

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini bersifat deskriptif kuantitatif dengan pendekatan *cross sectional* untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan kadar HDL pada mahasiswa jurusan teknologi laboratorium medis

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan, di RSUD Aliyah 2 kota kendari

2. waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juli Tahun 2024.

C. Populasi Dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua mahasiswa jurusan TLM tingkat I, II, dan, III dengan jumlah 391 mahasiswa aktif tahun akademik 2024 semester genap

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah sampel darah vena mahasiswa jurusan teknologi laboratorium medis. Teknik pengambilan sampel menggunakan random sampling. Jika jumlah populasi <100 maka semua sampel diambil, dan jika populasi >100 maka besar sampel dapat di ambil antara 10-15%. Pada penelitian ini menggunakan 10% karena >100 populasi sampel.

$$n = N \times K$$

$$n = 391 \times \frac{10}{100}$$

$$n = 39$$

ket :

n = jumlah sampel

K = persentase sampel yang akan diteliti

N = jumlah populasi

Dari jumlah sampel, maka dapat dihitung sebagai berikut.

No	Tingkat	Perhitungan	Jumlah
1	Tingkat I	$I = 200/100 \times 10 = 20$	20
2	Tingkat II	$II = 95/100 \times 10 = 9$	9
3	Tingkat III	$III = 97/100 \times 10 = 10$	10
			39

Berdasarkan rumusan diatas, maka besaran sampel yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 39 orang.

Dalam penelitian ini, dalam menentukan dapat dan tidaknya sampel tersebut dapat menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi (Papua, 2022)

a. Kriteria sampel Inklusi :

- 1) Mahasiswi dan Mahasiswa aktif jurusan teknologi laboratorium medis poltekkes kemenkes kendari
- 2) Berusia lebih dari 18 tahun
- 3) Bersedia menjadi responden

b. Kriteria eksklusi :

- a). Fotometer :
 - 1) Sampel hemolisis
 - 2) Sampel lipemik
 - 3) Sampel literik
- b). POCT Lipidpro[®]

- 1) sampel darah neonates

c. Teknik pengambilan sampel

Dalam penelitian ini menggunakan teknik pengambilan sampel yaitu teknik random sampling

D. Prosedur Pengumpulan Data

1. Data primer dalam penelitian ini diperoleh dari data yang didapatkan dari hasil pemeriksaan kadar HDL menggunakan Fotometer dan POCT lipid pro dengan sampel darah vena pada mahasiswa jurusan teknologi laboratorium medis.

2. Data Sekunder pada penelitian Ini adalah Data yang diperoleh dari penelitian-penelitian sebelumnya dan dari jurnal-jurnal yang telah di publikasikan yang kemudian dijadikan landasan teoritis.

E. Instrument penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Fotometer dan POCT Lipid Pro.

F. Prosedur Pemeriksaan Laboratorium

a. Pra Analitik

a) Persiapan Alat dan Bahan Menggunakan Fotometer

Alat :

- 1) Fotometer BioSystems BTS-350
- 2) Mikropipet 1000 μ l, 200 μ l dan 20 μ l
- 3) Tabung reaksi
- 4) Rak tabung
- 5) Sentrifuge
- 6) Stopwatch
- 7) Tabung EDTA
- 8) Tourniqet

Bahan :

- 1) *Handscoon*
- 2) Spoit 3 CC
- 3) Kapas alkohol 70%
- 4) Kapas kering
- 5) Plaster
- 6) Reagen HDL
- 7) Plasma EDTA
- 8) Tip kuning dan tip biru

b) Persiapan Alat dan Bahan Menggunakan POCT Lipid Pro

Alat :

- 1) POCT Lipid Pro
- 2) Rod kapiler

3) Tabung EDTA

4) Tourniqet

Bahan :

1) Handscoon

2) Spoit 3 CC

3) Kapas alkohol 70%

4) Plaster

5) Strip LipidPro

6) Sampel darah vena

c) Prinsip Reaksi

$\text{HDL-C} + \text{H}_2\text{O PEG chol. Esterase} > \text{chol.} + \text{RCOOH}$

$\text{Chol.} + \text{O}_2 \text{ PEG chol. Oxidase} > \text{Cholest-4-en-3-one} + \text{H}_2\text{O}_2$

$2 \text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{-aminophenazone} + \text{HSDA} + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \text{ peroksidase}$
purple blue pigment + 5 H₂O

Hidrolisis kolestrol ester dari serum atau plasma (sampel) menggunakan enzim kolestrol esterase membentuk kolestrol nonesterifikasi (bebas) dan asam lemak bebas. Kolesterol nonesterifikasi kemudian dioksidasi menggunakan kolesterol oksidase sebagian katalis membentuk koles-4-en-3-one dan hidrogen peroksidase (H₂O₂), selanjutnya H₂O₂ bereaksi dengan satu kromogen (pewarna) misalnya 4-aminoatipyrine (4-AAP) atau p-hidroxybenzenesulfonate yang dengan adanya H₂O₂ akan menghasilkan suatu kompleks warna. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang 500 nm sehingga intensitas warna yang terbentuk secara langsung proporsional terhadap total kolesterol yang ada dalam sampel.

d) Prinsip Alat Fotometer

Menurut Hukum Lambert-Beer, ketika sinar elektromagnetik dari sumber sinar melewati sampel maka sinar tersebut keluar sebagai I_t atau I₁. Cahaya yang diabsorpsi diukur sebagai absorbansi (A) dan

transmitansi (T) adalah cahaya yang diteruskan.

e) Prinsip Alat POCT LipidPro

Pembacaan hasil LipidPro adalah dengan berdasarkan metode enzimatik-kolorimetri yaitu warna hasil reaksi sampel dengan enzim pada strip. Ketika sampel darah bereaksi dengan strip, akan terjadi perubahan warna di area tes karena terjadi reaksi antara sampel darah dengan enzim pada strip. Alat Lipidpro akan mengukur perubahan warna ini dan mengkonversinya menjadi hasil pengukuran yang kemudian ditampilkan pada layar alat.

f) Persiapan Pasien

- a. Pasien dijelaskan terkait tujuan penelitian dan tindakan yang akan dilakukan.
- b. Pasien diminta kesediaannya untuk menandatangani lembar persetujuan (*Informed consent*).

g) Persiapan Sampel

Flebotomi/Pengambilan darah vena :

- 1) Pertama dipalpasi lengan pasien dan tourniquet di pasang pada lengan atas ± 7 cm dari lipat siku
- 2) Bersihkan area vena yang akan di ambil darah (vena mediana cubiti) dengan kapas alkohol 70% dan biarkan kering setelah itu,
- 3) Dilakukan penusukan dengan posisi jarum 30° pada kulit, jika darah yang terlihat dispuut maka segera lepaskan tourniquet dan menarik torak secara perlahan hingga darah didapatkan sesuai kebutuhan terakhir, melepaskan jarum, luka bekas tusukan diberi kapas kering lalu plester
- 4) Kemudian dimasukkan sampel darah yang telah diambil kedalam tabung EDTA.

h) Pembuatan Plasma EDTA

Sampel darah disentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 10-15 menit agar sel-sel darah terpisah dari darah dimana sebelumnya ditambahkan antikoagulan.

b. Analitik**a) Prosedur Pemeriksaan Kadar HDL Menggunakan Fotometer**

Pembuatan Presipitat :

- 1) Disiapkan 1 tabung
- 2) Masukkan 200 μ l plasma dan ditambahkan reagen A sebanyak 500 μ l
- 3) Kemudian dihomogenkan sampai berwarna putih seperti susu
- 4) Inkubasi pada suhu ruang (37°C) selama 10 menit
- 5) Setelah diinkubasi kemudian disentrifuge selama 10 menit
- 6) Pisahkan supernatant (bagian atas larutan setelah disentrifuge) secara hati hati.

Standart :

- 1) Disiapkan 1 tabung kemudian dipipet 50 μ l reagen HDL kolesterol standart dan ditambahkan reagen B sebanyak 1000 μ l
- 2) Homogenkan kemudian diinkubasi pada suhu ruang ($16-25^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit atau 10 menit pada suhu 37°C .
- 3) Dan baca konsentrasi pada alat setelah inkubasi selesai.

Sampel :

- 1) Disiapkan 1 tabung bersih
- 2) Dipipet 50 μ l supernatant kemudian dipipet reagen B sebanyak 1000 μ l kemudian dihomogenkan
- 3) Inkubasi pada suhu ruang ($16-25^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit.
- 4) Setelah diinkubasi selanjutnya dibaca di alat dengan panjang gelombang 546 nm.

b) Prosedur Pemeriksaan Kadar HDL Menggunakan POCT Lipid Pro

- 1) Masukkan strip kedalam alat
- 2) Pastikan kode pada alat sama dengan botol strip
- 3) Diambil sisa sampel darah vena sebanyak 5 μ L yang berada pada spoit menggunakan batang kapiler
- 4) Tekan batang kapiler pada sumur lubang strip "TC" hingga

terdengar bunyi beep

- 5) Kemudian pada sumur lubang strip “HDL” menggunakan batang kapiler baru hingga terdengar bunyi beep
- 6) Terakhir pada sumur lubang strip “TG” hingga terdengar bunyi beep
- 7) Alat akan melakukan pengukuran selama kurang lebih 2 menit

c. Pasca Analitik

Interpretasi hasil :

Nilai rujukan kadar HDL menurut PERKENI tahun 2021 yaitu,

Rendah : <40 mg/dl

Tinggi : >60 mg/dL (menurunkan risiko penyakit jantung)

G. Pengolahan Data

Setelah data terkumpul, maka dilakukan pengolahan data yang melalui beberapa tahapan sebagai berikut :

1. Pemberian kode (*coding*) memberikan kode pada setiap data yang ada dengan maksud memudahkan dalam analisa data.
2. Seleksi data (*editing*) untuk memeriksa data yang telah terkumpul.
3. Pemberian skor (*scoring*) memberi nilai pada data yang telah dikumpulkan.
4. Pengelompokan data (*tabulating*) menyusun dalam bentuk table distribusi frekuensi setelah dilakukan penghitungan data secara manual.

H. Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini yaitu analisis univariat yakni untuk memberikan gambaran hasil pemeriksaan kadar HDL pada mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Kendari.

I. Penyajian data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

J. Etika Penelitian

Etika penelitian bertujuan untuk melindungi hak-hak subjek. Dalam penelitian ini menekankan masalah etika yang meliputi :

1. Anonymity (Tanpa Nama)

Dilakukan dengan cara tidak memberikan nama responden pada lembar alat ukur, hanya menuliskan kode pada lembar pengumpul data.

2. Informed Consent

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

3. Confidentiality (Kerahasiaan)

Confidentiality yaitu menjamin kerahasiaan 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.

K. Keterbatasan penelitian

Pada penggunaan alat POCT lipid pro yang memakan waktu yang lama persampelnya, sehingga alat dapat *error* sewaktu-waktu