6) Tourniquet
- (7) Tabung SST (*Serum Separator Tube*)

b) Cara Kerja

- (1) Melakukan pemasangan jarum ke holder dengan benar
- (2) Memasang tourniquet ke lengan responden dengan jarak dari lipatan siku kurang lebih 10 cm dan meminta responden untuk mengepalkan tangan

- (3) Melakukan palpasi vena dan pilih bagian median cubital atau chepatic
- (4) Membersihkan bagian permukaan kulit yang akan ditusuk dengan *alcohol swab* 70%, biarkan hingga kering dan jangan disentuh kembali
- (5) Melakukan penusukan vena dengan jarum yang telah disiapkan sebelumnya dengan posisi jarum menghadap keatas dan sudut antara jarum dengan kulit sekitar 15 derajat
- (6) Memasukkan tabung vacutainer SST ke holder lalu tekan kemudian tunggu hingga darah masuk ke tabung dengan sendirinya dan minta responden untuk melepaskan kepalan tangannya
- (7) Mencabut tabung pertama setelah dirasa penuh, kemudian ganti dengan tabung kedua
- (8) Apabila tabung kedua sudah penuh, lepas tourniquet yang terpasang
- (9) Menahan tempat suntikan jarum dengan kapas lalu tarik jarum dari lengan responden
- (10) Menekan bekas tusukan dengan kapas beberapa saat lalu tutup bekas tusukan dengan plester.

3) Tahap pengolahan sampel

a) Alat

- (1) *Blue tip*
- (2) *Centrifuge*
- (3) *Microtube*
- (4) Mikropipet

b) Bahan

- (1) Sampel darah vena

c) Cara Kerja

- (1) Tabung sampel darah pertama ditunggu 5 menit kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit
- (2) Tabung sampel darah kedua ditunggu selama 30 menit kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit
- (3) Serum yang telah terpisah dari sel darah merah segera dipindahkan menggunakan mikropipet dan tip ke *microtube*.

4) Tahap pemeriksaan aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT)

a) Alat

- (1) *Blue tip*
- (2) *Yellow tip*
- (3) Mikropipet
- (4) Kuvet/tabung reaksi
- (5) Spektrofotometer

(6) Timer

b) Bahan

(1) Akuades

(2) Sampel serum

(3) Reagen *Alanine Aminotransferase* (ALT)

(4) Standar *Alanine Aminotransferase* (ALT)

c) Cara Kerja

(1) Membuat monoreagen dari reagen 1 dan 2 dengan perbandingan 4:1, homogenkan

(2) Memipet sampel dan reagen ke dalam kuvet sesuai dengan Tabel 3.

Tabel 3. Cara Kerja Pemeriksaan ALT

	Blanko	Standar	Sampel
Serum	-	-	100 µl
Monoreagen	-	-	1000 µl

(3) Homogenkan kemudian inkubasi selama 1 menit

(4) Melakukan pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm pada menit 1, 2 dan 3

(5) Melakukan perhitungan aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) dengan rumus berikut:

$$\text{ALT (U/L)} = \frac{(A2-A1)+(A3-A2)}{n} \times \text{Faktor}$$

K. Manajemen Data

Data yang didapatkan dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel kemudian dianalisis secara deskriptif. Analisis deskriptif dilakukan dengan cara menghitung rata-rata (*mean*), nilai tertinggi, nilai terendah dan standar deviasi. Hasil pemeriksaan aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) pada sampel darah dalam tabung SST yang didiamkan 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifus.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS versi 16.0. Data diuji distribusi (*test of normality*) terlebih dahulu menggunakan Uji *Saphiro Wilk* untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Jika data berdistribusi normal maka dilanjutkan *Paired Sample T-test* atau Uji t 2 sampel berpasangan. Namun, apabila data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik menggunakan Uji *Willcoxon* dengan hipotesis:

H_0 : Tidak terdapat perbedaan aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) dalam sampel *Serum Separator Tube* yang didiamkan selama 5 dan 30 menit sebelum disentrifus jika signifikansi $\geq 0,05$.

H_a : Terdapat perbedaan aktivitas *Alanine Aminotransferase* (ALT) dalam sampel *Serum Separator Tube* yang didiamkan selama 5 dan 30 menit sebelum disentrifus jika signifikansi $< 0,05$.

L. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan sejujur-jujurnya berdasarkan fakta yang terjadi di lapangan. Penelitian ini dilakukan dengan etika penelitian sebagai berikut:

1. Kode Etik

Kode etik penelitian ini telah diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta melalui surat nomor: DP.04.03/e-KEPK.1/605/2026.

2. Surat Izin Peminjaman Laboratorium

Mengajukan perizinan penggunaan Laboratorium Kimia Klinik milik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta ke koordinator laboratorium dengan surat pengajuan penelitian yang telah ditandatangani oleh dosen pembimbing.

3. Surat penjelasan sebelum persetujuan (PSP)

Peneliti menjelaskan maksud, tujuan dan prosedur penelitian secara singkat dan jelas kepada calon responden. Selain membantu jalannya penelitian, responden juga akan mendapatkan keuntungan. Partisipasi calon responden bersifat sukarela. Identitas calon responden akan dirahasiakan sehingga calon responden tidak perlu khawatir.

4. *Informed Consent*

Peneliti menjelaskan maksud, tujuan dan prosedur penelitian kepada calon responden. Jika calon responden bersedia menjadi responden, maka responden harus mengisi dan menandatangani lembar *informed consent* yang diberikan oleh peneliti. Peneliti tidak akan melakukan pemaksaan kepada calon responden sehingga semua responden penelitian didapat berdasarkan kesukarelaan.