

## **BAB IV METODE PENELITIAN**

### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yaitu untuk mengetahui gambaran kadar kreatinin serum 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 kreatinin serum 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 DM tipe 2 yang melakukan pemeriksaan di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi 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  $\geq 40$  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 pada 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 kreatinin serum 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 Spketrofotometer

Prinsip kerja alat spektrofotometer yaitu dengan cara melewati 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 Reaksi Pemeriksaan Kreatinin (*Jaffe Reaction*)

Reaksi antara kreatinin dalam suasana alkalis dengan asam pikrat akan membentuk kompleks senyawa berwarna kuning jingga.

#### c) Persiapan Alat dan Bahan

##### 1) Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *coolbox*, Hemoglobin A1c *analyzer*, *holder vacutainer*, mikropipet, rak tabung, sentrifus, spektrofotometer, tabung reaksi, dan tourniquet.

##### 2) Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, *ice gel*, jarum *vacutainer*, kapas alkohol swab 70%, *microtube*, plester, reagen kit hemoglobin A1c, reagen kreatinin, sampel darah (*Wholeblood* dan serum), tabung tutup kuning, tabung tutup ungu, tip biru dan tip kuning.

#### d) Persiapan Pasien :

- (1) Pasien dijelaskan terkait penelitian.
- (2) Pasien dijelaskan mengenai tindakan yang akan dilakukan.
- (3) Pasien diminta kesediannya untuk menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*).
- (4) Pasien diminta untuk berpuasa selama 10-12 jam. Puasa yang dimaksud adalah pasien tidak boleh makan apapun. Namun diperbolehkan meminum air yang berasa dan berwarna.

#### e) Persiapan Sampel :

##### a. Pengambilan Darah Vena

1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Pasien diminta untuk meluruskan lengan dan mengepalkan tangan lalu tourniquet dipasang ( $\pm 3$  cm di atas lipatan siku) dan dilakukan palpasi.

3. Setelah vena dipalpasi, area suntikan didisinfeksi dengan menggunakan alkohol swab selama 30 detik dan dibiarkan sampai kering.
  4. Dilakukan 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).
  5. 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, lalu lepaskan tourniquet dan darah akan terus mengalir ke dalam tabung.
  6. Ketika tabung telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibutuhkan, lepas tabung tutup ungu dari holder lalu homogenkan isi tabung.
  7. 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, lepas tabung tutup kuning dari holder lalu homogenkan isi tabung.
  8. Kapas kering diletakkan di tempat penusukan (di atas jarum).
  9. Tarik jarum 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 ke dalam sentrifus untuk dilakukan pemusingan.
  - 3) Posisi tabung diatur dalam sentrifus dengan posisi yang seimbang.

- 4) Dilakukan pemusingan dengan kecepatan 3000 rpm dalam waktu 10 menit.
- 5) Tabung dikeluarkan dari sentrifus.
- 6) Serum yang diperoleh di bagi menjadi 2 aliquot menggunakan microtube, masing-masing microtube diisi 500  $\mu$ L serum.
- 7) Serum yang telah dialiquot kemudian disimpan di dalam freezer.

## 2. Analitik

### a. Pemeriksaan Nilai HbA1c

- 1) Disiapkan reagen kit Hemoglobin A1c yang akan digunakan kemudian diletakkan pada suhu ruang.
- 2) Alat Hemoglobin A1c POC *Analyzer* dinyalakan kemudian dikalibrasi sebelum menjalankan tes.
- 3) Metode pengukuran dipilih pada layar menu 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, tombol enter ditekan untuk beralih ke langkah selanjutnya.
- 6) Penutup kompartemen *cartridge* dibuka.
- 7) Ujung tip kapiler pada *reagent container* disentuhkan ke tabung tutup ungu yang berisi sampel darah vena 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 Kreatinin

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Reagen dibiarkan pada suhu ruang.

- 3) Reagen 1 dan reagen 2 dicampurkan dengan perbandingan 1:1 untuk membuat reagen kerja.
- 4) Inkubasi reagen kerja selama 30 detik sebelum pengerjaan sampel.
- 5) Reagen kerja sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  dipipet lalu dimasukkan ke tabung reaksi kemudian sampel dipipet sesuai dengan prosedur seperti tabel berikut.

**Tabel 2. Prosedur Pemeriksaan Kreatinin Serum**

Reagen Kerja	1,0 mL
Sampel / Standar	100 $\mu\text{L}$

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

- 6) Sampel serum sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dipipet lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sama.
- 7) Sampel dihomogenkan lalu di inkubasi selama 90 detik.
- 8) Sampel dianalisis pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 510 nm.
- 9) Melakukan pencatatan hasil pada *logbook*.

### 3. Pasca analitik

Kadar kreatinin pada pria

- Dibawah Nilai Rujukan :  $< 0,7 \text{ mg/dL}$
- Normal :  $0,7 - 1,2 \text{ mg/dL}$
- Diatas Nilai Rujukan :  $> 1,2 \text{ mg/dL}$

Kadar kreatinin pada wanita

- Dibawah Nilai Rujukan :  $< 0,5 \text{ mg/dL}$
- Normal :  $0,5 - 0,9 \text{ mg/dL}$
- Diatas Nilai Rujukan :  $> 0,9 \text{ mg/dL}$

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

## G. Jenis Data

### 1. Data primer

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

## 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 Provinsi 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 kreatinin serum 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 070/661/11/2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapatkan pernyataan layak etik dari komite etik penelitian Rumah Sakit Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 15/KEP/RSU/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.