

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yaitu untuk mengetahui gambaran kadar albumin 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 ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari dan pengukuran albumin 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 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 Inklusi

1. Penderita 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 concent*.

b) Kriteria Eksklusi

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

3. 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:

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

$$n = \frac{143}{1 + 143 (0,012996)^2}$$

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

$$n = 50$$

sehingga minimal besar sampel dalam penelitian ini adalah 50 orang.

D. Instrumen Penelitian

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

E. Prosedur Pengumpulan Data

1. Data primer diperoleh dari hasil wawancara langsung pasien penderita diabetes melitus tipe 2 di BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dan pemeriksaan albumin 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.

F. Prosedur Penelitian

a. Pra analitik

a) Prinsip Kerja Alat Spektrofotometer

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.

b) Prinsip Kerja Metode BCG

Prinsip kerja dari metode BCG yaitu dengan adanya bromcresol green pada pH sedikit asam (larutan sitrat), albumin serum akan bereaksi lalu menghasilkan perubahan warna indikator dari kuning kehijauan menjadi hijau kebiruan yang kemudian diukur kadarnya menggunakan spektrofotometer.

c) Prinsip Pemeriksaan Nilai HbA1c

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

1. Reaksi pertama: reaksi antara ikatan antibody pada partikel lateks dengan glikopeptida pada fragmen terminal HbA1c membentuk ikatan antibody lateks
2. Reaksi kedua: ikatan antibody lateks bereaksi dengan aglutinator sehingga terbentuk aglutinasi antibody 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 (%).

d) 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, 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, *microtube*, plaster, reagen kit hemoglobin A1c, reagen albumin serum, sampel darah (*whole blood* dan serum), tabung tutup kuning (*gel separator tube*), tabung tutup ungu(EDTA), tip biru, tip putih, tissue.

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 boleh makan apapun, namun diperbolehkan meminum air yang tidak berasa dan tidak 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 (± 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 ungu 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 dibagi menjadi dua *aliquot* menggunakan *microtube*, masing-masing *microtube* diisi 500 μ L serum.
7. Serum yang telah dialiquot kemudian disimpan di dalam *freezer*.

b. 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 dan di kalibrasi sebelum menjalankan tes.
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 *catridge* dibuka.

7. Ujung tip kapiler pada reagent *container* disentuhkan ke tabung tutup ungu yang berisi sampel darah hingga tip kapiler terisi.
8. *Reagent container* dimasukkan ke dalam *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 Albumin Serum

1. Reagen dan sampel disiapkan lalu didiamkan pada suhu ruang
2. Disiapkan tiga buah tabung serologi kemudian serum dipipet sesuai seperti tabel berikut:

Tabel 2. Prosedur Pemeriksaan Albumin

Tabung	Blanko	Sampel	Standar
Reagen	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l
Sampel	-	5 μ l	-
Standar	-	-	5 μ l

Sumber: (*Kit Insert Albumin MR Glory Diagnostics*)

3. Masing – masing tabung dihomogenkan lalu diinkubasi selama 1 menit pada suhu ruang.
4. Absorbansi sampel dan standart dibaca pada panjang gelombang 630 nm.

c) Pasca analitik

Interpretasi hasil:

1. Hipoalbuminemia : <3,81 g/dL
2. Hiperalbuminemia : >4,65 g/dL
3. Normal : 3,82 g/dl - 4,64 g/dL

Sumber: (*Kit Insert Albumin 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, serta kadar albumin.

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.

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

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif yang kemudian dianalisa dan dikategorikan sesuai dengan interpretasi hasil yang ditetapkan berdasarkan kelompok nilai HbA1c pada penderita diabetes melitus.

J. Penyajian Data

Hasil analisis data disajikan dalam bentuk tabel yang kemudian akan dinarasikan.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin penelitian dari Badan Riset dan Inovasi Daerah Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 070/660/11/2023 (terlampir). Penelitian ini juga telah mendapatkan pernyataan layak etik dari Komite Etik Penelitian BLUD Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dengan nomor 18/KEP/RSU/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) 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 (*Confidentiality*)

Confidentiality atau kerahasiaan 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