

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar kolesterol pada serum segar dan plasma EDTA yang tidak dipisah.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Universitas Setia Budi dan dilakukan pemeriksaan di Puskesmas Banyuanyar.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Mei 2019.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dikatakan sebagai wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek atau subyek yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2014). Populasi dari penelitian ini adalah mahasiswa Analis Kesehatan D – IV Reguler Universitas Setia Budi.

2. Sampel Penelitian

a. Sampel

Sampel merupakan sebagian dari populasi yang memiliki ciri – ciri diselidiki atau diukur (Sumantri, 2015). Sampel dalam penelitian ini adalah mahasiswa Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan yang melakukan pemeriksaan kadar kolesterol di Universitas Setia Budi.

b. Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30, karena menggunakan *minimal size* atau jumlah sampel minimal (Murti, 2013).

3. Teknik sampling

Teknik sampling dalam penelitian ini adalah teknik *purposive sampling*, yaitu dengan mempertimbangkan faktor – faktor pada probandus yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Faktor – faktor tersebut dikategorikan dalam dua kriteria yaitu :

a. Kriteria Inklusi

- 1) Mahasiswa Analis Kesehatan Reguler Universitas Setia Budi.
- 2) Bersedia menjadi subyek penelitian.
- 3) Berusia 19 – 24 tahun.
- 4) Sebelum pemeriksaan pasien melakukan puasa 8 – 12 jam.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Suhu tubuh yang tinggi (demam)
- 2) Merokok
- 3) Peminum alkohol

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Independent

Variabel independent adalah variabel yang menjadi penyebab terjadinya perubahan, yang mempengaruhi variabel dependent. Variabel independent pada penelitian ini adalah serum segar, plasma EDTA tidak dipisah 1 jam dan plasma EDTA tidak dipisah 3 jam.

2. Variabel Dependent

Variabel dependent adalah variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel independent. Variabel dependent dalam penelitian ini adalah kadar total kolesterol.

3. Definisi Operasional

a. Serum segar

Serum segar adalah serum yang didapat setelah pemisahan dari bekuan darah tanpa mengalami penundaan pemeriksaan. Serum dalam penelitian ini akan diperiksa kadar kolesterol sebagai pembanding dengan kadar kolesterol pada plasma.

b. Plasma EDTA tidak dipisah 1 jam

Plasma tidak dipisah 1 jam adalah plasma yang mengalami penundaan pemeriksaannya dan pemisahan antara cairan plasma dan bekuan darah selama 1 jam pada suhu ruang. Alat yang digunakan tabung vacuum berwarna ungu, *centrifuge*. Metode membagi plasma dalam dua bagian (penundaan 1 jam dan penundaan 3 jam). Satuan mili liter. Skala kategorial.

c. Plasma EDTA tidak dipisah 3 jam

Plasma tidak dipisah 3 jam adalah plasma yang mengalami penundaan pemeriksaan dan pemisahan antara cairan plasma dan bekuan darah selama 3 jam pada suhu ruang. Alat yang digunakan tabung vacum berwarna ungu, *centrifuge*. Metode membagi plasma dalam dua bagian (penundaan 1 jam dan penundaan 3 jam). Satuan mili liter. Skala kategorial.

d. Kolesterol Total

Kadar kolesterol total adalah salah satu komponen lemak yang terdapat dalam setiap membran sel tubuh. Kolesterol dihasilkan dengan cara dibentuk di hati dan dari makanan yang dikonsumsi. Alat Kimia *Photometer 5010 v5+*. Metode CHOD PAP. Satuan mg/dl. Skala rasio. Nilai rujukan orang dewasa normalnya adalah ≤ 200 mg/dl, resiko sedang 200 – 240 mg/dl, resiko tinggi > 240 mg/dl (Gandasoebarta, 2007).

E. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Kapas alkohol 70%
- b. Kapas steril / plester
- c. *Torniquet*
- d. Sduit inject 3 ml
- e. Tabung vacum tutup merah
- f. Tabung vacum tutup ungu
- g. *Centrifuge*

- h. Tabung reaksi sedang
- i. Rak tabung reaksi
- j. *Ice box* / wadah tabung sampel
- k. Clinipet 10 μ L
- l. Clinipetc1000 μ L
- m. *White tip*
- n. *Blue tip*
- o. Stopwatch
- p. *Centrifuge*
- q. Photometer 5010 v5+

2. Bahan

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu serum tanpa dicampur dengan antikoagulan dan plasma yang dicampur antikoagulan.

b. Bahan Lain

1) EDTA

2) Reagen kolesterol

Komposisi reagent :

Larutan buffer (pH 6,7)	50 mmol/L
Fenol	5 mmol/L
4 – aminoantipirin	0,3 mmol/L
Kolesterol esterase (CHE)	≥ 200 U/L
Kolesterol oksidase (CHO)	≥ 50 U/L
Peroksidase (POD)	≥ 3 kU/L

Larutan standar 200 mg/dL (5,2 mmol/L)

F. Prosedure Penelitian

1. Prosedur Pengambilan Sampel Darah

- a. Memastikan keberadaan vena pada lengan terutama pada vena yang besar, biasanya vena mediana cubiti.
- b. Tourniquet dipasang pada lengan atas dengan jarak 3 jari dari lipatan tangan.
- c. Tempat penusukan dibersihkan dengan kapas alkohol 70% atau desinfektan lainnya dan biarkan sampai kering.
- d. Dengan lubang jarum menghadap keatas, vena ditusuk pelan – pelan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena. Jika darah sudah masuk pada spuit maka akan terlihat di indikator spuit.
- e. Melepaskan pembendung dengan pelan – pelan dan tarik zuigernya sampai memenuhi jumlah yang diinginkan.
- f. Letakkan kapas steril di atas daerah tusukkan, kemudian spuit dicabut pelan – pelan.
- g. Probandus diminta untuk menekan daerah tusukkan dengan kapas tadi selama 1 – 2 menit.
- h. Jarum dilepaskan dari spuitnya lalu darah dimasukkan ke dalam tabung. Memasukkan darah melalui dinding tabung agar tidak terjadi lisis (Pagana, 2006 ; Gandasoebrata, 2007).

2. Prosedure Pembuatan Serum dan Plasma

a. Serum

- 1) Darah yang telah diambil dimasukkan dalam tabung vacum tutup merah dan biarkan membeku, hindari goncangan agar tidak terjadi lisis.
- 2) Darah yang sudah beku dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- 3) Memisahkan serum yang terdapat pada bagian atas darah.
- 4) Memberi label yang berisi tanggal pengambilan dan identitas pasien (Kemenkes, 2010).

b. Plasma

- 1) Masukkan darah ke dalam tabung vacum bertutup ungu dan campurkan darah dengan cepat dan secara perlahan.
- 2) Darah yang sudah dicampur dengan antikoagulan dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- 3) Memisahkan plasma yang terdapat pada bagian atas darah.
- 4) Memberi label yang berisi tanggal pengambilan dan identitas pasien (Kemenkes, 2010).

3. Prinsip dan Prosedur CHOD PAP

a. Prinsip pemeriksaan

Kolesterol ester diurai menjadi kolesterol dan asam lemak menggunakan enzim kolesterol esterase. Kolesterol yang sudah terbentuk kemudian diubah oleh enzim kolesterol oksidase. Indikator kolorimetri adalah quinoneimine dari 4 – aminoantipirin dan fenol beserta hidrogen

peroksida oleh katalitik peroksidase diubah menjadi zat yang berwarna merah.

b. Prosedur CHOD PAP

1) Panjang gelombang : 500 nm, Hg 546 nm, 500 – 550 nm

2) Suhu : 20 – 25°C/37°C

3) Pengukuran terhadap : Reagen Blanko

4) Reaksi :



Tabel 1. Prosedure Pemeriksaan Kolesterol

Sampel start :

	Blanko	Sampel atau standar
Sampel	-	10 µl
Standar	-	10 µl
Blanko	10 µl	-
Mono Reagent	1000µl	1000 µl

Homogenkan, inkubasi 20 menit suhu 20 – 25 °C atau 10 menit suhu 37°C. Baca dengan reagen blanko dalam 60 menit (Anonim, 2016).

c. Prosesdur pembacaan fotometer 5010 v5+

1) Menghubungkan kabel dengan aliran listrik dan menyalakan fotometer dengan memencet tombol ON

2) Tampak dimonitor secara otomatis sebagai berikut :

a) “CHECK”

b) “REMEMBER YOU MUST”

c) “DP A WASH”

d) “Code”

- 3) Tekan tombol “ *WASH* “ dari aquadest dihisap melalui selang sambil menekan selang ke dalam beker glass yang berisi aquadest.
- 4) Pilih metode pengukuran pemeriksaan.
- 5) Masukkan nomor metode yang sesuai dengan nomor pemeriksaan yang akan dilakukan, yaitu :
 - a) Masukkan angka yang dimaksud, lalu *ENTER*.
 - b) Bila sudah ada angka tapi tidak sesuai sentuh tombol +/-, sampai keluar angka yang sesuai, lalu sentuh *ENTER*.
 - c) Kemudian dilayar akan tampil “*Ukur Blangko*”. Lakukan sentuh (nol), lalu isapkan aquadest.
 - d) Dilayar akan tampil “*Ukur Blangko R*”, sentuh ukur untuk memasukan Blangko Reagent.
 - e) Dilayar tampil “*Ukur Standart*”, sentuh “*Ukur*” agar larutan standartnya dihisap. Setelah hasil pengukurannya keluar, sentuh “*OK*” atau sentuh “*standar lampau*” jika ingin menggunakan nilai standart terdahulu.
 - f) Dilayar tampil “*Ukur Sampel*”, masukkan sampel pasien 1 dan setelah keluar hasil pengukuran dari sampel 1 masukan sampel pasien berikutnya.
 - g) Jika ragu – ragu dengan hasil yang ditampilkan alat, sentuh “*Hasil*” maka sampel yang masih di cuvetnya akan diukur lagi.

G. Teknik Pengumpulan Data

Data yang digunakan adalah data primer yang didapat dengan melakukan praktik secara langsung dengan sampel yang diperoleh dari sampel darah yang dijadikan serum dan plasma.

H. Teknik Analisis Data

Data yang didapat kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Selanjutnya data dianalisis secara statistik, dan data yang telah terkumpul dilakukan uji normalitas untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak menggunakan uji *Shapiro – Wilk*, apabila $p > 0,05$ berarti data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan ke uji hipotesis dengan uji *Paired T test*. Jika $p < 0,05$ berarti data tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*.

I. Etika Penelitian

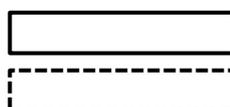
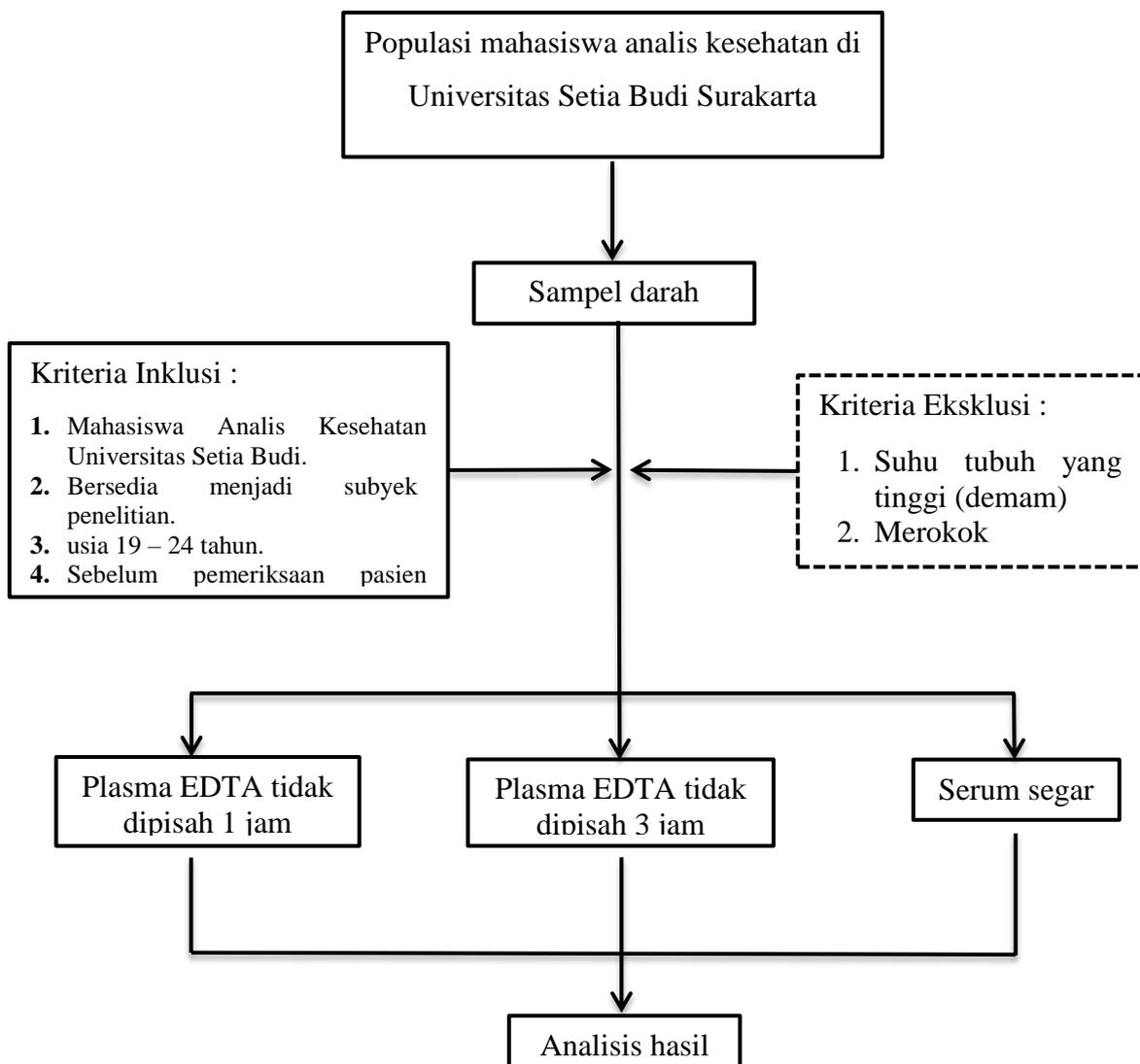
Pada penelitian yang dilakukan terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan selain metode ataupun rancangan penelitian yaitu etika penelitian. Penelitian dari berbagai macam bidang seperti kesehatan, keperawatan, dan lain – lain harus mempertimbangkan tentang prinsip – prinsip etika dalam penelitian.

Menurut Swarjana (2012), prinsip – prinsip etika dalam penelitian adalah ;

1. Menghormati otonomi kapasitas dari partisipan penelitian, dan partisipan bebas dari konsekuensi akibat penelitian yang diikuti.
2. Mencegah dan meminimalisir hal yang berbahaya.

3. Melindungi hal – hal privasi partisipan secara semaksimal mungkin.
4. Memastikan integritas proses penelitian.
5. Memastikan *benefits* dan *budens* dalam penelitian terdistribusi normal atau stabil.

J. Alur Penelitian



Lingkup penelitian

Bukan lingkup penelitian