

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini bersifat deskriptif kuantitatif dengan pendekatan *cross sectional* menggunakan fotometer dan POCT Lipidpro[®] dengan sampel darah vena.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan, di Laboratorium RSU Aliyah 2 Kota Kendari.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini 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 393 mahasiswa aktif tahun akademik 2024 semester genap.

1. 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.

a) Kriteria Inklusi :

- 1) Mahasiswa(i) 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 kolesterol total menggunakan fotometer dan POCT Lipidpro[®] dengan sampel darah vena pada mahasiswa(i) 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. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah lembar persetujuan subjek (*informed consent*) dan *log book*.

F. Prosedur Pemeriksaan Laboratorium

a. Pra Analitik

a) Persiapan Alat dan Bahan Menggunakan Fotometer

Alat

- 1) Fotometer BioSystem BTS-350
- 2) Mikropipet 100 μ l dan 1000 μ l
- 3) Rak tabung
- 4) Sentrifuge
- 5) Stopwatch
- 6) Tabung EDTA
- 7) Tourniquet

Bahan

- 1) Handscoon
- 2) Spoit 3 CC
- 3) Kapas alkohol 70%
- 4) Kapas kering
- 5) Plester
- 6) Tisu
- 7) Reagen kolesterol total
- 8) Plasma EDTA
- 9) Tip kuning dan tip biru

b) Persiapan Alat dan Bahan Menggunakan POCT Lipidpro[®]

Alat

- 1) LipidPro[®]
- 2) Stik kapiler
- 3) Tourniquet
- 4) Tabung EDTA

Bahan

- 1) Handscoon
- 2) Spuit 3 CC
- 3) Kapas alkohol 70%
- 4) Plester
- 5) Sampel darah vena
- 6) Strip LipidPro[®]

c) Prinsip Reaksi

Prinsip pemeriksaan pada penelitian ini menggunakan metode Cholesterol oksidase (CHOD-PAP). Untuk melakukan pengukuran secara enzimatik, maka perlu dipreparasi blanko (aquadest), blanko reagen, standar dan sampel. Kolesterol ditentukan setelah hidrolisa enzimatik dan oksidasi. Indikator Quinoneimine terbentuk dari hydrogen peroxidase dan 4 – aminoantipyrin dengan adanya phenol dan peroxidase.

1. Metode pengukuran Kolesterol Total

- Cholesterol ester + H₂O Cholesterol ester hydrolase
Kolesterol + Fatty acid
- Cholesterol + O₂ Cholesterol Oxidase Cholest-4-en-3-one
+ H₂O₂
- H₂O₂ + phenol + 4-aminoantipyrine peroksidase
quinoneimine dye + 2 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 sebagai katalis membentuk koles-4-en-3-one dan hidrogen peroksidase (H_2O_2), selanjutnya H_2O_2 bereaksi dengan satu kromogen (pewarna) misalnya 4-aminoantipyrine (4-AAP) atau p-hidroxybenzenesulfonate yang dengan adanya H_2O_2 akan menghasilkan suatu kompleks warna. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometer 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 I_1 . Cahaya yang diabsorpsi diukur sebagai absorbansi (A) dan transmitansi (T) adalah cahaya yang diteruskan.

e) Prinsip Alat POCT Lipidpro[®]

Pembacaan hasil Lipid Pro adalah berdasarkan reflektansi 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.

f) Persiapan Pasien

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

g) Persiapan Sampel

Pengambilan Darah Vena :

- 1) Disiapkan terlebih dahulu 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 alcohol 70% dan biarkan hingga kering.
- 4) Dilakukan pengambilan darah menggunakan jarum spuit 3 cc dengan posisi lubang jarum menghadap keatas dan ditusuk dengan 30 derajat dari permukaan kulit (sesuai kondisi vena pasien).
- 5) Dilakukan penusukan jarum ke vena mediana cubiti dengan hati – hati hingga darah terlihat mengalir ke dalam spuit, lalu lepaskan tourniquet dan darah akan terus mengalir.
- 6) Ketika telah terisi dengan sejumlah volume darah yang dibutuhkan.
- 7) Kapas kering diletakkan di tempat penusukan (diatas jarum).
- 8) Tarik jarum secara perlahan dan hati – hati sembari menekan area penusukan dengan kapas kering, lalu tutup area penusukan dengan plester.
- 9) Kemudian sampel darah vena yang telah diambil dibagi satu dimasukkan kedalam tabung EDTA dan sisanya untuk pemeriksaan POCT Lipidpro[®].

h) Pembuatan Plasma dengan sentrifuge

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 Kolesterol Total

Menggunakan Fotometer

- 1) Disiapkan 3 buah tabung
- 2) Tabung 1 untuk reagen blanko, tabung 2 untuk reagen standart, dan tabung 3 untuk sampel (test).
- 3) Tiga buah tabung (blanko, standart, dan sampel) masing-masing dipipet 500 μ l reagen kolesterol.

- 4) Kemudian tambahkan 5 μ l reagen blanko ke tabung blanko, 5 μ l reagen standart ke tabung standart, dan 5 μ l sampel plasma ke tabung sampel.
- 5) Lalu dihomogenkan semua tabung yaitu blanko, standart, dan sampel.
- 6) Setelah itu, Inkubasi semua tabung pada suhu 37°C selama 10 menit atau pada suhu ruang selama 10 menit.
- 7) Absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

b) Prosedur Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total

Menggunakan POCT Lipidpro[®]

- 1) Masukkan strip ke dalam alat.
- 2) Dipastikan kode pada alat sama dengan botol strip.
- 3) Selanjutnya diambil sampel darah vena sebanyak 5 μ L yang berada pada tabung menggunakan stik kapiler.
- 4) Diteteskan sampel darah pada lubang strip “TC” hingga terdengar bunyi beep.
- 5) Kemudian diteteskan darah pada lubang strip “HDL” hingga terdengar bunyi beep.
- 6) Terakhir diteteskan darah pada lubang strip “TG” hingga terdengar bunyi beep.
- 7) Selanjutnya alat akan melakukan pengukuran selama kurang lebih 2 menit.

c. Pasca Analitik

Interprestasi hasil :

Diinginkan	: <200 mg/dl
Sedikit tinggi (<i>borderline</i>)	: 200-239 mg/dl
Tinggi	: \geq 240 mg//dl

SUMBER : (PERKENI, 2021)

G. Pengolahan Data

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

- a. Pemberian kode (*coding*) memberikan kode pada setiap data yang ada dengan maksud memudahkan dalam analisa data.
- b. Seleksi data (*editing*) untuk memeriksa data yang telah terkumpul.
- c. Pemberian skor (*scoring*) memberi nilai pada data yang telah dikumpulkan.
- d. 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 kolesterol total menggunakan fotometer dan poct lipid pro dengan sampel darah vena.

I. Penyajian Data

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

J. Etika Penelitian

- a. *Anonimity* (Tanpa Nama)

Dilakukan dengan cara tidak memberikan nama pasien pada lembar alat ukur, dan hanya menuliskan kode pada lembar pengumpulan data.

- b. *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.

- c. *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 Lipidpro[®] proses pengerjaannya membutuhkan waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan alat fotometer namun untuk mendiagnosa kadar kolesterol total lebih baik menggunakan alat fotometer ketimbang menggunakan alat POCT Lipidpro[®].