

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui gambaran kadar HDL pada penderita diabetes melitus tipe 2 berdasarkan status glikemik A1c di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat Pengambilan Sampel

Tempat pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

##### 2. Tempat Pengukuran Variabel

Pengukuran nilai HbA1c dalam penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Kemenkes Kendari dan pengukuran kadar HDL telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Politeknik Bina Husada Kendari.

##### 3. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari - Mei tahun 2023.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### a. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien DM tipe 2 yang melakukan pemeriksaan di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara sejak bulan Januari - Oktober tahun 2022 sebanyak 143 orang.

##### b. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah seluruh pasien diabetes melitus tipe 2 yang melakukan pemeriksaan di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

##### a) Kriteria Inklusi

- 1) Pasien diabetes melitus laki-laki dan perempuan.
- 2) Pasien diabetes melitus yang berusia  $\geq 40$  tahun.

3) Pasien diabetes melitus yang bersedia menjadi responden. Ditandai dengan menandatangani *informed consent*.

b) Kriteria Eksklusi

- 1) Sampel serum lipemik
- 2) Sampel serum ikterik
- 3) Sampel yang hemolisis
- 4) Subjek yang berpuasa lebih dari 12 jam

c. Besar Sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu, *Random Sampling* dengan jumlah populasi 143 orang. Besar sampel yang didapatkan dari hasil perhitungan menggunakan rumus :

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

Keterangan:

n adalah jumlah sampel yang akan dicari

N adalah jumlah populasi-

e adalah *margin of error* yang merupakan besaran kesalahan yang diharapkan atau ditetapkan

Diketahui: N=143 orang

$$e = 11,4\%$$

Maka:

$$n = \frac{143}{1 + 143 (0,114)^2}$$

$$n = \frac{143}{1 + 143 (0,012996)}$$

$$n = \frac{143}{1 + 1,858}$$

$$n = 50$$

Sehingga minimal besar sampel dalam penelitian ini adalah 50 sampel.

#### **D. Teknik Pengambilan Sampel**

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu *Random Sampling*.

#### **E. Prosedur Pengumpulan Data**

##### 1. Data primer

Data primer pada penelitian ini diperoleh dari wawancara langsung kepada penderita diabetes melitus tipe 2 di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara, pemeriksaan nilai HbA1c di Laboratorium Kimia Klinik poltekkes Kendari, dan pemeriksaan kadar HDL Laboratorium Kimia Klinik Politeknik Bina Husada Kendari.

##### 2. Data sekunder

Data sekunder yang diperoleh dari data rekam medis di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

#### **F. Instrumen Penelitian**

Instrumen dalam penelitian ini adalah *informed consent* dan *log book*.

#### **G. Prosedur Penelitian**

##### 1. Pra analitik

- a. Metode : spektrofotometri
- b. Prinsip Kerja Alat

Prinsip kerja alat spektrofotometer dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu, nilai absorbansi dari cahaya yang dilewatkan akan sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet.

##### c. Prinsip Pemeriksaan HbA1c

- 1) Pemeriksaan HbA1c menggunakan enzyme immunoassay dengan prinsip total Hb diukur secara kolometrik dan HbA1c secara imunoturbidimetrik berlangsung dalam dua tahap reaksi:
  - a) Reaksi pertama: reaksi antara ikatan antibody pada partikel lateks dengan glikopeptida pada fragmen terminal HbA1c membentuk ikatan antibody lateks
  - b) Reaksi kedua: ikatan antibody lateks bereaksi dengan aglutinator sehingga terbentuk aglutinasi antibody lateks. Aglutinasi ini akan

menyebabkan kekeruhan yang kemudian diukur secara turbidimetri.

- 2) Rasio dari konsentrasi HbA1c dengan total Hb sebagai hasil akhir HbA1c dinyatakan dalam satuan persen (%).

d. Persiapan alat, bahan dan reagen *calibrator*

1) Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *cool box*, Hemoglobin A1c POC *Analyzer*, holder *vacutainer*, mikropipet, rak tabung, sentrifus, spektrofotometer, tabung reaksi, dan tourniquet.

2) Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquades, *ice gel*, jarum *vacutainer*, kapas alkohol swab 70%, kertas label, kit reagen hemoglobin A1c, *microtube*, plaster, reagen HDL, sampel darah (*whole blood* dan serum), tabung kuning (*gel separator tube*), tabung tutup ungu (EDTA), tip biru, tip putih dan tisu.

3) Reagen Kalibrasi

Reagen kalibrasi yang digunakan dalam pemeriksaan ini yaitu reagen HDL *Coolestrol calibrator* dalam bentuk padatan yang dilarutkan dalam 500µl aquades, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit.

e. Persiapan pasien

- 1) Pasien dijelaskan terkait tujuan penelitian dan tindakan yang akan dilakukan.
- 2) pasien diminta kesediaannya untuk menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*).
- 3) pasien diminta untuk puasa selama 10-12 jam. Puasa yang dimaksud adalah pasien tidak diperbolehkan makan apapun, namun diperbolehkan minum air yang tidak berasa dan berwarna.

f. Persiapan sampel

a. Pengambilan Darah Vena

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Minta izin pada pasien sekaligus menjelaskan tindakan yang akan dilakukan.
- 3) Pasien diminta untuk meluruskan lengan dan mengepalkan tangan lalu tourniquet dipasang ( $\pm 10$  cm di atas lipatan siku) dan dilakukan palpasi.
- 4) Setelah vena dipalpasi, daerah yang akan ditusuk didesinfeksi dengan alkohol swab, lalu ditunggu hingga kering.
- 5) Lakukan pengambilan darah menggunakan jarum *vacutainer* dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas dan ditusuk dengan sudut 30 derajat dari permukaan kulit (sesuai kondisi vena pasien).
- 6) Tusukkan jarum ke vena mediana cubiti dengan hati - hati kemudian pasang tabung tutup ungu ke dalam holder *vacutainer* hingga darah terlihat mengalir ke dalam tabung,
- 7) Ketika tabung telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibutuhkan, lepaskan tabung tutup ungu dari holder lalu homogenkan isi tabung.
- 8) Pasang tabung tutup kuning ke dalam holder *vacutainer* hingga darah terlihat mengalir ke dalam tabung. Ketika tabung telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibutuhkan, lalu lepaskan tabung tutup kuning lalu diamkan darah dalam isi tabung membeku dalam tabung
- 9) Kapas kering diletakkan di tempat penusukan (di atas jarum).
- 10) Tarik jarum secara perlahan dan hati – hati sembari menekan area penusukan dengan kapas kering, lalu tutup area penusukan dengan plester.
- 11) Jarum *vacutainer* bekas pakai dilepas dari holder lalu dibuang pada tempat pembuangan khusus (bahan infeksius).

### b. Pembuatan Serum

- 1) Darah pada tabung tutup merah didiamkan hingga beku.
- 2) Darah yang sudah beku dimasukkan ke dalam sentrifus untuk dilakukan pemusingan
- 3) Atur posisi tabung dalam sentrifus dengan posisi yang seimbang
- 4) Pemusingan dilakukan pemusingan dengan kecepatan 3000 rpm dalam waktu 10 menit.
- 5) Tabung dikeluarkan dari sentrifus
- 6) Serum yang diperoleh dibagi menjadi dua *aliquot* menggunakan microtube, masing-masing microtube diisi 500 $\mu$ L serum.
- 7) Serum yang telah dialiquot kemudian disimpan di freezer.

## 2. Analitik

### a. Pemeriksaan Nilai HbA1c

- 1) Reagen kit hemoglobin A1c yang akan digunakan disiapkan kemudian diletakan pada suhu ruang.
- 2) Alat hemoglobin A1c POC *analyzer* dinyalakan dan di kalibrasi sebelum menjalankan.
- 3) Metode pengukuran pada layar menu pilih dan tekan tombol enter untuk konfirmasi.
- 4) ID pasien dibaca dengan memindai kode batang pada sampel pasien, jika tidak diperlukan tekan tombol enter untuk Langkah selanjutnya.
- 5) Operator ID dibaca dengan menggunakan kode batang operator, jika tidak diperlukan tekan tombol enter untuk Langkah selanjutnya
- 6) Penutup kompartemen *cartridge* dibuka.
- 7) Ujung tip kapiler pada pada *reagent container* disentuhkan ke tabung tutup ungu yang berisi sampel darah hingga tip kapiler terisi.
- 8) *Reagent container* dimasukkan kedalam *reaction cartridge analyzer*.
- 9) Reaction cartridge dimasukkan ke dalam alat hemoglobin A1c POC analyzer lalu kemudian alat ditutup lalu tunggu 5-6 menit selama alat menganalisa sampel.

- 10) Penutup alat dibuka ketika layar menampilkan hasil analisis sampel.
- b. Pemeriksaan kadar HDL
- a. Pemeriksaan kadar HDL
- 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
  - 2) Spektrofotometer disiapkan dengan absorbansi 0 menggunakan aquadest.
  - 3) Reagen HDL dan sampel disiapkan dan dikondisikan pada suhu ruang.
  - 4) Tabung serologi diberi label blanko, standar, dan sampel
  - 5) Dipipet masing-masing ke dalam tabung dengan prosedur seperti tabel berikut.

**Tabel 2. Prosedur Pemeriksaan HDL**

Tabung	Calibrator	Blanko	Sampel
Reagen 1	750 $\mu$ L	750 $\mu$ L	750 $\mu$ L
Calibrator	10 $\mu$ L		-
Sampel	-		10 $\mu$ L

Sumber: (*Kit Insert HDL-Colesterol Direct MR Glory Diagnostics*).

- 6) Dilakukan homogenisasi larutan sampel dan inkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang 37°C.
- 7) Reagen 2 dipipet sebanyak 250 $\mu$ l ke dalam masing – masing tabung reaksi *Calibrator*, tabung reaksi sampel dan tabung reaksi blanko.
- 8) Dilakukan homogenisasi larutan sampel dan inkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang 37°C.
- 9) Absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm.
- 10) periksa sampel pada alat spektrofotometer, lalu catat hasil pada logbook.

### 3. Pasca analitik

Interpretasi hasil :

1. Kadar *High Density Lipoprotein* Tinggi > 60 mg/dl
2. Kadar *High Density Lipoprotein* Rendah < 40 mg/dl
3. Kadar *High Density Lipoprotein* Normal 40 - 60 mg/dl

Sumber : (Perkeni, 2021).

## H. Jenis Data

### 1. Data Primer

Data primer dalam penelitian ini adalah nama, tanggal lahir, jenis kelamin, riwayat DM, glukosa darah puasa, status diabetes melitus, serta kadar HDL.

### 2. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini adalah status diabetes melitus pasien dan data jumlah pasien diabetes melitus tipe 2 yang melakukan pemeriksaan di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara pada tahun 2022.

## I. Pengolahan Data

Data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium dan data sekunder yang diperoleh dari data rekam medis kemudian dilakukan tabulasi data dan disajikan secara deskriptif.

## J. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif dan diperoleh yang kemudian dianalisa dan dikategorikan sesuai dengan interpretasi hasil yang ditetapkan berdasarkan kelompok nilai HbA1c pada pasien DM.

## K. Penyajian Data

Hasil analisis data disajikan dalam bentuk tabel yang kemudian dinarasikan.

## L. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat izin penelitian dari badan riset dan inovasi daerah Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 070/ 657/ 11/ 2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapat pernyataan layak etik dari

komite etik penelitian Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 16/ KEP/ RSUD /V/ 2023 (terlampir). Dalam penelitian ini menekankan masalah etika yang meliputi antara lain:

1. Tanpa Nama (*Anonymity*)

Dilakukan dengan cara tidak memberikan nama pasien pada label sampel hanya menunjukkan kode pada sampel.

2. Kerahasiaan (*Confidentiality*)

*Confidentiality* yaitu menjamin keberhasilan hasil penelitian baik informasi maupun masalah-masalah lainnya. Informasi yang dikumpulkan dijamin kerahasiaannya oleh peneliti, hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan pada hasil penelitian.

3. Lembar Persetujuan (*Informed Consent*)

Pada lembar persetujuan akan diberikan kepada responden yang akan diteliti dan memenuhi kriteria inklusi, jika subjek menolak, maka penelitian tidak akan memaksa dan tetap menghormati hak-hak subjek.