

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat analitik dengan menggunakan desain penelitian *cross sectional* bertujuan untuk menentukan perbandingan kadar kolesterol total pada sampel serum dan plasma EDTA segera dan disimpan selama 4 jam.

Populasi pada penelitian ini adalah Mahasiswa D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Al – Irsyad Cilacap yang berjumlah 57 orang. Perhitungan jumlah populasi yang telah diketahui dapat digunakan rumus Taro Yamane untuk menghitung jumlah sampel yang diperlukan (Ambarita, 2022).

$$n = \frac{N}{N \cdot d^2 + 1}$$

keterangan :

n = Jumlah sampel

N = Jumlah populasi

d = level signifikan yang diinginkan

Adapun penentuan sampel mengambil presisi ditetapkan sebesar 10% dengan tingkat kepercayaan 90%, maka ukuran sampelnya dapat ditetapkan sebagai berikut:

$$n = \frac{N}{N \cdot d^2 + 1}$$

$$n = \frac{57}{57 \cdot (0,1)^2 + 1}$$

$$n = \frac{57}{57 \cdot (0,01) + 1}$$

$$n = \frac{57}{1,57}$$

$$n = 36,30$$

$$n \approx 36 \text{ Orang}$$

Hasil perhitungan tersebut maka jumlah sampel yang diambil adalah 36 orang dari jumlah populasi 57 orang pada mahasiswa D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Al-Irsyad Cilacap.

Sampel penelitian adalah bagian dari populasi yang akan diteliti berdasarkan kriteria-kriteria tertentu.

a. Kriteria inklusi :

- 1) Mahasiswa D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Al-Irsyad Cilacap
- 2) Berpuasa
- 3) Perempuan dan laki-laki
- 4) Usia < 25 tahun

b. Kriteria eksklusi :

- 1) Bukan Mahasiswa D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Al-Irsyad Cilacap
- 2) Tidak berpuasa
- 3) Usia  $\geq 25$  tahun

### 3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Al – Irsyad Cilacap di Jalan Cerme No.24, Wanasari, Sidanegara, Kec. Cilacap Tengah, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah 53223 dan Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Patra Medica di Jalan Gatot Subroto No.133B, Wanasari, Sidanegara, Kec. Cilacap Tengah, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah 53223.

Penelitian dilakukan mulai dari Desember 2023 sampai dengan Mei 2024.

Adapun jadwal penelitian sebagai berikut :

**Tabel 3.1 Susunan Kegiatan Penelitian**

No	Tahapan	Kegiatan	Bulan					
			1	2	3	4	5	6
1.	Tahap Awal	Pembuatan Proposal						
		Seminar Proposal						
2.	Tahap Penelitian	Izin Kode Etik						
		Pembelian Alat dan Bahan						
		Pengambilan dan Pemeriksaan Sampel						
3.	Tahap Akhir	Analisis data						
		Seminar Hasil						
		Publikasi						

### 3.3. Alat dan Bahan yang Digunakan

#### 3.3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan kolesterol total yaitu spuit 5 cc, tabung Clot Activator (tanpa antikoagulan), tabung EDTA, *tourniquet*, plaster, sentrifus, mikropipet, yellow tip, blue tip, alkohol swab 70%, dan Tokyo boeky TRX 7010.

### 3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan Kolesterol total yaitu serum, plasma EDTA, akuades, reagen kolesterol total, dan standar kolesterol total.

## 3.4. Prosedur Penelitian

### 3.4.1. Pengambilan darah vena

1. Siapkan alat dan bahan
2. Memanggil probandus untuk masuk ke ruangan
3. Lalu jelaskan tentang penelitian bahwa akan dilaksanakan pengambilan darah sebanyak 5 cc untuk 2 jenis tabung
4. Diberi identitas pada tabung agar tidak tertukar
5. Menentukan letak vena yang akan diambil
6. Dilakukan pembendungan dengan *tourniquet* pada lengan atas dengan jarak kurang lebih 10 cm atau 3 jari, kemudian pasien diminta untuk mengepalkan tangan
7. Dilakukan palpasi vena
8. Jika sudah yakin dengan posisi vena lakukan desinfeksi dengan alkohol swab 70%, kemudian ditunggu hingga mengering
9. Dilakukan penusukan spuit pada bagian vena *fosa cubiti* dengan jarum menghadap keatas pada sudut 15-30 derajat.
10. Setelah itu lakukan penarikan pum spuit secara perlahan saat darah terlihat pada ujung spuit

11. Segera lepas *tourniquet* dan lepaskan spuit dari lengan secara perlahan, kemudian bekas tusukan ditutup dengan kapas dan plaster
12. Darah yang diambil dibagi pada 2 tabung yaitu tabung serum (tanpa antikoagulan) dan tabung EDTA
13. Homogenkan sampel pada tabung EDTA, kemudian dibawa ke tempat pemeriksaan.

#### 3.4.2. Pembuatan Sampel

##### 1. Pembuatan serum

Darah pada tabung serum, dibiarkan membeku. Kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga dipeloreh serum untuk pemeriksaan kolesterol total.

##### 2. Pembuatan plasma EDTA

Darah pada tabung EDTA segera dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga dipeloreh Plasma EDTA untuk pemeriksaan kolesterol total.

#### 3.4.3. Pemeriksaan kolesterol

##### 1. Metode

CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol*)

##### 2. Prinsip

Pengukuran kolesterol total setelah oksidasi dan hidrolisis enzimatis. Indikator kolorimetri adalah kuinoneimin yang dihasilkan dan 4-

*aminoantipyrine* dan fenol oleh hidrogen peroksida dibawah aksi katalitik peroksidase.

3. Prosedur :

1) Atur lembar aplikasi untuk sistem otomatis pada alat pemeriksaan

- a) Panjang gelombang : 500 nm – 546 nm
- b) Jalur optik : 1 cm
- c) Suhu : 20-25<sup>0</sup>C atau 37<sup>0</sup>C
- d) Pengukuran : terhadap reagen blank

2) Pipet ke dalam tabung sesuai dengan tabel dibawah

**Tabel 3.2 Prosedur Pemeriksaan**

	Blank	Standar	Sampel
Reagen	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Dist. Air	10 µL	-	-
Standar	-	10 µL	-
Sampel	-	-	10 µL

3) Campurkan dan inkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25<sup>0</sup>C atau selama 10 menit pada suhu 37<sup>0</sup>C

4) Baca absorbansi dalam waktu 60 menit terhadap reagen blank

4. Prosedur Alat Tokyo boeky TRX 7010

- 1) Nyalakan komputer, tunggu hingga menu utama muncul
- 2) Nyalakan main power disamping belakang
- 3) Nyalakan sistem power disamping depan
- 4) Setelah itu masuk pada menu BioLis 24i Premium
- 5) Lalu lakukan pengukuran blanko

Klik calibrator → lalu centang pada bagian CHODR atau BLKODR →  
lalu save

- 6) Setelah itu lakukan pemeriksaan (running)

Klik order → input Tray-S No. Sesuai nomer tray dan nomer sampel →  
klik enter → lalu input data pasien → jika sudah klik pilih test → jika  
sudah klik order

- 7) Lalu klik start pada menu utama untuk memulai running

- 8) Setelah selesai pemeriksaan matikan alat dengan cara klik exit lalu  
tekan ok

- 9) Setelah itu klik tombol log off dan matikan sistem power dibagian  
samping depan

- 10) Lalu matikan main power disamping belakang dan tutup botol reagen  
yang akan dimasukan ke kulkas pendingin

- 11) Setelah itu kosongkan limbah pada alat

## 5. Nilai Normal

Nilai normal pemeriksaan kolesterol total :

- 1) Normal :  $\leq 200$  mg/dL atau 5,2 mmol/L
- 2) Resiko sedang : 200 – 240 mg/dL atau 5,2-6,2 mmol/L
- 3) Resiko tinggi :  $> 240$  mg/dL atau  $> 6,2$  mmol/L

### 3.5. Pengumpulan Data

Data primer yang dikumpulkan secara langsung oleh peneliti dari hasil laboratorium meliputi penyuntingan data yang terkumpul, mengklasifikasikan

data dan memasukan data hasil pemeriksaan kolesterol total menggunakan serum dan plasma EDTA ke program komputer menggunakan JASP. Sedangkan data sekunder yaitu bersumber dari referensi jurnal, internet, dan buku.

### 3.6. Teknik Analisis Data

Pada penelitian ini data yang telah dipeloreh dilakukan analisis univariat pada masing-masing parameter menggunakan *Descriptive Statistic* pada aplikasi JASP versi 0.18.3.

Selanjutnya data diolah dengan analisis bivariat menggunakan uji statistika berupa uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk*. Apabila uji normalitas memenuhi syarat ( $p\ value > 0,05$ ) maka hasil perbandingan dilakukan menggunakan uji *paired sample T-Tes*.

Tetapi apabila uji normalitas tidak memenuhi syarat ( $p\ value < 0,05$ ) maka hasil perbandingan dilakukan menggunakan uji wilcoxon signed rank test pada aplikasi JASP versi 0.18.3.

Kriteria penelitian apabila nilai ( $p\ value < 0,05$ ) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbandingan pada pemeriksaan kolesterol total menggunakan serum dan plasma EDTA segera dan ditunda selama 4 jam.