

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yaitu untuk mengetahui gambaran kadar trigliserida 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 telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Kemenkes Kendari dan pengukuran kadar trigliserida telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Politeknik Bina Husada Kendari.

3. Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari – Mei Tahun 2023.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien diabetes melitus tipe 2 yang melakukan pemeriksaan di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Povinsi Sulawesi Tenggara sejak bulan Januari – Oktober 2022 sebanyak 143 orang.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah mereka yang terpilih mewakili karakter populasi pasien diabetes yang telah didiagnosa menderita diabetes melitus 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 ≥ 40 tahun.
- (3) Pasien diabetes melitus yang bersedia menjadi responden. Ditandai dengan menandatangani *informed consent*.

b) Kriteria Eksklusi

- (1) Sampel serum hemolisis.
- (2) Sampel serum lipemik.
- (3) Sampel serum ikterik.
- (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 diperoleh dari hasil perhitungan menggunakan rumus:

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

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 besar sampel dalam penelitian ini adalah 50 orang.

D. Prosedur Pengumpulan Data

1. Data primer yang diperoleh dari hasil wawancara langsung pasien penderita diabetes melitus tipe 2 di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dan pemeriksaan kadar trigliserida di Laboratorium Kimia Klinik Politeknik Bina Husada Kendari.
2. Data sekunder yang diperoleh dari data rekam medis di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

E. Instrumen Penelitian

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

F. Prosedur Penelitian

1. Pra Analitik

- a. Metode: Spektrofotometri
- b. Prinsip

1) Prinsip Kerja Alat

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

2) Prinsip Pemeriksaan HbA1c

Pemeriksaan HbA1c menggunakan metode *enzyme immunoassay* dengan prinsip total Hb diukur secara kolorimetrik dan HbA1c secara imunoturbidimetrik berlangsung dalam dua tahap reaksi:

- a) Reaksi pertama: reaksi antara ikatan antibodi pada partikel lateks dengan glikopeptida pada fragmen terminal HbA1c membentuk ikatan antibodi lateks.
- b) Reaksi kedua: ikatan antibodi lateks bereaksi dengan aglutinator sehingga terbentuk aglutinasi antibodi lateks. Aglutinasi ini akan menyebabkan kekeruhan yang kemudian diukur secara turbidimetri.

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

3) Prinsip Pemeriksaan Trigliserida

Metode pemeriksaan trigliserida didasarkan pada hidrolisis enzimatis trigliserida serum menjadi gliserol dan asam lemak bebas oleh lipoprotein lipase akan membentuk kompleks warna yang dapat diukur kadarnya menggunakan spektrofotometer DIRUI DR – 7000D pada panjang gelombang 500 nm.

c. Persiapan Alat dan Bahan:

1) Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *cool box*, Hemoglobin A1c POC *Analyzer*, holder *vacutainer*, mikropipet, rak tabung, sentrifus, spektrofotometer DIRUI DR – 7000D, 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*, plester, reagen trigliserida, sampel darah (*whole blood* dan serum), tabung tutup kuning (*gel separator tube*), tabung tutup ungu (tabung EDTA), tip biru, tip putih, dan tisu.

d. 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 boleh makan apapun, namun diperbolehkan meminum air yang tidak berasa dan tidak berwarna.

e. Persiapan sampel:

a) Pengambilan Darah Vena

- 1) Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan terlebih dahulu.
- 2) Pasien diminta untuk meluruskan lengan dan mengepalkan tangan lalu tourniquet dipasang (± 3 cm di atas lipatan siku) dan dilakukan palpasi.
- 3) Setelah vena dipalpasi, area suntikan disinfeksi dengan menggunakan kapas alkohol swab 70% selama 30 detik dan biarkan sampai kering.
- 4) Pengambilan darah dilakukan menggunakan jarum *vacutainer* yang telah dipasang pada holder, penusukan dilakukan dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas dan ditusuk dengan sudut 30 derajat dari permukaan kulit (sesuai kondisi vena pasien).
- 5) Jarum ditusukkan ke vena mediana cubiti dengan hati – hati, kemudian tabung tutup kuning dipasang ke dalam holder *vacutainer* hingga darah terlihat mengalir ke dalam tabung, lalu lepaskan tourniquet dan darah akan terus mengalir kedalam tabung.
- 6) Ketika tabung telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibuthkan, lepas tabung tutup kuning dari holder.
- 7) Tabung tutup ungu dipasang ke dalam holder *vacutainer* hingga darah terlihat mengalir ke dalam tabung. Ketika tabung telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibuthkan, tabung tutup ungu dilepas dari holder lalu isi tabung dihomogenkan.
- 8) Kapas kering diletakkan di tempat penusukan (di atas jarum).
- 9) Jarum ditarik secara perlahan dan hati – hati sembari menekan area penusukan dengan kapas kering, lalu tutup area penusukan dengan plester.
- 10) 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 kedalam sentrifus untuk dilakukan pemusingan.
- 3) Atur posisi tabung dalam sentrifus dengan posisi yang seimbang.
- 4) Pemusingan dilakukan dengan kecepatan 3000 rpm dalam waktu 10 menit.
- 5) Tabung dikeluarkan dari sentrifus.
- 6) Serum yang diperoleh di bagi menjadi 2 *aliquot* pada *microtube*, masing – masing *microtube* diisi 500 µL serum.
- 7) Serum yang telah dialiquot kemudian disimpan di dalam *freezer*.

2. Analitik

a. Pemeriksaan Nilai HbA1c

- 1) Reagen kit Hemoglobin A1c yang akan digunakan disiapkan kemudian diletakkan pada suhu ruang.
- 2) Alat hemoglobin A1c POC *Analyzer* dinyalakan kemudian kalibrasi sebelum menjalankan tes.
- 3) Metode pengukuran pada layar menu dipilih 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 memindai kode batang operator. Jika tidak diperlukan, tekan tombol enter untuk langkah selanjutnya.
- 6) Penutup kompartemen *cartridge* dibuka.
- 7) Ujung tip kapiler pada *reagent container* disentuh ke tabung tutup ungu yang berisi sampel darah hingga tip kapiler terisi.
- 8) *Reagent container* dimasukkan ke dalam *reaction cartridge*.
- 9) *Reaction cartridge* dimasukkan ke dalam alat hemoglobin A1c POC *Analyzer* 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 Triglicerida

- 1) Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan terlebih dahulu.
- 2) Spektrofotometer disiapkan dengan absorbansi 0 menggunakan aquadest.
- 3) Reagen triglicerida dan sampel disiapkan dan dikondisikan pada suhu ruang.
- 4) Tabung reaksi diberi label blanko, standar, dan sampel.
- 5) Masing - masing blanko, standar dan sampel dipipet kedalam tabung dengan volume sesuai pada tabel 2.

Tabel 2. Volume Reagen dan Sampel dalam Pemeriksaan Kadar Triglicerida

Tabung	Blanko	Sampel	Standar
Reagen	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Standar	-	-	10 μ L
Sampel	-	10 μ L	-

Sumber: (*Kit Insert Triglycerides MR Glory Diagnostics*).

- 6) Larutan sampel dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang atau 5 menit pada suhu 37°C.
- 7) Absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

3. Pasca Analitik

Interpretasi hasil:

Normal : < 150 mg/dL

Sedikit tinggi : 150 – 199 mg/dL

Tinggi : 200 – 499 mg/dL

Sangat tinggi : \geq 500 mg/dL

Sumber: (PERKENI, 2021).

G. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer dalam penelitian ini adalah nama, tanggal lahir, jenis kelamin, riwayat DM, glukosa darah puasa, nilai HbA1c, serta kadar trigliserida.

2. Data Sekunder

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

H. 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.

I. Analisis Data

Kadar trigliserida yang diperoleh akan dianalisa secara deskriptif berdasarkan kelompok nilai HbA1c pada pasien diabetes melitus.

J. Penyajian Data

Hasil analisis data disajikan dalam bentuk tabel yang kemudian dinarasikan.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin penelitian dari badan riset dan inovasi daerah Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 070/ 655/ 11/ 2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapatkan pernyataan layak etik dari komite etik penelitian Rumah Sakit Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 10/ KEP/ RSUD/ V/ 2023 (terlampir). Dalam penelitian ini menekankan masalah etika yang meliputi antara lain:

1. Tanpa Nama (*Anonimity*)

Dilakukan dengan cara memberikan nama responden pada lembar alat ukur hanya menuliskan kode pada lembar pengumpulan data.

2. Lembar Persetujuan (*Informed Consent*)

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

3. Kerahasiaan (*Confidentially*)

Dilakukan dengan menjamin kerahasiaan hasil penelitian baik informasi maupun masalah-masalah lainnya. Informasi yang dikumpulkan dijamin kerahasiaanya oleh peneliti.