

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yaitu untuk mengetahui gambaran kadar LDL 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 Ruang Sampling Laboratorium Sentral BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara.

2. Tempat Pengukuran Variabel

Pengukuran nilai HbA1c dalam penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Poltekkes Kemenkes Kendari dan pengukuran kadar LDL 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 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 Eksklusi

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

b) 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

$$e = 11,4\%$$

Maka :

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

$$n = \frac{1}{1 + 1 (0,01)}$$

$$n = \frac{1}{1 + 1,01}$$

$$n = 50$$

sehingga, minimal 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 LDL 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

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

F. Prosedur Penelitian

Prosedur pemeriksaan kadar HbA1c

1. Pra Analitik
 - a) Metode: Spektrofotometri
 - b) Prinsip
 - 1) 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.

- 2) Prinsip Pemeriksaan HbA1c

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 anti body lateks bereaksi dengan aglutinator sehingga terbentuk aglutinasi antibody lateks. Aglutinasi ini akan menyebabkan kekeruhan yang kemudian diukur secara trubidimetri.

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

3) Prinsip Pemeriksaan LDL

LDL diendapan dan setelah disentrifus, HDL dan VLDL ada di supernatant. LDL dapat dihitung dari perbedaan kolesterol supernatant dan serum total.

c) Persiapan Alat, Bahan dan Reagen Kalibrator

1) Alat

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung tutup ungu, tabung tutup kuning, hemoglobin A1c POC *analyzer*, spektrofotometer UV-Vis, sentrifus, mikropipet, rak tabung, spoit 3 cc, tourniquet, tabung reaksi, *coolbox*

2) Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu sampel darah (serum dan *whole blood*), spoit 3 cc, kapas alkohol 70%, plester, reagen LDL, *calibration* LDL, tip kuning, tip putih, aquadest, dan plester, *ice gel*.

3) Reagen Kalibrator

Reagen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu reagen LDL kolestrol kalibrator dalam bentuk padatan yang dilarutkan dalam 500 μ L aquadest, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit.

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 berpuasa 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) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - 2) Pasien diminta untuk meluruskan lengan dan mengepalkan tangan lalu tourniquet dipasang (± 3 cm diatas lipatan siku) dan dilakukan palpasi.
 - 3) Setelah vena dipalpasi, area suntikan didisinfeksi dengan menggunakan alkohol swab selama 30 detik dan biarkan hingga kering.
 - 4) Dilakukan pengambilan darah menggunakan jarum *vacuntainer* dengan posisi lubang jarum menghadap keatas dan ditusuk dengan 30 derajat dari permukaan kulit (sesuai kondisi vena pasien).
 - 5) Tusukkan jarum ke vena mediana cubiti dengan hati - hati kemudian pasang tabung ungu ke dalam holder *vacuntainer* 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 dibutuhkan, lepas tabung tutup ungu dari holder lalu homogenkan isi tabung.
 - 7) Pasang tabung tutup kuning ke dalam holder *vacuntainer* 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 (diatas 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 kedalam sentrifua 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 dibagi menjadi 2 aliquot menggunakan *microtube*, masing-masing *microtube* diisi 500 L serum.
- 7) Serum yang telah di aliquot kemudian disimpan didalam *freezer*.

2. Analitik

b. Pemeriksaan Nilai HbA1c

- 1) Reagen kit Hemoglobin A1c yang akan digunakan kemudian diletakkan pada suhu ruang.
- 2) Alat hemoglobin A1c POC *Analyzer* dinyalakan kemudian kalibrasi sebelum menjalankan tes.

- 3) Metode pengukuran pada layer 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 *catridge* dibuka.
 - 7) Ujung tip kapiler pada *reagen container* disentuh ke tabung tutup ungu yang berisi sampel darah hingga tip kapiler terisi.
 - 8) *Reagen container* dimasukkan ke dalam hingga tip kapiler terisi
 - 9) *Reagen catrige* 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
- c. Pemeriksaan kadar LDL
- 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - 2) Spektrofotometer UV-Vis disiapkan dengan absorbansi 0 menggunakan aquadest.
 - 3) Reagen LDL 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 1. Prosedur Pemeriksaan LDL

Tabung	Blanko	Sampel	Calibrasi
R1	300 μ L	300 μ L	300 μ L
Sampel	-	4 μ L	-

Cal	-	-	4 μ L
-----	---	---	-----------

Sumber : (*Kit Insert LDL-Cholesterol Direct MR Glory Diagnostics*)

- 6) Dilakukan homogenisasi larutan sampel dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C.
 - 7) Reagen 2 sebanyak 100 μ L dipipet lalu dimasukkan ke tabung reaksi kemudian kalibrasi dipipet 4 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi reagen 2.
 - 8) Homogenkan dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C.
 - 9) Absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.
3. Pasca Analitik

Interpretasi hasil:

- 1) Optimal : < 100 mg/dL
- 2) Mendekati Optimal : 100-129 mg/dL
- 3) Sedikit Tinggi : 130-159 mg/dL
- 4) Tinggi : 160-189 mg/dL
- 5) Sangat Tinggi : 190 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, kadar HbA1c serta kadar LDL.

2. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini adalah data jumlah pasien diabetes melitus pasien tipe 2 yang melakukan pemeriksaan di BLUD Rumah Sakit Umum Bahtermas 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 dilakukan tabulasi dan disajikan secara deskriptif.

I. Analisis Data

Kadar LDL yang diperoleh akan dianalisa secara deskriptif berdasarkan kelompok HbA1c pada 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 070/658/11/2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapat pernyataan layak etik dari komite etik penelitian Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 10/KEP/RSU/V/2023 (terlampir). Dalam penelitian ini menekankan masalah etika yang meliputi antara lain:

1. *Anonymity* (Tanpa Nama)

Dilakukan dengan cara tidak memberikan nama responden pada lembar data, dan hanya memberikan kode pada lembar pengambilan data.

2. *Informed Consent* (Lembar Persetujuan)

Lembar persetujuan diberikan pada responden yang akan diteliti yang memenuhi kriteria inklusi. Bila subjek menolak, maka peneliti tidak memaksa dan tetap menghormati hak-hak subjek.

3. *Confidentiality* (Kerahasiaan)

Menjamin kerahasiaan hasil penelitian baik informasi maupun masalah-masalah lainnya. Informasi yang dikumpulkan dijamin kerahasiaannya oleh peneliti, hanya kelompok dan data tertentu yang akan dilaporkan pada hasil pemeriksaan.